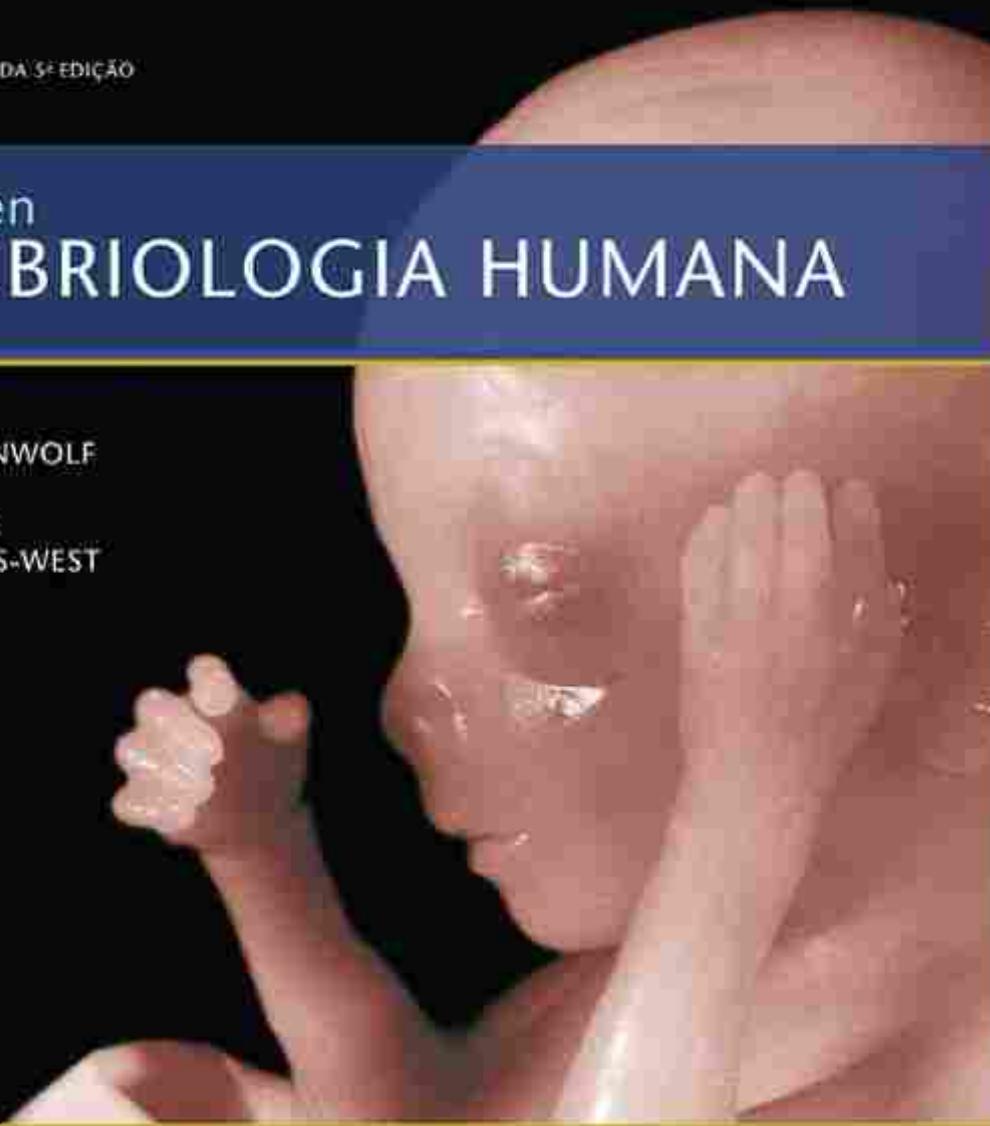


TRADUÇÃO DA 5^ª EDIÇÃO

Larsen

EMBRIOLOGIA HUMANA

SCHOENWOLF
BLEYL
BRAUER
FRANCIS-WEST



ELSEVIER

Larsen Embriologia Humana

5^a EDIÇÃO

Gary C. Schoenwolf, PhD

University of Utah School of Medicine Salt Lake City, Utah

Steven B. Bleyl, MD, PhD

University of Utah School of Medicine Salt Lake City, Utah

Philip R. Brauer, PhD

Creighton University School of Medicine Omaha, Nebraska

Philippa H. Francis-West, PhD

King's College London Dental Institute London, United Kingdom

ELSEVIER

Sumário

[Capa](#)

[Folha de rosto](#)

[Copyright](#)

[Coordenação de Revisão Científica e Tradução](#)

[Dedicatória](#)

[Especialistas de Conteúdo](#)

[Prefácio](#)

[Agradecimentos](#)

[Introdução](#)

[Resumo](#)

[Por que estudar embriologia humana?](#)

[Períodos da embriologia humana](#)

[Período do zigoto e período embrionário: resumo de eventos principais](#)

[Fases da embriologia humana](#)

[Eixos corporais: Entendimento das coordenadas embrionárias](#)

[Deseja saber mais?](#)

[Capítulo 1: Gametogênese, Fertilização e Primeira Semana](#)

[Resumo](#)

[Células germinativas primordiais](#)

[Gametogênese](#)

[Espermatogênese](#)

[Ovogênese](#)

[Ovulação](#)

[Ciclo menstrual](#)

[Fertilização](#)

[Clivagem](#)

Final da primeira semana: início da implantação

Capítulo 2: Segunda Semana: Tornando-se Bilaminar e Completamente Implantado

Resumo

Tornando-se completamente implantado

O embrioblasto reorganiza-se em epiblasto e hipoblasto

Desenvolvimento da cavidade amniótica

Desenvolvimento do saco vitelínico e da cavidade coriônica

O sistema circulatório uteroplacentário inicia o desenvolvimento durante a segunda semana

Capítulo 3: Terceira Semana: Tornando-se Trilaminar e Estabelecendo os Eixos do Corpo

Resumo

Princípios da gastrulação: formação das três camadas germinativas primárias e dos eixos do corpo

Especificidades da gastrulação: a movimentação de células para novos locais e a formação dos rudimentos dos órgãos com interações indutivas

Formação da placa neural

Desenvolvimento primário do corpo versus desenvolvimento secundário

Capítulo 4: Quarta Semana: Formando o Embrião

Resumo

O plano corporal em tubo dentro de tubo surge através do dobramento do corpo

Neurulação: estabelecimento do tubo neural, o rudimento do sistema nervoso central

Neurulação secundária

Regionalização craniocaudal do tubo neural

Células da crista neural

Diferenciação do somito: formação do dermomiótomo e do esclerotomo

Capítulo 5: Princípios e Mecanismos da Morfogênese e da Dismorfogênese

Resumo

Princípios da morfogênese e da dismorfogênese

Modelos animais

Usando modelos animais para prever risco no humano

Técnicas experimentais

Vias de sinalização

Células-tronco embrionárias e clonagem

Capítulo 6: Desenvolvimento Fetal e o Feto como um Paciente

Resumo

Durante o período fetal, os sistemas de órgãos embrionários maturam e o feto cresce

Desenvolvimento da placenta

Desenvolvimento do cordão umbilical

Troca de substâncias entre o sangue materno e fetal na placenta

Restrição do crescimento intrauterino

Diabetes e obesidade materna
A placenta produz diversos hormônios importantes
Produção e reabsorção do líquido amniótico
Gêmeos
Diagnóstico Pré-Natal Avalia a saúde do Feto
Tratando o feto no útero
Sangue do cordão fetal e células-tronco
Nascimento prematuro

Capítulo 7: Desenvolvimento da Pele e Seus Derivados

Resumo
Origem da epiderme e da derme da pele
Desenvolvimento dos anexos da pele
Desenvolvimento do pelo
Desenvolvimento das glândulas sebáceas e sudoríparas
Desenvolvimento das glândulas mamárias
Desenvolvimento das unhas

Capítulo 8: Desenvolvimento do Sistema Musculoesquelético

Resumo
Origem e diferenciação dos tecidos do sistema musculoesquelético
Os somitos se diferenciam em esclerótomo e dermomiótomo
Ressegmentação dos esclerótomas
Desenvolvimento dos miótomas em níveis segmentares
Desenvolvimento dos ossos longos e das articulações
Desenvolvimento da musculatura dos membros

Capítulo 9: Desenvolvimento do Sistema Nervoso Central

Resumo
Divisões estruturais do sistema nervoso
Divisões funcionais do sistema nervoso
As vesículas encefálicas primárias se subdividem para formar as vesículas encefálicas secundárias
Formação das flexuras encefálicas
Citodiferenciação do tubo neural
Diferenciação da medula espinal
Diferenciação do encéfalo
Crescimento do encéfalo

Capítulo 10: Desenvolvimento do Sistema Nervoso Periférico

Resumo
Divisões estruturais do sistema nervoso
Divisões funcionais do sistema nervoso
Origens do snp

[Desenvolvimento do SNP do tronco](#)

[O desenvolvimento do snp cranial](#)

[Capítulo 11: Desenvolvimento do Sistema Respiratório e das Cavidades Corporais](#)

[Resumo](#)

[Desenvolvimento dos pulmões e da árvore respiratória](#)

[Divisão do celoma e formação do diafragma](#)

[Capítulo 12: Desenvolvimento do Coração](#)

[Resumo](#)

[Estabelecimento da linhagem cardíaca](#)

[Formação do tubo cardíaco primário](#)

[Dobramento ou looping cardíaco](#)

[Formação dos vasos sanguíneos primitivos associados ao tubo endocárdico](#)

[A remodelação coordenada do tubo cardíaco e da vasculatura primitiva produz as circulações sistêmica e pulmonar](#)

[Septação do coração](#)

[Desenvolvimento do marca-passo e do sistema de condução](#)

[Desenvolvimento do epicárdio e da vasculatura coronariana](#)

[Capítulo 13: Desenvolvimento da Vasculatura](#)

[Resumo](#)

[A formação do sangue e da vasculatura começa no início da terceira semana](#)

[Vasculogênese e angiogênese](#)

[Artérias vs. veias](#)

[Desenvolvimento das artérias do arco aórtico](#)

[A aorta dorsal desenvolve ramos ventrais, laterais e posterolaterais](#)

[O sistema venoso embrionário primitivo é dividido em sistemas vitelino, umbilical e cardinal](#)

[Desenvolvimento do sistema linfático](#)

[Alterações dramáticas ocorrem no sistema circulatório ao nascimento](#)

[Capítulo 14: Desenvolvimento do Trato Gastrointestinal](#)

[Resumo](#)

[Dobramento do corpo do embrião](#)

[O mesentério dorsal inicialmente mantém o intestino primitivo abdominal suspenso](#)

[As três regiões do intestino primitivo](#)

[Desenvolvimento do intestino anterior abdominal](#)

[Desenvolvimento do baço](#)

[Derivados do mesentério ventral](#)

[Desenvolvimento do intestino médio](#)

[Citodiferenciação do epitélio endodérmico do tubo digestório](#)

[Desenvolvimento da parede intestinal externa e sua inervação](#)

[Desenvolvimento do intestino posterior](#)

Capítulo 15: Desenvolvimento do Sistema Urinário

Resumo

Três sistemas néfricos surgem durante o desenvolvimento

Deslocamento dos rins

Contribuição do endoderma do intestino posterior para o trato urinário

Desenvolvimento da glândula suprarrenal

Capítulo 16: Desenvolvimento do Sistema Genital

Resumo

O sistema genital origina-se com o sistema urinário

Na presença do cromossoma y, o desenvolvimento masculino acontece

Na ausência do cromossoma y, o desenvolvimento feminino acontece

Desenvolvimento da genitália externa

A suspensão do complexo mesonéfrico-gonadal no abdome

Desenvolvimento dos canais inguinais

Descida dos testículos

Os ovários tornam-se suspensos no ligamento largo do útero e são mantidos na cavidade abdominal pelos ligamentos suspensores craneais

Capítulo 17: Desenvolvimento do Aparelho Faríngeo e da Face

Resumo

Origem do crânio

Desenvolvimento dos arcos faríngeos

Desenvolvimento da face

Desenvolvimento das cavidades nasal e oral

Desenvolvimento dos seios

Destino dos sulcos faríngeos

Arcos faríngeos dão origem à língua

Desenvolvimento da glândula tireoide

Desenvolvimento das bolsas faríngeas

Desenvolvimento das glândulas salivares

Desenvolvimento dos dentes

Capítulo 18: Desenvolvimento das Orelhas

Resumo

A orelha consiste em três componentes individuais

Desenvolvimento da orelha interna

Desenvolvimento da orelha média

Desenvolvimento da orelha externa

Capítulo 19: Desenvolvimento dos Olhos

Resumo

Os olhos têm origem em diversas camadas de tecido embrionário

[Desenvolvimento do cálice óptico e cristalino](#)

[Desenvolvimento das pálpebras](#)

[Capítulo 20: Desenvolvimento dos Membros](#)

[Resumo](#)

[Interações epitélio-mesenquimais controlam o crescimento dos membros](#)

[Morfogênese do membro](#)

[As origens teciduais das estruturas dos membros](#)

[Diferenciação dos ossos dos membros](#)

[Inervação do membro em desenvolvimento](#)

[Créditos das Figuras](#)

[Índice](#)

Copyright

© 2016 Elsevier Editora Ltda.

Todos os direitos reservados e protegidos pela Lei 9.610 de 19/02/1998.

Nenhuma parte deste livro, sem autorização prévia por escrito da editora, poderá ser reproduzida ou transmitida sejam quais forem os meios empregados: eletrônicos, mecânicos, fotográficos, gravação ou quaisquer outros.

ISBN: 978-85-352-8338-9

ISBN versão eletrônica: 978-85-352-6600-9

LARSEN'S HUMAN EMBRYOLOGY, 5TH EDITION

Copyright © 2015, 2009 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier Inc.

This translation of Larsen's Human Embryology, 5th Edition, by Gary C. Schoenwolf, Steven B. Bleyl, Philip R. Brauer, Philippa H. Francis-West was undertaken by Elsevier Editora Ltda and is published by arrangement with Elsevier Inc.

Esta tradução de Larsen's Human Embryology, 5th Edition, de Gary C. Schoenwolf, Steven B. Bleyl, Philip R. Brauer, Philippa H. Francis-West foi produzida por Elsevier Editora Ltda e publicada em conjunto com Elsevier Inc.

ISBN: 978-1-4557-0684-6

Capa

Studio Creamcrackers

Editoração Eletrônica

Thomson Digital

Elsevier Editora Ltda.

Conhecimento sem Fronteiras

Rua Sete de Setembro, nº 111 – 16º andar

20050-006 – Centro – Rio de Janeiro – RJ

Rua Quintana, nº 753 – 8º andar

04569-011 – Brooklin – São Paulo – SP

Serviço de Atendimento ao Cliente

0800 026 53 40

atendimento1@elsevier.com

Consulte nosso catálogo completo, os últimos lançamentos e os serviços exclusivos no site www.elsevier.com.br

Nota

Como as novas pesquisas e a experiência ampliam o nosso conhecimento, pode haver necessidade de alteração dos métodos de pesquisa, das práticas profissionais ou do tratamento médico. Tanto médicos quanto pesquisadores devem sempre basear-se em sua própria experiência e conhecimento para avaliar e empregar quaisquer informações, métodos, substâncias ou experimentos descritos neste texto. Ao utilizar qualquer informação ou método, devem ser criteriosos com relação a sua própria segurança ou a segurança de outras pessoas, incluindo aquelas sobre as quais tenham responsabilidade profissional.

Com relação a qualquer fármaco ou produto farmacêutico especificado, aconselha-se o leitor a cercar-se da mais atual informação fornecida (i) a respeito dos procedimentos descritos, ou (ii) pelo fabricante de cada produto a ser administrado, de modo a certificar-se sobre a dose recomendada ou a fórmula, o método e a duração da administração, e as contraindicações. É responsabilidade do médico, com base em sua experiência pessoal e no conhecimento de seus pacientes, determinar as posologias e o melhor tratamento para cada paciente individualmente, e adotar todas as precauções de segurança apropriadas.

Para todos os efeitos legais, nem a Editora, nem autores, nem editores, nem tradutores, nem revisores ou colaboradores, assumem qualquer responsabilidade por qualquer efeito danoso e/ou malefício a pessoas ou propriedades envolvendo responsabilidade, negligência etc. de produtos, ou advindos de qualquer uso ou emprego de quaisquer métodos, produtos, instruções ou ideias contidos no material aqui publicado.

O Editor

CIP-BRASIL. CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

SINDICATO NACIONAL DOS EDITORES DE LIVROS, RJ

L343

5. ed.

Larsen embriologia humana / Gary C. Schoenwolf ... [et al.] ; coordenação Cristiano

Carvalho Coutinho ; tradução Adriano Zuza , Alcir Fernandes. - 5. ed. - Rio de Janeiro : Elsevier, 2016.

il. ; 27 cm.

Tradução de: Larsen's human embryology, 5 th ed.

Inclui bibliografia e índice

ISBN 978-85-352-8338-9

1. Embriologia humana. I. Schoenwolf, Gary C. II. Coutinho, Cristiano Carvalho. III.

Zuza, Adriano. IV. Fernandes, Alcir.

15-27963 CDD: 612.64



CDU: 612.64

Coordenação de Revisão Científica e Tradução

Professor Dr. Cristiano Carvalho Coutinho (caps. 1 ao 6)

Professor Adjunto pelo Programa de Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Mestre em Bioquímica (UFRJ)

Doutor em Biologia Molecular/Biologia do Desenvolvimento, UFRJ/ULB (Bélgica)

Pós-doutor em Biologia Molecular/Biologia do Desenvolvimento, Universitat Mainz (Johannes-Gutenberg), J.G.U. (Alemanha)

Revisão Científica

Professor Dr. José Marques de Brito Neto (caps. 9, 10, 15, 17)

Professor Adjunto IV pelo Programa de Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas (UFRJ)

Mestre em Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Doutor em Bioquímica (UFRJ)

Pós-doutor em Biologia do Desenvolvimento, Institut D'Embryologie Cellulaire et Moléculaire du Collège de France et CNRS, Paris, França

Professora Dra. Kátia Arcanjo (caps. 7, 8, 19)

Professora Adjunta pelo Programa de Graduação em Histologia do Instituto de Ciências Biomédicas (UFRJ)

Mestra em Biologia Celular (UNICAMP)

Doutora em Biologia Celular (UNICAMP)

Professora Dra. Loraine Campanati Araujo de Andrade (caps. 12, 13, 16, 20)

Professora Adjunta pelo Programa de Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas (UFRJ)

Mestra em Morfologia (UERJ)

Doutora em Ciências (UFRJ)

Pós-doutora pelo National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS-NIH-USA) e pelo Lieber Institute for Brain Development, EUA

Professor Dr. Marcelo Sampaio Narciso (introdução e caps. 11, 14, 18)

Professor Adjunto pelo Programa de Graduação em Histologia do Instituto de Ciências Biomédicas (UFRJ)

Especialista em Histologia e Embriologia (UERJ)

Mestre em Ciências Morfológicas (UFRJ)

Doutor em Ciências Morfológicas (UFRJ)

Dra. Maria Alice de Almeida Coutinho (caderno zero, índice, quarta capa)

Mestra em Bioquímica (UFRJ)

Doutora em Bioquímica (UFRJ)

Pós-doutora em Bioquímica (UFRJ)

Tradução

Adriano Zuza (cap. 10)

Mestre em Biologia Celular e Estrutural Aplicada pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Professor da Pós-graduação em Odontologia pela Ortocursos Uberlândia

Alcir Fernandes (introdução, índice, caderno zero, quarta capa, caps. 11 ao 13)

Tradutor pela Universidade Estácio de Sá (UNESA), RJ

Certificado de Proficiência em Inglês pela University of Michigan, EUA

Alexandre Gengo ([caps. 4, 8, 15](#))

Farmacêutico

Especialista em Análises Clínicas e Toxicológicas

Claudio C. Filgueiras ([cap. 9](#))

Professor Adjunto do Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

Doutor em Biologia pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ)

Danuza Mattos ([caps. 6, 18, 19](#), créditos das figuras)

Médica Veterinária e Mestra em Ciências pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Doutoranda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Fluminense (UFF)

Professora Assistente do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense (UFF)

Flor de Letras Editorial ([Caps. 5, 16](#))

Empresa Especializada em Revisão e Tradução Técnicas

Karina Carvalho ([cap. 7](#))

Doutora em Biologia Humana e Experimental pela Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ)

Mestra em Morfologia pela Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ)

Bióloga pela Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ)

Maria das Graças Fernandes ([cap. 2](#))

Doutora em Ciências Morfológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Professora Assistente da Escola de Medicina da Fundação Técnico-Educacional Souza Marques

Marina Santiago de Mello ([cap. 20](#))

Doutoranda em Radioproteção e Dosimetria, Instituto de Radioproteção e Dosimetria/Comissão Nacional de Energia Nuclear (IRD-CNEN)

Mestra em Fisiopatologia Clínica, Hospital Universitário Antônio Pedro (HUPE)/UERJ

Bacharela em Ciências Biológicas (UERJ)

Miriam Guatura ([cap. 17](#))

Odontóloga pela Faculdade de Odontologia da Universidade São Paulo (USP)

Simone Florim ([Caps. 1 e 3](#))

Professora Adjunta do Departamento de Morfologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense (UFF)

Doutora em Ciências Morfológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Mestra em Ciências Morfológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

Vanessa Fernandes Bordon ([cap. 14](#))

Mestra em Ciências pela Faculdade de Saúde Pública na Universidade de São Paulo (USP)

Dedicatória

A quinta edição do livro Larsen Embriologia Humana é orgulhosamente dedicada às crianças que vivem com malformações congênitas todos os dias, horas, minutos e segundos de suas vidas e às suas famílias, que lhes proporcionam apoio e suporte com amor. Esperamos que as informações que reunimos aqui ajudem a próxima geração de médicos e cientistas a fazer novas descobertas, resultando em melhores prevenção, diagnóstico e tratamento de malformações congênitas.

Especialistas de Conteúdo

Richard Anderson, University of Melbourne, Australia

Parker B. Antin, University of Arizona, USA

Cammon Arrington, University of Utah, USA

Spencer Beasley, University of Otago, New Zealand

Brian L. Black, University of California em San Francisco, USA

Janice L.B. Byrne, University of Utah, USA

Jon Clarke, King's College London, England

Martyn Cobourne, King's College London, England

Simon J. Conway, Indiana University School of Medicine, USA

Andrew Copp, University College London, England

George P. Daston, Procter & Gamble, USA

Mark Davenport, King's College Hospital, England

Jamie Davies, University of Edinburgh, Scotland

Elaine Dzierzak, Erasmus University Medical Center, The Netherlands

Darrell J.R. Evans, Brighton and Sussex Medical School, England

John F. Fallon, University of Wisconsin Madison, USA

Richard H. Finnell, The University of Texas at Austin, USA

Adriana Gittenberger-degroot, Leiden University Medical Center, The Netherlands

Robert G. Gourdie, Medical University of South Carolina, USA

Anne Grapin-botton, Swiss Institute for Experimental Cancer Research, Switzerland

Anne Greenough, King's College Hospital, England

Barbara F. Hales, McGill University, Canada

Hiroshi Hamada, Osaka University, Japan

Christine Hartmann, Institute of Molecular Pathology, Austria

Takayuki Inagaki, University of Utah, USA

Robyn Jamieson, University of Sydney, Australia

Chaya Kalcheim, Hebrew University of Jerusalem, Israel

Matthew Kelley, National Institute on Deafness and Other Communication Disorders/National Institutes of Health, USA

Thomas Knudsen, U.S. Environmental Protection Agency, USA

Catherine E. Krull, University of Michigan, USA

Ralph Marcucio, University of California at San Francisco, USA

Antoon F. Moorman, Academic Medical Centre Amsterdam, The Netherlands

Guillermo Olivier, St. Jude Children's Research Hospital, USA

David M. Ornitz, Washington University, USA

Maurizio Pacifici, The Children's Hospital of Philadelphia, USA

Roger K. Patient, University of Oxford, England

Alan O. Perantoni, Frederick National Lab, USA

Theodore Pysher, University of Utah, USA

Maria A. Ros, University of Cantabria, Spain

Yukio Saijoh, University of Utah, USA

Ramesh A. Shivdasani, Dana Farber Cancer Institute and Harvard Medical School, USA

Jane C. Sowden, University College of London and Institute of Child Health and Great Ormond Street Hospital for Children, National Health Service Trust, England

Nancy A. Speck, University of Pennsylvania, USA

Rajanarayanan Srinivasan, St. Jude Children's Research Hospital, USA

Michael R. Stark, Brigham Young University, USA

David K. Stevenson, University of Utah, USA

Xin Sun, University of Wisconsin Madison, USA

Cheryll Tickle, University of Bath, England

Gijs Van Den Brink, Academic Medical Centre Amsterdam, The Netherlands

Valerie Wallace, University of Ottawa, Canada

James M. Wells, University of Cincinnati, USA

Arno Wessels, Medical University of South Carolina, USA

Heather M. Young, University of Melbourne, Australia

Prefácio

A quinta edição do livro *Larsen Embriologia Humana*, assim como a quarta edição, foi extensamente revisada.

- O número de capítulos foi expandido de dezoito para vinte. Isso foi feito com o objetivo de organizar melhor o material e incorporar novas informações de maneira eficiente e lógica.
- O texto foi cuidadosamente editado para aumentar a clareza e evitar ambiguidades, aperfeiçoar a precisão e incluir vários avanços científicos e clínicos desde a última edição.
- Com base no sucesso da seção denominada “Casos Clínicos”, que foi acrescentada na quarta edição para apresentar a relevância clínica do material abordado em cada capítulo, adicionamos uma nova seção, denominada “Embriologia na Prática”, para encerrar cada capítulo. O título desta seção é um jogo de palavras; *prática* refere-se tanto à prática clínica quanto à oportunidade dada ao leitor de praticar o exercício da clínica e usar o material apresentado no texto para “caminhar através de” um cenário clínico. Assim como a seção “Casos Clínicos”, a seção “Embriologia na Prática” se concentra no impacto das malformações congênitas sobre as vidas das crianças e das suas famílias. Embora sejam descritas situações fictícias, elas refletem histórias da vida real, encontradas na prática clínica, com problemas reais que assolam os pacientes e suas famílias.
- Foram acrescentadas muitas novas ilustrações; essas adições refletem avanços nas pesquisas e sua relevância clínica. Muitas ilustrações anteriores foram completamente revisadas para facilitar o entendimento do estudante. Embora a obra seja francamente direcionada, acreditamos que a quinta edição de *Larsen Embriologia Humana* contenha a melhor compilação, em qualquer livro, de ilustrações sobre embriologia descritiva tridimensional de seres humanos, da embriologia experimental em modelos animais e de malformações congênitas em seres humanos.
- Assim como na quarta edição, foram selecionados novos Especialistas de Conteúdo para formar uma parceria com os autores na produção da quinta edição de *Larsen Embriologia Humana*. Mais de cinquenta novos Especialistas de Conteúdo estão relacionados. Com aproximadamente o mesmo número que participou da quarta edição, o livro foi, desta vez, criticamente avaliado por cerca de cem especialistas em suas respectivas áreas. Embora isso constitua um grande reforço para o livro, ainda não o torna perfeito, uma tarefa impossível em um campo complexo e em constante mudança. Assim sendo, apreciamos amplamente as informações recebidas de estudantes e do corpo docente para aperfeiçoá-lo ainda mais. Continuem a enviar seus comentários para schoenwolf@neuro.utah.edu.

Agradecimentos

Sem alunos não seriam necessários livros didáticos. Por isso nós, autores, agradecemos aos vários alunos brilhantes com quem tivemos a felicidade de interagir durante as nossas carreiras e também aos estudantes do futuro, na expectativa ansiosa da continuação de interações proveitosa e agradáveis. Para nós, como professores, os alunos têm enriquecido nossas vidas e nos ensinado tanto quanto, ou mais, nós lhes ensinamos.

Somos particularmente gratos aos mais de cinquenta Especialistas de Conteúdo que foram parceiros em tempo integral na preparação desta quinta edição e que, como nossos alunos, também nos ensinaram muito. Cada um dos Especialistas de Conteúdo leu um ou mais capítulos, fez diversas sugestões para revisão e, em alguns casos, até mesmo forneceu novos textos e ilustrações. As muitas sugestões foram ponderadas para revisão; porém, no final, de forma certa ou errada, escolhemos uma direção específica. Os autores compartilham uma fascinação pelo embrião e têm procurado entendê-lo por completo. Porém, sem dúvida, esse objetivo ainda não foi alcançado; portanto, nossos estudos prosseguem (todos nós somos pesquisadores ativos). Todavia, ao escrevermos esta edição, acreditamos na citação de um dos grandes heróis da ciência, Viktor Hamburger: “Nosso verdadeiro professor foi e ainda é o embrião, que é, a propósito, o único professor que sempre está certo”.

Finalmente, é preciso agradecer aos vários autores, colegas, pacientes e famílias de pacientes que forneceram figuras para o livro. Em vez de agradecer à origem de cada figura em sua respectiva legenda, reunimos esses agradecimentos em uma seção de Créditos de Figuras. Isso foi feito não com a intenção de ocultar contribuições, mas para direcionar as legendas ao que era mais relevante.

Introdução

Resumo

Quando você inicia seu estudo de **embriologia humana**, esta é uma boa hora para considerar por que o conhecimento desse assunto será importante para sua carreira. A embriologia humana é um tópico fascinante que revela a cada um de nós nossas próprias origens pré-natais. Ela também fornece esclarecimentos sobre as **malformações congênitas** que ocorrem com relativa frequência em seres humanos. Logo, o estudo da embriologia humana tanto normal quanto anormal nos diz algo sobre cada ser humano que encontraremos durante todas as nossas vidas. Para quem busca uma carreira em biologia, medicina ou ciências médicas associadas, existem muitos outros motivos para aprender sobre a embriologia humana, como:

- O conhecimento da embriologia humana fornece um contexto lógico para o entendimento da **anatomia** do indivíduo adulto.
- O conhecimento da embriologia humana fornece uma conexão entre a ciência básica (p. ex., anatomia e fisiologia) e a ciência clínica (p. ex., obstetrícia, pediatria e cirurgia).
- O conhecimento da embriologia humana permite que o médico aconselhe os pacientes com precisão sobre muitas questões, como **reprodução, contracepção, malformações congênitas, desenvolvimento pré-natal, fertilização in vitro, células-tronco e clonagem**.

Em resumo, a embriologia humana proporciona uma base para o conhecimento da medicina e sua prática pelo profissional de saúde: o conhecimento da embriologia oferece a compreensão das bases de desenvolvimento das doenças pediátricas e adultas.

A gestação humana é subdividida de muitas maneiras para facilitar o entendimento das complexas alterações que ocorrem no organismo em desenvolvimento ao longo do tempo. Os futuros pais e os médicos normalmente usam **trimestres**: períodos de 3 meses (0 a 3 meses, 3 a 6 meses e 6 a 9 meses), começando pela data de início do último período menstrual (uma referência memorável) e terminando no nascimento. Os embriologistas às vezes usam intervalos denominados períodos: **o período do zigoto** (ou seja, da formação do zigoto ou ovo, geralmente a partir da fertilização até o final da terceira semana), **o período embrionário** (ou seja, do embrião, geralmente do começo da quarta semana até o final da oitava), e **o período fetal** (ou seja, do feto, do começo do terceiro mês até o nascimento).

Os embriologistas também identificam **fases da embriogênese humana**. Tipicamente, são reconhecidas seis:

- **Gametogênese**: a formação dos gametas, ou seja, dos ovócitos e espermatozoides.
- **Fertilização**: a união dos gametas para formar o zigoto.
- **Clivagem**: uma série de rápidas divisões celulares que resultam inicialmente na formação da mórula, um pequeno agregado de células semelhante a uma amora e, a seguir, a formação do blastocisto, uma esfera oca de células que contém uma cavidade central.
- **Gastrulação**: a reorganização das células na região embrionária do blastocisto implantado em três folhetos germinativos primários: ectoderma, mesoderma e endoderma, para formar o disco embrionário.
- **Formação do plano corporal na configuração “tubo dentro de um tubo”**: conversão, por meio do dobramento do embrião, do disco embrionário em um corpo embrionário em formato de C, consistindo em um tubo ectodérmico externo (a futura pele) e um tubo endodérmico interno (o tubo gastrointestinal), com o mesoderma interposto entre os dois tubos.
- **Organogênese**: a formação dos primórdios dos órgãos e dos sistemas de órgãos.

Durante a gastrulação, os três **eixos corporais** cardinais são estabelecidos. No embrião e no feto, esses três eixos são denominados eixos **dorsoventral, craniocaudal e mediolateral**. Eles são equivalentes, respectivamente, aos eixos **anteroposterior, superoinferior e mediolateral** do adulto.



Caso Clínico

Em uma segunda-feira pela manhã, você recebe um telefonema desesperado de uma paciente não segurada de 22

anos, grávida de 3 meses. No fim de semana, ela testemunhou um acidente de automóvel em que duas pessoas ficaram gravemente feridas e não consegue apagar as imagens dos rostos ensanguentados de sua mente. Sua vizinha disse que a visão desse evento chocante pode traumatizar o feto e causar o nascimento de um “monstro”. Sua paciente está preocupada se a criança nascerá com uma grave malformação congênita e está telefonando para você para obter conselhos. Ela sabe que não tem condições de pagar um tratamento para uma criança doente e está preocupada se o marido irá amar um filho defeituoso, já que ele é muito perfeccionista. Embora hesite em lhe perguntar, ela quer saber se deve continuar com a gestação.

Você diz a ela que a vizinha está enganada e que não existem evidências clínicas que corroborem a ideia de que ver um evento chocante possa traumatizar o feto a ponto de resultar em uma grave malformação congênita. Ela afirma estar bastante aliviada por falar com você e que concorda em continuar com a gravidez. Contudo, ela admite que ainda tem algum receio. Você reconhece que – dependendo da cultura, da educação e das crenças das pessoas – lendas e superstições podem ser tão poderosas quanto a medicina moderna. Você continua tentando acalmar as preocupações da paciente e a tranquiliza durante as consultas pré-natais, que incluem exames de ultrassonografia normais. Os dois últimos trimestres da gestação são livres de eventos significativos e ela dá à luz uma menina de 3,345 kg, saudável e vivaz.

Por que estudar embriologia humana?

Um bom motivo para estudar embriologia humana é simplesmente porque o assunto é fascinante. Nós todos, um dia, fomos embriões humanos; portanto, o estudo da embriologia humana é o estudo das nossas origens e experiências pré-natais. Além disso, muitos de nós somos, ou seremos algum dia, pais e, talvez, avós. Ter um filho ou um neto é uma experiência incrível que, uma vez mais, personaliza o desenvolvimento humano para cada um de nós e provoca nossa curiosidade sobre suas maravilhas. No papel de professores de embriologia humana, com um de nós estando a caminho de completar meio século, ainda consideramos o assunto absolutamente fascinante!

A embriologia humana nem sempre ocorre normalmente. Surpreendentemente, 3% a 4% de todas as crianças nascidas vivas serão, por fim, diagnosticadas (geralmente nos 2 primeiros anos) com uma significativa **malformação** (ou seja, **defeito congênito**). Entender por que a embriologia se desvirtua e acarreta malformações congênitas exige uma completa compreensão dos eventos moleculares genéticos, celulares e teciduais com base na embriologia humana normal. O desenvolvimento anormal de um indivíduo terá um impacto permanente na vida de uma pessoa, e também em suas famílias.

Para quem busca uma carreira em biologia, medicina ou ciências médicas associadas, existem muitos outros motivos para estudar embriologia humana, pois esta ciência proporciona os fundamentos para o entendimento da medicina e da sua prática pelo profissional de saúde.

- A melhor maneira de entender e se lembrar da anatomia humana — anatomia microscópica, neuroanatomia e anatomia macroscópica — é entender como tecidos, órgãos e o corpo como um todo se desenvolvem a partir de primórdios relativamente simples. O conhecimento de embriologia solidifica seu conhecimento de anatomia e oferece uma explicação para a variação que você irá observar na anatomia humana e na cirurgia.
- À medida que você continuar seus estudos e, talvez, fizer cursos de genética humana, patologia, sistemas de órgãos e biologia da reprodução, e estudar processos patológicos e envelhecimento, seu conhecimento de embriologia humana continuará a lhe trazer benefícios. O câncer, atualmente, é amplamente reconhecido como uma doença que envolve mutações e genes que controlam o desenvolvimento e regulam os principais eventos celulares do desenvolvimento, como divisão e morte celular (apoptose).
- Muitos de vocês se tornarão médicos. A embriologia servirá para conectar seus cursos de ciência básica e ciência clínica, particularmente quando você começar a estudar obstetrícia, pediatria e cirurgia. Contudo, talvez o mais importante seja a possibilidade de, quando você começar sua prática clínica, seus pacientes fazerem muitas perguntas sobre gestação e malformações congênitas e também sobre questões controversas e de interesse geral, como aborto, controle de natalidade, criopreservação de gametas e de embriões, clonagem reprodutiva e terapêutica, fertilização *in vitro*, doação de gametas e de embriões, células-tronco, armazenamento de sangue do cordão umbilical e mães gestacionais substitutas (barrigas de aluguel). Seu conhecimento sobre embriologia humana permitirá que você ofereça um aconselhamento cientificamente preciso, possibilitando que seus pacientes tomem decisões informadas com base no entendimento científico atual. Muitos dos seus pacientes terão preocupações relativas à reprodução. Como médico, você será a principal fonte de informações confiáveis.
- Se você for estudante de medicina, é importante saber que ter um bom desempenho (e, talvez, passar) na primeira etapa do exame do National Boards envolve um conhecimento completo de embriologia humana e dos princípios e mecanismos básicos moleculares, genéticos e de desenvolvimento. Tanto o Dr. Larsen (autor original deste livro didático) quanto o Dr. Schoenwolf foram Membros da Etapa 1 do USMLE (United States Medical Licensing Examination – Exame para Licenciamento de Medicina dos Estados Unidos), do Cell and Developmental Biology

Test Material Development Committee (Comissão de Desenvolvimento de Material para Testes de Biologia Celular e de Desenvolvimento), do National Board of Medical Examiners (Conselho Nacional de Examinadores Médicos) (o Dr. Schoenwolf ingressou na comissão após a morte prematura do Dr. Larsen). A embriologia humana é um componente integral desse exame. Além disso, como este livro enfatiza as aplicações clínicas e os mecanismos de desenvolvimento (consulte as seções “Na Clínica” e “No Laboratório de Pesquisa”, respectivamente, em cada capítulo) e também os aspectos descritivos do desenvolvimento, o estudo da embriologia humana por meio deste livro pode ter algum valor prático.

- Finalmente, acreditamos que um dos melhores motivos para se estudar a embriologia humana é o fato de esse ser um assunto agradável de aprender. Embora atualmente saibamos muito sobre como os embriões se desenvolvem, ainda existem muitos mistérios por esclarecer. Portanto, a embriologia humana não é um assunto estático; em vez disso, nossos conhecimentos e entendimento sobre embriologia humana estão sempre evoluindo. Quando você estudar embriologia humana, certifique-se de estar atento às constantes novidades, pois, sem dúvida, serão apresentados avanços na embriologia humana várias vezes durante o andamento do seu estudo.



No Laboratório de Pesquisa

Vínculos entre desenvolvimento e câncer

A família de moléculas de sinalização Wnt (estudadas no [Cap. 5](#)), secretadas no meio extracelular, é um exemplo de via de sinalização que exerce múltiplas funções no embrião e no adulto. Uma das principais funções para a sinalização por Wnt no embrião é especificar o destino celular. No adulto, a sinalização por Wnt mantém a homeostase em tecidos capazes de autorrenovação. Mutações de membros da via de sinalização Wnt resultam em transformação maligna (*i. e., câncer*).

Essas múltiplas funções da sinalização por Wnt talvez sejam mais bem entendidas no trato gastrointestinal ([Cap. 14](#)). A primeira sugestão de que a sinalização por Wnt era importante na biologia do trato gastrointestinal veio da descoberta, ao início da década de 1990, de que o **gene supressor de tumor POLIPOSE ADENOMATOSA DO COLO** (APC, do inglês *adenomatous polyposis coli*) — um componente da via de sinalização por Wnt — sofria mutação no **câncer colorretal**. A mutação causava uma sinalização de Wnt constitutivamente ativa e o subsequente desenvolvimento de câncer.

Conforme detalhado no [Capítulo 14](#), a sinalização por Wnt também desempenha importantes papéis no desenvolvimento normal do trato gastrointestinal. Em primeiro lugar, a padronização regional do trato gastrointestinal e do seu dobramento para formar o intestino posterior, e provavelmente também o intestino anterior, exigem sinalização por Wnt. Em segundo lugar, após o tubo intestinal ter se formado, ele sofre uma histogênese regional. Por exemplo, no intestino delgado formam-se vilos (ou vilosidades, projeções digitiformes da mucosa intestinal), as quais são separadas por invaginações denominadas criptas. Por outro lado, no colo (intestino grosso) também se formam criptas, mas não há vilos. As criptas consistem em células progenitoras altamente proliferativas, com células em maturação se movimentando ao longo do epitélio das criptas em direção ao epitélio superficial da mucosa intestinal. A proliferação normal das células das criptas necessita de estímulo contínuo pela via Wnt.

A mutação de componentes de várias outras vias de sinalização que funcionam durante o desenvolvimento pode resultar em câncer durante a vida pós-natal. Essas vias incluem as vias hedgehog, TGF- β e notch, todas abordadas em detalhe no [Capítulo 5](#). As funções dessas vias, além das funções de várias outras vias de sinalização no desenvolvimento e na doença de sistemas de órgãos específicos, são estudadas nos capítulos apropriados.

Observações sobre os nomes dos genes

Quando você lê a literatura científica e clínica para expandir seu conhecimento sobre embriologia, pode observar que são usadas diferentes convenções de nomes e estilos de fontes para designar um gene, seu RNAm ou sua proteína. Além disso, as convenções de nomes são diferentes para muitos modelos animais e, por sua vez, podem ser diferentes dos usados para seres humanos. Por exemplo, o gene do fator de crescimento fibroblástico 8 (Fgf8) nos seres humanos é designado como *FGF8*, seu RNAm como *FGF8* e sua proteína como *FGF8*. Nos camundongos, tanto o gene quanto seu respectivo RNAm são designados como *Fgf8* e sua proteína como *FGF8*.

Para simplificar e facilitar a leitura para o estudante, neste livro será usado texto normal, em vez de itálico, para designar um gene ou transcrito. Além disso, genes, transcritos e proteínas serão designados em letra minúscula, com três exceções. Na primeira, genes humanos e seus transcritos serão mostrados totalmente em letras maiúsculas para ficar claro que um determinado gene sabidamente desempenha uma função no desenvolvimento humano ou que uma mutação nesse gene acarreta uma malformação ou doença congênita. Na segunda, quando o nome de um gene, de um transcrito ou de uma proteína for abreviado, a primeira letra do nome será maiúscula (p. ex., *Bmp* da

galinha e proteína morfogenética óssea da galinha). Na terceira, quando as proteínas forem estudadas no contexto de sua ação em um processo, como o ciclo menstrual, em vez de no contexto genético genômico/molecular e abreviação de nomes, este será composto somente por letras maiúsculas. Portanto, o hormônio luteinizante será designado como hormônio luteinizante (nem em itálico nem com letra inicial maiúscula) ou por sua abreviatura LH (toda em letras maiúsculas). Finalmente, quando for importante, para fins de clareza, designar se o nome indica um gene, um RNAm ou uma proteína, serão adicionados qualificadores da seguinte maneira: o gene Fgf8, o transcrito Fgf8 ou a proteína Fgf8.

Períodos da embriologia humana

Do ponto de vista de um médico ou de um pai ou mãe em potencial, o desenvolvimento pré-natal humano é subdividido em três intervalos principais, denominados **primeiro, segundo e terceiro trimestres**, ou seja, três períodos de 3 meses. Do ponto de vista de um embriologista, existem também três subdivisões do desenvolvimento pré-natal humano, denominados **período do zigoto (ovo), período embrionário e período fetal**. Geralmente, considera-se que o primeiro período, do **zigoto ou ovo**, se estende desde o momento da **fertilização** até a formação do **blastocisto** e sua **implantação** na parede uterina 1 semana após a fertilização ([Fig. Intro-1](#)). O **concepto** (*i. e.*, o produto da concepção ou fertilização) tipicamente é denominado *zigoto* ou *ovo* durante esse período. O concepto no estágio de blastocisto já se diferenciou para originar os tecidos destinados a formar o embrião, além de outros tecidos que irão formar as camadas extraembrionárias. Durante o período do zigoto, os embriologistas humanos identificam três estágios de desenvolvimento: o **zigoto propriamente dito** (formado durante a fertilização, anterior a suas etapas multicelulares), a **mórula** (formada após o zigoto ter sofrido divisões mitóticas na clivagem, originando um agregado celular em formato de amora, constituído por múltiplas células ou blastômeros) e o **blastocisto** (uma esfera oca de células derivadas da mórula através da formação de uma grande cavidade central preenchida por líquido denominada **blastocel**). Durante esse período, o concepto pode também ser denominado **embrião em pré-implantação** ou, mais precisamente, **concepto em pré-implantação**. Consequentemente, o período também pode ser denominado período do embrião ou do concepto em pré-implantação. O uso do termo *ovo* ou *embrião* para o concepto nessas etapas é particularmente útil nos casos de fertilização *in vitro* (ovos/embriões são coletados, ovos/embriões são lavados, ovos/embriões são transplantados para o útero. Tente pronunciar essas expressões rapidamente usando “conceptos”!). Todavia, no sentido mais estrito, *ovócito* é o nome do gameta feminino antes da fertilização, o qual não deve ser confundido com o termo “ovo”, o qual se refere a um ovócito fecundado, ou seja, um futuro embrião a se desenvolver.

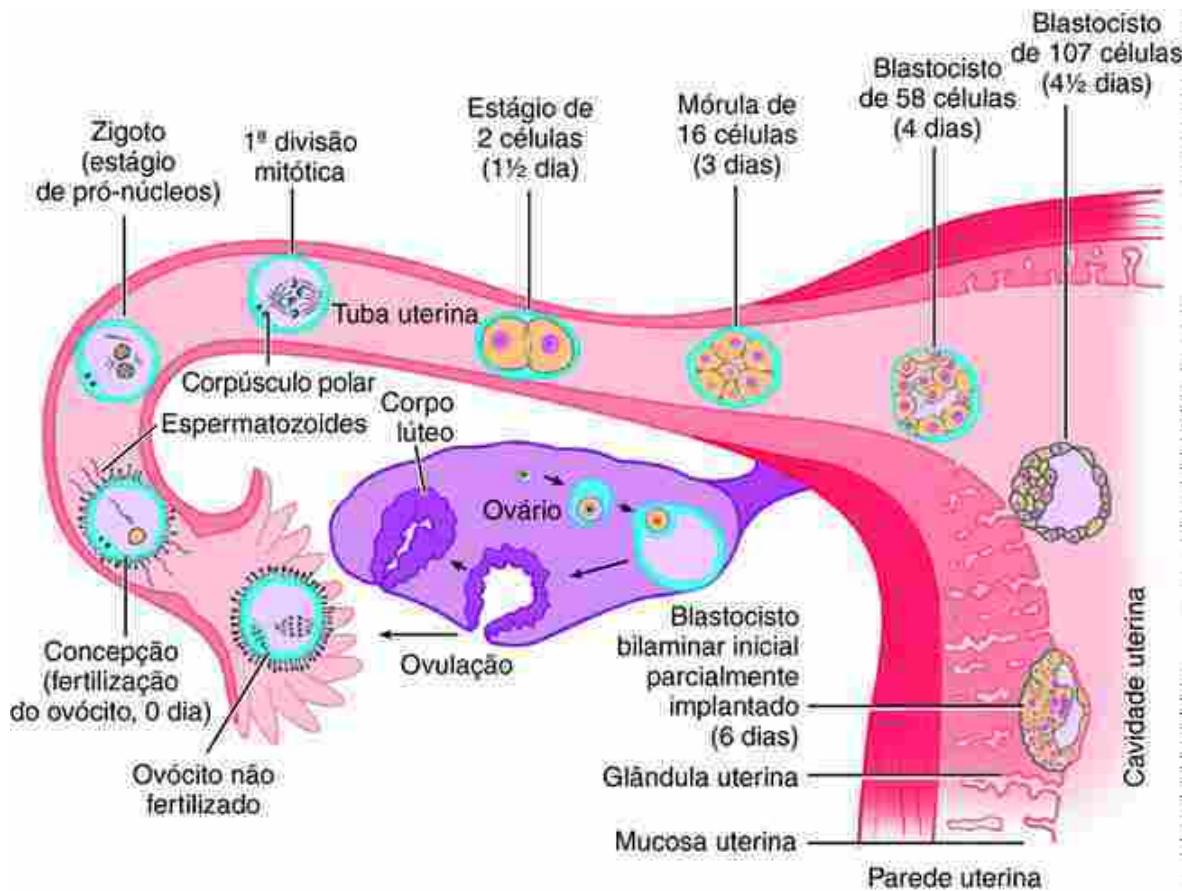


FIGURA INTRO-1 A primeira semana do desenvolvimento pré-natal do ser humano.

O início exato do período embrionário é indefinido; consequentemente, não existe um acordo universal sobre quando o período começa. Alguns especialistas nomeiam a mórula em processo de clivagem, ou mesmo o zigoto, como *embrião*; portanto, nesse esquema de classificação, o período do embrião começa imediatamente após a fertilização ou somente 3 dias após a fertilização. Outros usam o termo *embrião* somente após o conceito começar a se implantar na parede do útero ao final da primeira semana de gestação, ou quando ele já se encontra totalmente implantado na parede do útero ao final da segunda semana de gestação. Outros usam o termo *embrião* somente na quarta semana de gestação, após o disco embrionário ter se tornado tridimensional e um típico plano corporal do tipo “tubo dentro de um tubo” se estabelecer. O período do embrião também poderia ser denominado período do *embrião pós-implantação* ou do *concepto pós-implantação*, se esses termos estivessem restritos a etapas posteriores à implantação. Neste livro, será estabelecido que o período embrionário inicia-se ao final da primeira semana de gestação, após o início da implantação.

Apesar da falta de consenso sobre o início do período embrionário, considera-se universalmente que ele termine ao final da oitava semana de gestação (*i. e.*, ao final do segundo mês após a fertilização), após o qual inicia-se o período fetal. Este momento final para o período embrionário é definido por convenção e, por conta disso, ainda é arbitrário, uma vez que não ocorrem alterações importantes entre a 8^a e a 9^a semana de gestação que marquem a transição. O período fetal se estende a partir da 9^a semana até o nascimento, e é caracterizado pelo rápido crescimento do feto e da maturação funcional dos seus sistemas de órgãos (abordado no Cap. 6). Ao nascimento, o recém-nascido respira sozinho, mas o desenvolvimento não cessa simplesmente pela ocorrência do nascimento. Embora este livro discuta apenas o desenvolvimento pré-natal, é importante lembrar que ele não é somente uma experiência pré-natal; em vez disso, é um processo vitalício, com a maturação durante a puberdade e o subsequente envelhecimento, o qual envolve eventos de desenvolvimento adicionais.

No Laboratório de Pesquisa

Por que envelhecemos?

Modelos animais têm desempenhado um papel importante no entendimento do **envelhecimento**, também conhecido como **senescênci**a, em seres humanos. Com o uso de organismos tão distintos quanto *Saccharomyces*

cerevisiae (uma espécie de levedura), *Caenorhabditis elegans* (uma espécie de verme nematoide), *Drosophila melanogaster* (a mosca das frutas) e *Mus musculus* (o camundongo), as vias genéticas que controlam o envelhecimento estão começando a ser elucidadas. Modelos animais oferecem a vantagem essencial de que as pesquisas possam ser conduzidas para mutações em genes que afetam o **tempo de vida**. Esses estudos mostram claramente que genes específicos que prolongam o tempo de vida em modelos animais podem ser identificados – um resultado relevante para a compreensão do envelhecimento humano. Por exemplo, um *locus* identificado no cromossoma 4 humano foi vinculado a uma excepcional longevidade, sugerindo que existem genes similares em seres humanos. Para corroborar isso, variantes do gene humano FOXO3a (um gene localizado no cromossoma 6 humano que é um homólogo de um fator de transcrição na sequência de ativação do gene da longevidade inicialmente identificado em modelos animais) estão associadas a uma longevidade incomum em famílias de seres humanos.

O **tempo de vida** e a duração de uma boa saúde (*i. e.*, o **período saudável**) podem ser estendidos através de restrição calórica (sem desnutrição) em várias espécies de modelos animais, inclusive mamíferos, desde que a dieta inclua nutrição suficiente para a manutenção de rotina do organismo. No entanto, embora o valor da restrição calórica seja conhecido há mais de meio século, o mecanismo exato de sua ação permanece obscuro. Sabe-se que diversos fatores agem de forma comprovada no envelhecimento, incluindo inflamação persistente, liberação acumulada de espécies reativas de oxigênio, encurtamento dos telômeros (complexos de DNA e proteínas nas extremidades de cromossomas) a cada divisão celular e disfunções mitocondriais. A restrição calórica altera todos esses fatores. Além disso, a restrição calórica diminui a atividade das vias de sinalização de nutrientes como a via da insulina/fator de crescimento semelhante à insulina e a via TOR (ambas as vias serão discutidas adiante). Em conjunto, esses resultados sugerem que o envelhecimento é um processo complexo que envolve uma combinação desses fatores, e não um único fator. É interessante observar que esses fatores não agem somente no envelhecimento; um número crescente de evidências os vincula a doenças crônicas em seres humanos, como as doenças de Alzheimer e Parkinson, infarto, diabetes, câncer, osteoporose e aterosclerose.

A puberdade e a menopausa, dois dos principais eventos pós-natais, são hormonalmente controlados ([Cap. 1](#)). Consequentemente, não é surpresa que o envelhecimento, um evento mais gradual do desenvolvimento pós-natal, também pareça ser hormonalmente regulado. Foi mostrado, em especial, que o hormônio insulina e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) limitam o tempo de vida; deste modo, mutações nessa via de sinalização aumentam o tempo de vida. Uma maneira pela qual o hormônio insulina/IGF-1 é regulado é através de neurônios sensitivos. Perturbações em *C. elegans* que diminuem a percepção sensorial prolongam o tempo de vida (em até 50%) ao agir através dessa via. Tão surpreendente quanto parece, a percepção sensorial elevada causa a secreção elevada do hormônio insulina/IGF-1, acelerando o envelhecimento.

A linhagem germinativa (estudada no [Cap. 1](#)) também pode regular a taxa de envelhecimento, provavelmente para coordenar a programação da reprodução de um animal com sua taxa de envelhecimento. Por exemplo, foram criadas linhagens de moscas que se reproduzem em um período relativamente tardio da vida e têm vida longa, ao passo que outras linhagens se reproduzem mais cedo e têm vida curta. Se as células germinativas forem extermínadas na linhagem de vida curta, seu tempo de vida será prolongado. Os danos oxidativos também aceleram o envelhecimento. *C. elegans* e moscas mutantes resistentes a danos oxidativos têm vida longa, enquanto indivíduos com mutações que aumentam os danos oxidativos possuem vida curta. Esse fato gerou a teoria do envelhecimento por radicais de oxigênio e, como consequência, o enorme volume de antioxidantes que enchem as prateleiras das seções de alimentos dos supermercados. Essa teoria é corroborada pela demonstração de que a mutação do gene *p66^{shc}* em camundongos, a qual torna o camundongo resistente à ação de geradores de radicais de oxigênio, aumenta seu tempo de vida em até 30%.

O papel da via TOR no envelhecimento e em doenças crônicas fornece um exemplo interessante de como as observações fundamentais na biologia podem trazer novos entendimentos sobre as doenças em seres humanos. Em 1964, uma equipe de cientistas viajou para a ilha de Páscoa para coletar amostras da flora e da fauna antes da construção de um aeroporto que alteraria o ecossistema da ilha. Foi observado posteriormente que uma bactéria descoberta em uma amostra do solo produziu um agente químico capaz de prolongar a vida quando injetado em diversas espécies, incluindo camundongos. O agente químico foi denominado rapamicina, em homenagem à ilha de Páscoa, a qual também é chamada de Rapa Nui. Consequentemente, foi mostrado que o resveratrol, ingrediente presente no vinho tinto, bloqueia a diminuição do tempo de vida de camundongos expostos a dietas ricas em gorduras. Aparentemente, o resveratrol funciona por meio de enzimas denominadas sirtuínas, mas nem o resveratrol nem as sirtuínas parecem ser muito eficazes em prolongar o tempo de vida em camundongos alimentados com dietas normais. No entanto, a rapamicina, que age pela inibição à proliferação celular, tem a capacidade de estender o tempo de vida desses camundongos de forma significativa (aproximadamente de 10 a 15% nas fêmeas e 10% nos machos).

A rapamicina age na proteína TOR (alvo da rapamicina), inibindo sua atividade. Além de prolongar o tempo de

vida, a supressão de TOR também diminui o risco de várias doenças relacionadas com a idade. TOR, conforme mencionado anteriormente, é um sensor de nutrientes que fornece um vínculo para o entendimento dos efeitos anti-envelhecimento da restrição calórica. Após a ingestão de alimentos, o pâncreas libera insulina. Uma das funções da insulina é aumentar a atividade da via de TOR, induzindo as células a crescer e proliferar. Infelizmente, a rapamicina não pode ser usada de modo profilático em seres humanos para inibir o TOR e desacelerar o envelhecimento devido a seus efeitos colaterais. Consequentemente, as pesquisas prosseguem para outros compostos capazes de suprimir o TOR de forma segura e retardar o envelhecimento e o início das doenças relacionadas com a idade.



Na Clínica

Progeria: Envelhecimento prematuro

Uma forma grave de **envelhecimento prematuro** ocorre em seres humanos e é denominada progeria, ou síndrome da progeria de Hutchinson-Gilford (SPHG, normalmente chamada de **progeria**, derivada das palavras gregas *pro*, de prematuro, e *geraios*, de idade avançada). Uma em 4 a 8 milhões de crianças é afetada pela progeria; essas crianças envelhecem a uma velocidade 5 a 10 vezes mais rápida do que a normal. Embora elas geralmente tenham aparência normal ao nascimento, a velocidade de crescimento das crianças afetadas diminui e sua aparência começa a se alterar. As crianças com progeria muitas vezes desenvolvem calvície, pele envelhecida (rígida), nariz adunco, nanismo, ossos quebradiços, além de face e mandíbulas pequenas ([Fig. Intro-2](#)). A expectativa média de vida dessas crianças é de 13 a 14 anos, com morte geralmente resultante de uma doença cardiovascular (ataque cardíaco ou derrame).



FIGURA INTRO-2 Amy, uma criança com progeria, aos 16 anos.

A causa mais comum de progeria é uma mutação de base única em um gene que codifica a LAMINA-A, uma proteína do envoltório nuclear. A mutação ativa um local de *splicing* críptico aberrante no pré-RNAm de LAMINA-A, acarretando a síntese constitutiva de uma proteína truncada denominada **progerina**. A proteína inteira, juntamente com outras laminas e proteínas associadas a laminas da membrana nuclear interna do envoltório nuclear, tem diversas funções, incluindo a promoção da integridade física do núcleo, a regulação da replicação e transcrição do DNA e a formação de complexos que atuam como suportes para formar e regular a estrutura de ordem superior da cromatina e para a regulação epigenética da expressão gênica. Células de pacientes com progeria apresentam envoltórios nucleares deformados, e especula-se que tecidos sujeitos a intenso estresse físico, como os do sistema cardiovascular, podem sofrer morte celular disseminada em virtude da instabilidade nuclear. Além disso, existem outros defeitos nucleares em pacientes portadores de progeria, incluindo estrutura anormal da cromatina e danos elevados no DNA. Cada vez mais as laminas vêm sendo vinculadas a um amplo espectro de doenças (p. ex., distrofia muscular de Emery-Dreifuss e miopatias relacionadas; doença de Charcot-Marie-Tooth do tipo 2B1 — [Caps. 4 e 10](#)), incluindo a progeria; essas doenças são coletivamente denominadas **laminopatias**.

O uso de fibroblastos obtidos de pacientes com progeria restaurou a morfologia nuclear normal (e várias outras características celulares críticas) ao tratar as células com um oligonucleotídeo de DNA quimicamente estável (uma sequência curta de DNA, denominada morfolino, que as células não conseguem degradar) direcionado ao local de *splicing* críptico ativado (para se ligar ao local mutado e evitar que a maquinaria de *splicing* execute cortes no local errado). Consequentemente, essa abordagem comprova o conceito para a correção definitiva do envelhecimento

prematuro com **terapia gênica** em crianças com progeria, uma possibilidade animadora. Outras vias animadoras incluem o tratamento com rapamicina (abordado na seção “No Laboratório de Pesquisa” precedente) ou compostos similares, os quais, em células em cultura, promovem a depuração da progerina e prolongam a sobrevivência das células, além do tratamento com outros medicamentos que diminuem a síntese da progerina.

Período do zigoto e período embrionário: resumo de eventos principais

O período do zigoto e o período embrionário, coletivamente definidos (conforme discutido anteriormente) como as primeiras 8 semanas subsequentes à fertilização, é caracterizado por um grande número de rápidas alterações. Essas alterações estão resumidas na [Tabela Intro-1](#). Também são mostrados na tabela, para dias selecionados durante as 8 semanas de gestação, o maior comprimento do embrião, o número de somitos e o estagiamento de Carnegie. Este último constitui a série de estágios mais amplamente usada para embriões humanos. Ao oferecer um conjunto padronizado de critérios para a avaliação dos estágios, essa lista permite que sejam feitas comparações detalhadas entre diferentes embriões em diferentes coleções de todo o mundo. A [Figura Intro-3](#) mostra embriões humanos da coleção de Kyoto nos estágios de Carnegie 7 a 23.

Tabela intro-1**Etapas do desenvolvimento humano (da 1^a à 8^a semana)**

Semana	Dia	Comprimento (mm) ^a	Número de Somitos	Estágio de Carnegie	Características (<i>Capítulos em que as Características são Discutidas</i>) ^b
1	1-7	0,1-0,2	0	1	Fertilização (1)
				2	Ocorrem as primeiras divisões de clivagem (2-16 células) (1)
				3	O blastocisto está livre no útero (1)
				4	O blastocisto sofre eclosão e começa a se implantar (1, 2)
2	8-14	0,1-0,2	0	5	Blastocisto completamente implantado (1, 2)
				6	Formam-se as vilosidades-tronco primárias (2); delaminação do endoderma (2); desenvolvimento da linha primitiva (3)
3	15-21	0,4-2,5	0	7	Início da gastrulação e formação do processo notocordal (3)
			0	8	Formação da fosseta primitiva, da placa neural, do sulco neural, das pregas neurais e do canal neurentérico (3, 4)
			1-3	9	Início da formação dos somitos (4); formação do tubo cardíaco primitivo (12); início do desenvolvimento da vascularização no disco embrionário (13)
4	22-28	1,3-5,4	4-12	10	Fusão das pregas neurais (4); a extremidade cranial do embrião sofre uma rápida flexão (4, 9); formam-se neurômeros nas vesículas encefálicas (4, 9); formam-se os sulcos ópticos (10, 18); formam-se as fossetas óticas (18); o coração começa a bater (12); formação dos primórdios pulmonares (11); formação do divertículo hepático (14); formação dos dois primeiros pares de arcos faríngeos (17); formação do brotamento da cauda (4)
			13-20	11	As células germinativas primordiais começam a migrar da parede do saco vitelino (1, 16); o neuroporo cranial se fecha (4); ruptura da membrana bucofaríngea (17); desenvolvem-se as vesículas ópticas (18); as fossetas óticas começam a se formar (18)
			21-29	12	O neuroporo caudal se fecha (4); formação do divertículo cístico e do brotamento pancreático dorsal (14); o septo urorretal começa a se formar (14, 15); formação dos brotamentos dos membros superiores (19); formação dos 3º e 4º pares de arcos faríngeos 3 e 4 (17)
5	29-35	3,9-12,0	30+	13	As colunas dorsal e ventral começam a se diferenciar em camada do manto da medula espinal e no tronco encefálico (9); o septo primário começa a se formar no coração (12); formação do baço (14); formação dos brotamentos ureterais (15); formação dos brotamentos dos membros inferiores (19); formação das vesículas ópticas e dos placoides das lentes (18); formação dos núcleos motores dos nervos cranianos (9, 10)
				14	Os nervos espinais começam a brotar (10) as valvas semilunares começam a se formar no coração (12); formação dos vasos linfáticos e coronarianos (13); formação das curvaturas maior e menor do estômago e da alça intestinal primária (14); os rins metanéfricos começam a se desenvolver (15); as fossetas das lentes invaginam-se em direção aos cálices ópticos (18); formação dos apêndices endolinfáticos (18) as vesículas encefálicas secundárias começam a se formar (9); os hemisférios cerebrais tornam-se visíveis (9)
				15	As valvas atrioventriculares e a cavidade pericárdica definitiva começam a se formar (12); formação das pregas cloacais e do tubérculo genital (14, 15, 16); desenvolvimento das placas das mãos (19); formação das vesículas das lentes (18); ocorre a invaginação das fossetas nasais e formam-se os processos nasais mediais e laterais (17); os gânglios dos nervos cranianos sensitivos e parassimpáticos começam a se formar (10); os neurônios olfatórios

					primários enviam axônios para o telencéfalo (10)
6	36-42	10,0-21,5	30+	16	O septo ventricular muscular começa a se formar (12); o lúmen do tubo gastrointestinal se torna ocluído (14); os cálices maiores dos rins metanéfricos começam a se formar e os rins começam a migrar para cima (15); formação das cristas genitais (16); desenvolvimento das placas dos pés (18); formação de pigmento nas retinas (18); desenvolvimento dos tubérculos auriculares (18)
				17	Formação dos primórdios dos segmentos broncopulmonares (11); o septo intermediário do coração está completo (12); formação do sistema de veias subcardinais (13); os cálices menores dos rins metanéfricos estão se formando (15); os raios digitais estão distintos (19); formação dos sulcos nasolacrímais (17); o cerebelo começa a se formar (9); os melanócitos penetram na epiderme (7); formação das lâminas dentárias (17)
7	43-49	18,0-26,4	30+	18	Inicia-se a ossificação do esqueleto (8); as células de Sertoli começam a se diferenciar na gônada masculina (16); formação dos cotovelos e dos raios dos artelhos (19); formação do processo intermaxilar e das pálpebras (17); os tálamos do diencéfalo se expandem (9); formação dos mamilos e dos primeiros folículos pilosos (7)
				19	O septo primário se funde com o septo intermediário no coração (12); a membrana urogenital se rompe (16); o tronco se alonga e se estreita (8)
				20	A alça intestinal primária conclui a rotação inicial no sentido anti-horário (14); no sexo masculino, os ductos de Müller começam a regredir e os ductos deferentes começam a se formar (15); os membros superiores se dobram nos cotovelos (19)
8	50-56	23,4-32,2	30+	21	Os canais pericardioperitoneais se fecham (11); mãos e pés giram na direção da linha média (19)
				22	As pálpebras e pavilhões auriculares estão mais desenvolvidos (18)
				23	A cavidade coriônica se fecha pelo crescimento do saco amniótico (6); a veia cava superior definitiva e os principais ramos do arco da aorta são estabelecidos (12); o lúmen do tubo gastrointestinal é quase completamente recanalizado (14); os dentes decíduos estão no estágio de capuz (17)

^aO comprimento é a maior medida de extensão do embrião.

^bAs etapas de alguns eventos e estágios podem variar em até 4 a 5 dias durante os estágios 10 a 23.

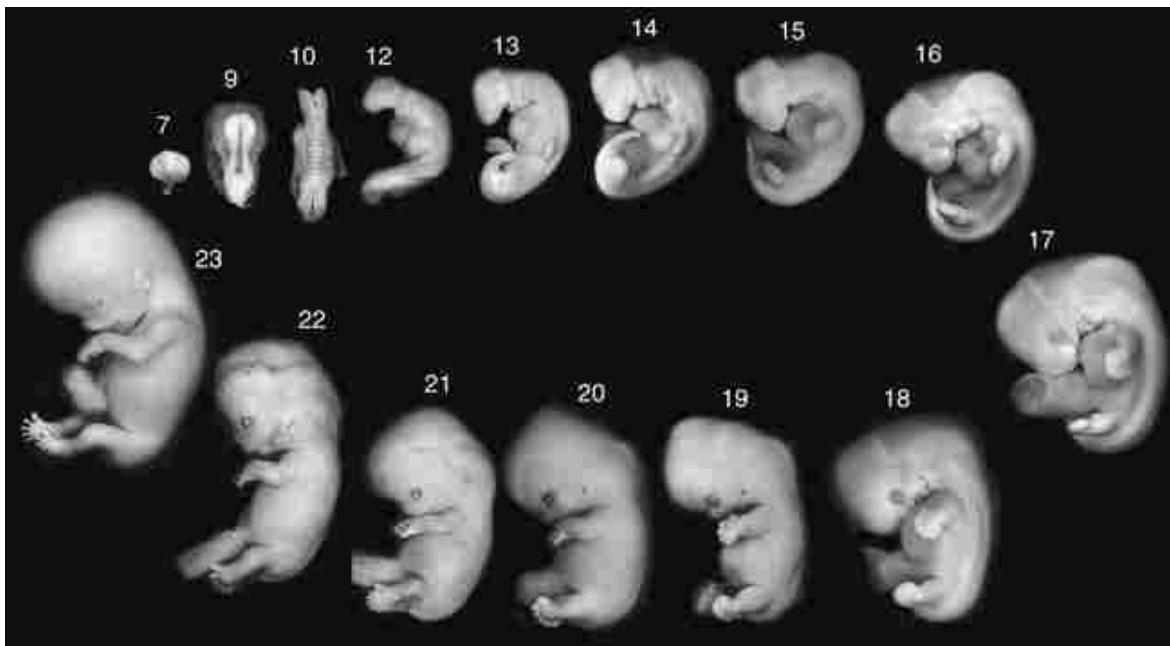


FIGURA INTRO-3 Embriões humanos da coleção de Kyoto nos estágios de Carnegie 7 a 23. O embrião foi dissecado de suas membranas embrionárias em todos os estágios.

Fases da embriologia humana

Além dos períodos de embriologia humana anteriormente abordados neste capítulo, os embriologistas subdividem a embriologia humana em fases. Essas fases são apresentadas aqui para ajudá-lo a manter os eventos do desenvolvimento no contexto à medida que seus estudos de embriologia avançam. Detalhes de cada uma dessas fases serão discutidos em capítulos subsequentes.

A primeira fase da embriologia humana é a **gametogênese**. Esse processo ocorre nas gônadas femininas e masculinas (ovários e testículos) e envolve **meiose**. Em ambos os sexos, o principal efeito da meiose é estabelecer uma célula haploide, ou seja, uma célula que contenha a metade do número de cromossomas contidos em células típicas do corpo (células somáticas), como as células da pele. Além de produzir células haploides, a meiose permite a transferência de informações genéticas, aumentando, portanto, a diversidade genética. No sexo feminino, a gametogênese ocorre nos ovários e é denominada **ovogênese**; as células finais produzidas pela ovogênese são os ovócitos. No sexo masculino, a gametogênese ocorre nos testículos e é denominada **espermatozogênese**; as células finais produzidas pela espermatozogênese são os espermatózoides. Nesse caso, como resultado da gametogênese, os gametas se submetem a uma diferenciação morfológica que torna possível a ocorrência da segunda fase da embriologia humana.

A segunda fase da embriologia humana é a **fertilização** (Fig. Intro-1). Esse processo ocorre em uma das tubas uterinas (ou ovidutos) da mulher depois que o ovócito é liberado na ovulação e penetra em uma tuba uterina, e os espermatózoides são depositados na vagina durante o coito. Os espermatózoides se movimentam da vagina para o interior do útero e, por fim, para o interior das tubas uterinas, onde – caso um ovócito seja encontrado – pode ocorrer a fertilização. Um dos principais efeitos da fertilização é restaurar o número diploide de cromossomas, ou seja, o número normal de cromossomas contidos em células somáticas do corpo. Uma vez que os cromossomas do ovócito e do espermatózido são unidos em uma única célula no momento da fertilização, estabelecendo uma nova célula denominada **zigoto** (ou **ovo**), a fertilização também ocasiona a produção de uma nova célula que apresenta um genoma exclusivo, diferente do genoma das células da mãe ou do pai. Além de restaurar o número diploide de cromossomas, outro efeito principal da fertilização é a ativação do ovo, o que permite a ocorrência de fases subsequentes da embriologia humana.

A terceira fase da embriologia humana é a **clivagem** (Fig. Intro-1). Durante a clivagem, o zigoto se divide por mitose em duas células, e cada uma delas rapidamente se divide em mais duas células. O processo continua a se repetir, formando rapidamente uma esfera sólida de células denominada **mórula**. A clivagem difere da divisão celular convencional que ocorre em muitos tipos de células em toda a vida de um organismo, pois, durante a clivagem, cada célula-filha formada tem aproximadamente a metade do tamanho da célula-mãe. Por outro lado, depois da divisão celular convencional, as células crescem até o tamanho aproximado da célula-mãe antes de sofrerem a próxima etapa de divisão. Um efeito da clivagem é aumentar a **relação nucleocitoplasmática**, ou seja, o volume do núcleo em comparação com o volume do citoplasma. Um ovócito – e, subsequentemente, um zigoto – tem uma relação

nucleocitoplasmática baixa devido ao fato de ele conter um único núcleo e uma grande quantidade de citoplasma. Com cada clivagem, o citoplasma é dividido à medida que os núcleos são replicados e a relação nucleocitoplasmática se aproxima da relação de uma célula somática do organismo. Outro efeito da clivagem é a produção de um embrião multicelular; as células da mórula e do subsequente **blastocisto** (estrutura formada pelo surgimento de uma cavidade na mórula) são denominadas **blastômeros**.

A quarta fase da embriologia humana é a **gastrulação**. Durante a gastrulação, as células sofrem extensos movimentos umas em relação às outras, alterando suas posições. Isso faz com que as células entrem em contato com novos vizinhos e permite o repasse de informações entre as células, acabando por alterar seus destinos. Um efeito da gastrulação é estabelecer os folhetos teciduais primitivos, denominados **folhetos germinativos** (Fig. Intro-4). São formados três folhetos germinativos primários, denominados **ectoderma**, **mesoderma** e **endoderma**. Os folhetos germinativos dão origem a tecidos e a primórdios de órgãos durante o desenvolvimento subsequente. Os três principais eixos do embrião se tornam identificáveis durante a gastrulação (Fig. Intro-5): o **eixo dorsoventral**, o **eixo craniocaudal** e o **eixo mediolateral** (incluindo o **eixo esquerdo-direito**).

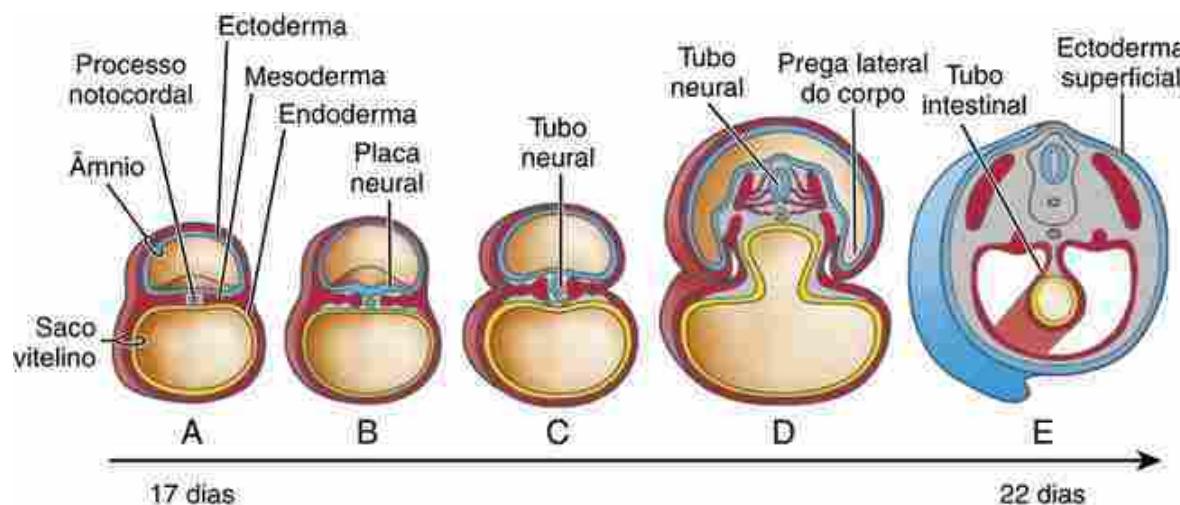


FIGURA INTRO-4 Série de esquemas de cortes transversais do embrião humano entre 17 e 22 dias de gestação. Ao final da gastrulação, A, o conceito consiste em um disco embrionário trilaminar composto de ectoderma, mesoderma e endoderma, coberto dorsalmente pelo âmnio e ventralmente pelo saco vitelino. O dobramento do corpo está em andamento em D e está concluído em E, estabelecendo o plano corporal na configuração de “um tubo dentro de outro tubo” (tubo intestinal endodérmico no interior e tubo cutâneo ectodérmico no exterior). Para simplificar, o âmnio e o saco vitelino não são mostrados em E. Em B, o ectoderma da linha média espessa-se para formar a placa neural, a qual se invagina para formar o tubo neural em C. Este último não é considerado um dos dois tubos do plano corporal “tubo dentro de outro tubo” por não ser formado pelas pregas corporais. Para detalhes adicionais, consulte os [Capítulos 2 a 4](#).

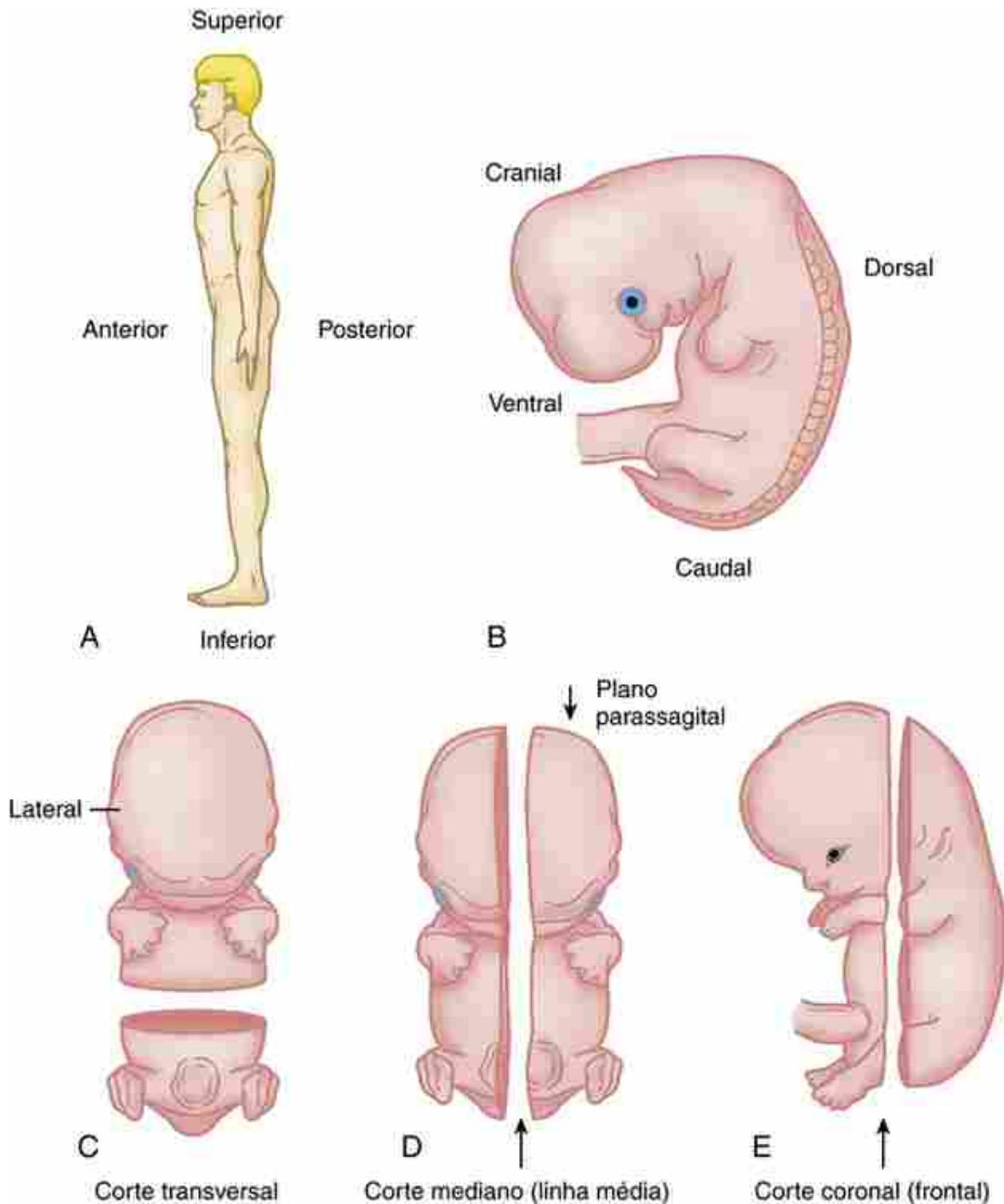


FIGURA INTRO-5 Eixos corporais e planos de corte no adulto e no embrião humanos. A, Vista lateral do adulto; B, Vista lateral do embrião humano de 5 semanas; C-D, Vistas ventrais do embrião humano de 6 semanas mostrando um plano de corte transversal (C) e sagital (D). E, Vista lateral do embrião humano de 6 semanas mostrando um plano de corte coronal (frontal).

A quinta fase da embriologia humana é a **formação do plano do corpo**. Alguns autores consideram essa fase como parte da gastrulação e outros a chamam de **morfogênese**. Ambos os pontos de vista fazem sentido: a gastrulação continua durante a formação do plano corporal, e a formação do plano corporal envolve a morfogênese, ou seja, a geração da forma. Entretanto, a formação do plano corporal também envolve o extenso dobramento do embrião (Fig. Intro-4). Durante a gastrulação, o embrião consiste em um disco plano de células com duas ou três camadas (dependendo do estágio exato do desenvolvimento) que fica posicionado na interface entre duas estruturas semelhantes a bolhas: o **âmnio** (e seu espaço fechado preenchido com líquido, a **cavidade amniótica**) e o **saco vitelino** (e seu espaço fechado preenchido com líquido, a **cavidade do saco vitelino**). Próximo ao perímetro do disco embrionário, onde o disco se une ao âmnio e ao saco vitelino, inicia-se o dobramento. Esse é um processo de visualização complexa; ele é estudado em detalhes no [Capítulo 4](#). O efeito desse dobramento, denominado **dobramento do corpo do embrião**, é separar o embrião das suas membranas extraembrionárias (ou seja, o âmnio e o

saco vitelino), exceto no nível do futuro cordão umbilical, e converter o disco embrionário plano em um corpo tridimensional, com uma configuração denominada **plano corporal do modelo “tubo dentro de outro tubo”** (Fig. Intro-4). O plano corporal “tubo dentro de outro tubo” consiste em um tubo externo (formado a partir do folheto germinativo ectodérmico) e em um tubo interno (formado a partir do folheto germinativo endodérmico), separados pelo mesoderma. Tubos adicionais (como o tubo neural, o primórdio do sistema nervoso central, mostrado na Fig. Intro-4) são formados pelo dobramento secundário de outras camadas do embrião (ou seja, esses tubos não são formados pela ação das dobras do corpo) e não são considerados como um dos dois tubos que contribuem para o plano corporal “tubo dentro de outro tubo”. Em essência, com a formação do “tubo dentro de outro tubo”, o embrião agora tem um formato corporal distinto, é protegido de seu respectivo ambiente externo pelo tubo externo (a pele primitiva) e contém um tubo interno (o intestino primitivo), separado por um suporte esquelético primitivo (o mesoderma). Com a formação do plano corporal “tubo dentro de outro tubo”, o embrião passa a ter um formato que se assemelha mais proximamente ao do adulto, enquanto os três eixos corporais tornam-se mais evidentes (Fig. Intro-5).

Após a formação dos três folhetos germinativos primários, ocorrem alterações regionais em cada um deles. Uma dessas alterações já foi mencionada, o dobramento de parte do ectoderma para formar o tubo neural. Tais alterações estabelecem os primórdios dos órgãos. Com a conclusão da formação do plano corporal e a formação dos primórdios de órgãos, falta ocorrer a última fase da embriologia humana, a fase da **organogênese**. Durante a organogênese, os primórdios dos órgãos sofrem crescimento e diferenciação para formar os órgãos e sistemas de órgãos. Com o crescimento e a diferenciação contínuos, esses órgãos e sistemas de órgãos começam a funcionar durante a vida intrauterina. Alguns órgãos que começam a funcionar no feto precisam se adaptar rapidamente para outra função no momento do nascimento. Por exemplo, quando o feto muda de um ambiente aquoso na vida intrauterina para a respiração do ar, o funcionamento dos pulmões (e do sistema cardiovascular) precisa ser rapidamente alterado. A maneira pela qual essa transição ocorre é estudada nos Capítulos 11 a 13.

Eixos corporais: Entendimento das coordenadas embrionárias

O entendimento da estrutura de um embrião ou feto pode ser difícil e confuso, uma vez que embriões e fetos são complexos objetos tridimensionais que mudam de forma ao se desenvolverem ao longo do tempo. Como uma metáfora, imagine o exame de uma parte ampliada de um mapa sem conhecer as coordenadas de norte, sul, leste e oeste. Sem essas coordenadas, qualquer pessoa poderia facilmente se perder ao ir de um ponto a outro. Embriões e fetos também têm coordenadas e, sem entendê-las, o estudo dos embriões e fetos pode ser desconcertante. Além disso, devido à nossa experiência de vida, muitas vezes podemos usar indícios ambientais para navegar de um lugar para outro durante uma viagem, mesmo se não tivermos uma bússola ou mapa disponível. Entretanto, para a maioria, o embrião ou o feto constitui um território não mapeado, e a falta de experiência de vida impede essa navegação. Como todos nós estamos acostumados com o formato do corpo humano adulto, é útil começar com as coordenadas do ser humano adulto em si antes de avançarmos para as do embrião e do feto (Fig. Intro-5).

Um ser humano adulto em posição ereta com os pés juntos e as palmas das mãos voltadas para a frente, segundo os anatomicistas, está em **posição anatômica** (Fig. Intro-5A). O eixo cabeça-pés representa o eixo **superoinferior**, estando a cabeça na parte **superior** e os pés na parte **inferior**. A partir da linha média do corpo (ou seja, uma linha imaginária desenhada através do centro do eixo superoinferior), em direção aos lados direito e esquerdo, situa-se o **eixo mediolateral**, sendo a linha média o nível mais **medial** (porém, observe que a exata linha média é denominada **plano mediano**), enquanto os lados direito e esquerdo são os níveis mais **laterais**. O eixo **esquerdo-direito** é parte do eixo mediolateral, definindo as diferenças (*i. e.*, assimetrias) entre os lados esquerdo e direito do corpo. Da parte frontal do corpo até a parte traseira segue o **eixo anteroposterior**, sendo a parte frontal a superfície **anterior** e a parte traseira, a superfície **posterior**. Finalmente, no adulto, são usados os termos *proximal* e *distal*. **Proximal** se refere a uma posição próxima ao centro do corpo, enquanto **distal** descreve uma posição distante do centro do corpo. Deste modo, é possível definir, por exemplo, o **eixo proximal-distal** do membro superior, estando o ombro localizado na extremidade **proximal** do membro superior e os dedos em sua extremidade **distal**.

O embrião e o feto humanos têm um conjunto de eixos semelhante, definido com base na **posição anatômica** do adulto (Fig. Intro-5B). O eixo cabeça-cauda do embrião é denominado **eixo craniocaudal**, sendo a cabeça a extremidade **cranial** e a cauda a extremidade **caudal**. Às vezes, esse eixo é denominado eixo **rostrocaudal**, sendo a cabeça a extremidade **rostral**. O eixo craniocaudal também pode ser denominado eixo anteroposterior, sendo a cabeça a extremidade anterior e a cauda a extremidade posterior. A expressão “eixo anteroposterior” frequentemente é usada na literatura de biologia do desenvolvimento com modelos animais (principalmente de quatro patas); porém, como o eixo anteroposterior representa um eixo completamente diferente no ser humano adulto (*i. e.*, o eixo da região frontal para a traseira), seu uso em embriões humanos é desencorajado. Consequentemente, o eixo anteroposterior não será usado neste livro para descrever o eixo de um *embrião*. O eixo que se estende da linha média para os lados esquerdo e direito no embrião é denominado **eixo mediolateral**, como no adulto. Entretanto, o eixo que se estende da parte

traseira para a dianteira é denominado **eixo dorsoventral** no embrião, sendo a parte traseira a parte **dorsal** e a parte dianteira a **ventral**. Ele também pode ser chamado de eixo anteroposterior, como no adulto, embora isso não seja incentivado, para evitar confusões, conforme já descrito. Finalmente, os embriões também possuem um eixo **proximal-distal**, que é definido da mesma maneira que no adulto.

Como embriões e fetos humanos são opacos e possuem estruturas internas complexas, além das estruturas externas, muitas vezes eles são estudados como conjuntos de cortes seriados (Fig. Intro-5C-E). Ao longo deste livro, muitos cortes serão descritos. Para entendê-los, é importante saber que os **cortes transversais** são executados perpendicularmente ao eixo craniocaudal do corpo (*i. e.*, no **plano transversal**), de modo que uma série de cortes transversais seriados seja feita através do corpo em sequência craniocaudal (ou caudocranial) (Fig. Intro-5C). **Cortes sagitais** são realizados em um plano paralelo ao eixo craniocaudal ou ao eixo **longitudinal** do corpo (*i. e.*, o **plano longitudinal**), e não no plano transversal. Esses cortes são orientados, em embriões ou fetos, de modo que um corte sagital na linha média (mediana) (muitas vezes denominado **corte mediossagital**) separe o corpo em metades direita e esquerda (Fig. Intro-5D). Cortes sagitais mais laterais (com frequência denominados **cortes parassagitais**) são realizados paralelamente a um corte mediossagital, porém são deslocados para a direita ou esquerda da linha média. Cortes sagitais seriados podem ser executados a partir do lado direito para a linha média (mediossagital), prosseguindo para o lado esquerdo (ou podem ser feitos na direção oposta). Menos frequentemente é usado um conjunto adicional de cortes: os cortes **coronais (ou frontais)** seriados. Assim como os cortes sagitais, os cortes coronais são realizados em um plano paralelo ao eixo craniocaudal ou longitudinal do corpo; porém, ao contrário dos cortes sagitais, os cortes coronais são orientados em 90 graus com relação aos cortes sagitais (Fig. Intro-5E). Em outras palavras, os cortes coronais seriados podem ser feitos a partir do lado frontal (ventral) do embrião para seu centro (mediocoronal) e em seguida prosseguir para o lado traseiro (dorsal), ou podem ser feitos na direção oposta. Consequentemente, um corte mediocoronal separa o corpo em metades ventral e dorsal.

Na Clínica

Medicina regenerativa e engenharia de tecidos

Um dos principais objetivos da medicina moderna é regenerar células, tecidos e órgãos funcionais que tenham sido perdidos por meio de lesão ou doença. As abordagens a essas metas são amplamente derivadas a partir de estudos embriológicos realizados em modelos animais e humanos, juntamente com avanços em bioengenharia e ciência de materiais. A medicina regenerativa e a engenharia de tecidos são basicamente termos sinônimos, mas a medicina regenerativa tipicamente depende do uso de células-tronco, abordadas com mais profundidade no [Capítulo 6](#).

A regeneração é uma área da embriologia envolvida na substituição de partes perdidas. Os animais invertebrados regeneram prontamente partes do corpo perdidas, do mesmo modo que alguns vertebrados, como peixes e anfíbios, mas, comparados a eles, os mamíferos são maus regeneradores. No entanto, os mamíferos de fato sofrem regeneração, oferecendo esperanças de que o sonho da medicina regenerativa possa se realizar, algum dia, nos seres humanos. Aqui, abordamos resumidamente dois exemplos surpreendentes de regeneração em mamíferos: a substituição de pontas de dedos em seres humanos subsequentemente à amputação e a regeneração do coração em camundongos.

A capacidade das pontas dos dedos, ou seja, as falanges distais às articulações interfalângicas, de se regenerarem em crianças foi descoberta acidentalmente. O tratamento típico na ocasião, para essas amputações, quando a extremidade não tivesse sido recuperada, era fechar a ferida com um retalho de pele, caso em que não ocorria regeneração. Uma criança na Inglaterra, no final da década de 1960, sofreu uma amputação da ponta do dedo por uma guilhotina. A ferida foi coberta com um curativo simples e a criança deveria ter sido encaminhada a um cirurgião plástico, mas, por engano, isso não ocorreu. Quando o erro foi descoberto vários dias depois, a ferida já estava apresentando uma boa cicatrização e nenhuma ação foi tomada. Por fim, ocorreu o crescimento completo da ponta do dedo. Desde então, centenas de crianças com amputações das pontas dos dedos foram tratadas simplesmente com um curativo estéril sem cirurgia, apresentando uma notável restauração das pontas dos dedos.

Para entender o mecanismo que fundamenta a regeneração das pontas dos dedos, são usados modelos de camundongos em que um artelho distal é cortado e deixado sem tratamento cirúrgico. Um típico blastema de regeneração de membro (uma massa de células aparentemente não diferenciadas que sofre uma rápida proliferação) é formado nesse modelo após a amputação. Subsequentemente, ocorre a regeneração, a qual, conforme demonstrado, necessita da sinalização de Bmp (uma via desse fator de crescimento, estudada adiante no [Cap. 5](#)), aparentemente agindo em conjunto com os fatores de transcrição msx1/2.

Acredita-se há muito tempo que o músculo cardíaco dos mamíferos seja incapaz de se regenerar, embora se saiba há muitos anos que corações funcionais podem se regenerar em peixes e anfíbios. Sabe-se atualmente que o músculo cardíaco do feto e do recém-nascido (na primeira semana pós-natal) é capaz de se regenerar. Tipicamente,

nos mamíferos, o músculo cardíaco danificado é substituído por tecido cicatricial formado por fibroblastos cardíacos (ou seja, ocorre fibrose), mas em corações de fetos e recém-nascidos os cardiomiócitos sofrem proliferação para formar tecido muscular de substituição. Isso oferece a esperança de que os cardiomiócitos nos seres humanos adultos possam, algum dia, ser reconduzidos ao seu estado perinatal por meio de um tratamento adequado subsequente a um infarto do miocárdio, consequentemente melhorando a recuperação funcional do paciente. Há pesquisas em andamento para identificar células capazes de regenerar a musculatura cardíaca; potenciais candidatas incluem células-tronco cardíacas residentes e outras células não cardíacas, como células originárias da medula óssea, células-tronco pluripotentes induzidas e células-tronco embrionárias (essas duas últimas populações de células são abordadas adiante no Cap. 5). Adicionalmente, foi sugerido que células fetais ou placentárias podem ter essa capacidade de regeneração. Para corroborar esse fato, corações de camundongos experimentalmente lesados foram colonizados por células fetais extracardíacas que, subsequentemente, se diferenciam em cardiomiócitos e em duas outras populações importantes para o coração: células endoteliais e células da musculatura lisa.

Deseja saber mais?

Este livro foi escrito para servir como um guia para seu estudo de embriologia humana, enfatizando importantes conceitos, princípios e fatos. As seções “No Laboratório” de cada capítulo enfatizam o processo de descoberta do conhecimento, e as seções “Na Clínica” destacam a aplicação clínica deste conhecimento. A seção “Caso Clínico” se destina a “estimular seu apetite”, apresentando-o a assuntos relevantes em cada capítulo e enfatizando o impacto das malformações do desenvolvimento nas pessoas envolvidas. A seção “Embriologia na Prática” encerra os capítulos fornecendo um cenário clínico que permite que você pense mais profundamente sobre algum assunto apresentado no capítulo e sobre situações que você encontrará na clínica no futuro.

Nas “Leituras Sugeridas”, ao final de cada capítulo, citamos principalmente os artigos de revisão essenciais publicados nos últimos 5 anos, em vez de apresentar uma lista da literatura básica. Isso foi feito, em parte, para evitar que o livro ficasse excessivamente grande e caro para os estudantes. No entanto, isso também foi feito para que o estudante tivesse um guia mais útil da literatura científica relevante atual. Recentemente, houve uma explosão de publicações médicas que lançaram revisões da biologia do desenvolvimento; a maioria das bibliotecas em todo o mundo assina essas publicações, proporcionando fácil acesso aos estudantes. Ao ler algumas revisões, é possível obter uma rápida atualização sobre um determinado assunto. Além disso, por meio do exame das referências mencionadas por essas revisões, é possível encontrar rapidamente a literatura básica mais relevante para um estudo mais detalhado.

Com o advento da Internet em todo o mundo, a maneira como encontramos as informações mudou rapidamente. Além de examinar as “Leituras Sugeridas” no texto, caso você deseje se envolver em um estudo adicional mais aprofundado, ou caso queira encontrar as publicações mais recentes sobre o assunto (em virtude do atraso na publicação, a literatura que consta em qualquer livro educativo está sempre pelo menos 1 ano atrasada), pesquisas *online* são a melhor abordagem. Temos cinco sugestões para conduzir essas pesquisas:

- Usando palavras-chave do texto (ou seja, as palavras indicadas em negrito e também listadas no índice), acesse o PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) e digite uma ou mais palavras-chave como termos de pesquisa. Isso identificará muitos artigos para você analisar.
- Usando o PubMed, pesquise pelos nomes dos autores dos artigos de revisão mostrados em “Leituras Sugeridas”. Como alternativa, use o Google Scholar (www.scholar.google.com); o Google Scholar classifica artigos com base no número de vezes em que um artigo escrito por um determinado autor é citado, o que constitui um indicador de sua importância no assunto em questão. Normalmente, os líderes em uma determinada área médica escrevem artigos de revisão; portanto, essa abordagem provavelmente revelará muitos outros artigos sobre o mesmo tópico. De maneira semelhante, você pode pesquisar pelos nomes dos autores que são citados nos artigos de revisão.
- Novamente, usando o PubMed, procure o índice de edições recentes das principais publicações médicas sobre o assunto pesquisando pelo título da publicação. Em biologia do desenvolvimento, essas publicações incluem (em ordem alfabética): *BioMed Central Developmental Biology; Development; Development, Genes and Evolution; Developmental Biology; Developmental Cell; Developmental Dynamics; Differentiation; Evolution and Development; Genes and Development; genesis; International Journal of Developmental Biology; e Mechanisms of Development* (além de publicações mais amplas, como *Bioessays, Cell, Current Biology, Nature, Nature Genetics, Neuron, PLoS Biology, PLoS One, PNAS* e *Science*). Muitas dessas publicações também editam artigos de revisão, particularmente úteis para começar seu estudo. Além disso, pesquise o índice das recentes publicações dos trabalhos revisados nesse campo; na biologia do desenvolvimento, estão incluídos *Annual Reviews of Cell and Developmental Biology, Current Opinion in Genetics and Development* e *Current Topics in Developmental Biology*. Outras publicações revisadas úteis incluem a série Trends (p. ex., *Trends in Genetics*) e a série Nature Reviews (*Nature Reviews Neuroscience*).
- Palavras-chave no Google (www.google.com) para encontrar outras informações. Por exemplo, ao se pesquisar FIV

(de fertilização *in vitro*) aparece uma listagem de diversos *sites* interessantes. No entanto, ao contrário das informações obtidas em publicações médicas, que são revisadas por pares na comunidade científica para validação, as informações obtidas através do Google podem ou não ser precisas. Portanto, é importante verificar esse tipo de informação confrontando-as com a literatura médica revisada por pares. Uma enciclopédia *on-line* monitorada é a Wikipédia (<http://www.wikipedia.org>); ela pode ser uma fonte rápida e detalhada sobre qualquer tópico específico de interesse geral.

- Procurar outros *websites* e bancos de dados úteis. Por exemplo, para pesquisar causas genéticas de malformações congênitas em seres humanos, acesse Online Mendelian Inheritance in Man (Herança Mendeliana no Homem *On-line*) (OMIM; www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=OMIM); para procurar distúrbios cromossômicos submicroscópicos causadores de doenças em seres humanos, acesse Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources (Banco de Dados de Distúrbios Cromossômicos e Fenótipos em Seres Humanos usando Recursos Ensembl) (DECIPHER; <http://decipher.sanger.ac.uk/about>); para examinar um extenso banco de dados de imagens de eletromicrografias de embriões de camundongos, visite as imagens *on-line* de embriões de Kathy Sulik (www.med.unc.edu/embryo_images); e a pesquisa de tópicos, como “embrião” ou “embriologia”, localizará muitos *websites* úteis para estudos adicionais.

Embriologia na Prática

Uma via, dois problemas

Uma menina de 2 anos que está apresentando “fadiga e uma erupção cutânea” é examinada pelo médico da família. Ela é bem conhecida pelo médico porque, em consultas anteriores, tinha apresentado um quadro de estenose da valva pulmonar e de questões relacionadas a baixo crescimento, o que levou a um diagnóstico presuntivo de síndrome de Noonan. O exame atual causa preocupação, pois revela letargia, palidez e um exantema maculopapular vermelho-arroxeados no tronco. Ela também apresenta aumento de linfonodos (linfadenopatia) e hepatoesplenomegalia (aumento do baço e do fígado). O médico expressa sua preocupação de que a menina tenha uma grave doença, “talvez um câncer sanguíneo”, e toma providências para que ela seja internada.

Na internação, um hemograma completo acusa anemia (baixa contagem de eritrócitos), trombocitopenia (baixa quantidade de plaquetas) e leucocitose (alta contagem de leucócitos). O relatório de hematopatologia registra um diagnóstico de leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ). O oncologista discute esse diagnóstico com a família e os tratamentos que serão prescritos, que incluirão esplenectomia, quimioterapia, radiação e transplante de células-tronco hematopoiéticas (transplante de medula óssea). Apesar do tratamento intensivo, a LMMJ tem uma elevada taxa de recidiva depois do transplante e um prognóstico desfavorável, com sobrevida de 5 anos de aproximadamente 50%.

A LMMJ é uma rara malignidade, responsável por 1% a 2% das leucemias da infância. A causa deste câncer está vinculada à ativação inadequada da via de RAS-MAP-quinase (Fig. Intro-6). Mutações nessa via também são responsáveis por um grupo de síndromes genéticas, incluindo a neurofibromatose do tipo 1 (NF1) e as síndromes de Noonan, cardiofasciocutânea (CFC), LEOPARD, e de Costello. Embora essas sejam síndromes distintas, o elevado grau de superposição entre elas e o fato de a maioria poder ser causada por mutações em um contexto de superposição de genes na via acarretou um agrupamento conceitual dessas doenças, alternativamente denominados “RASopatias” ou “doenças relacionadas à síndrome de Noonan”, entre outras denominações. A síndrome de Noonan é causada por mutações em pelo menos cinco genes diferentes na via de RAS-MAP-quinase.

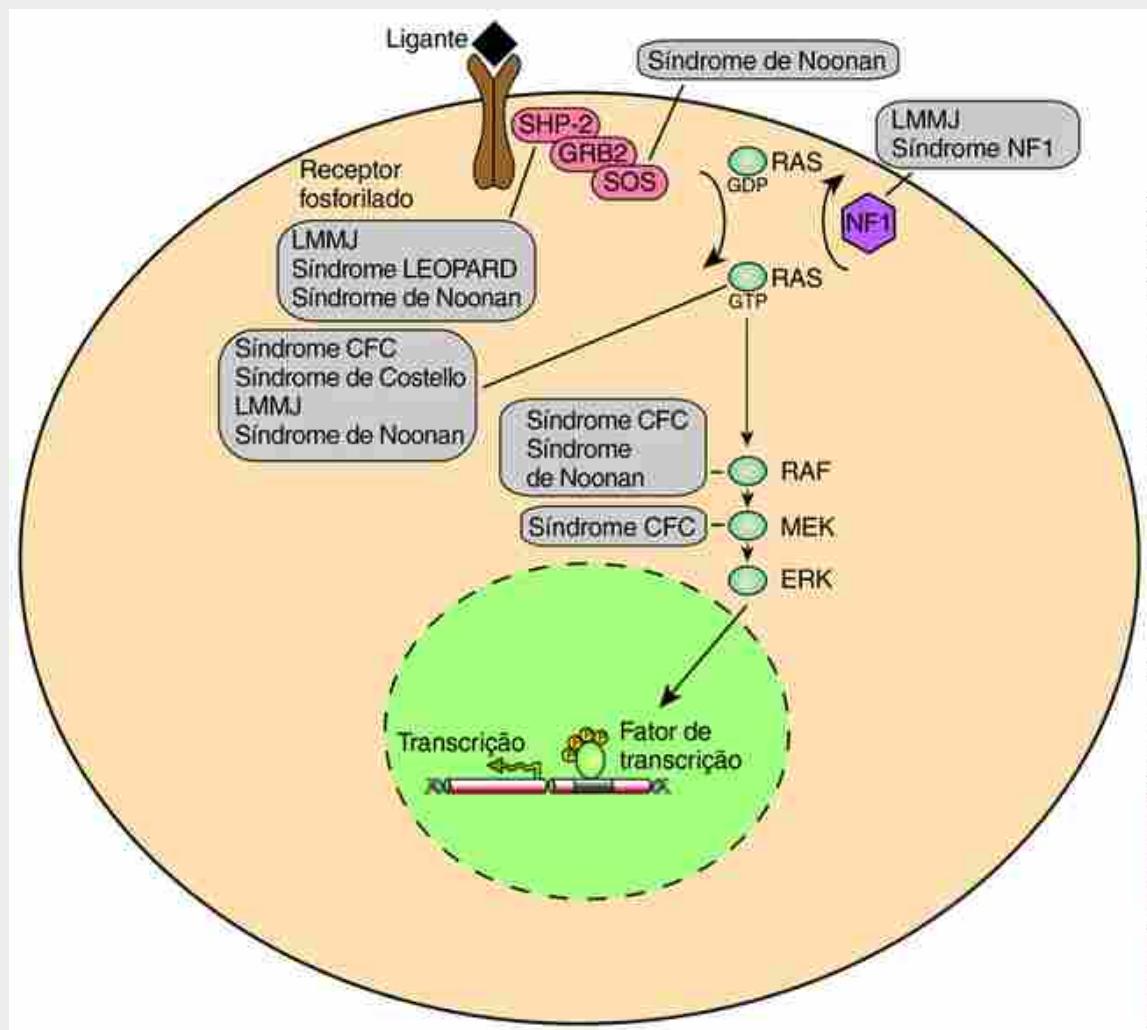


FIGURA INTRO-6 Esquema mostrando a via de RAS-MAP-quinase e mutações que resultam em doenças em seres humanos. Consulte o texto quanto às abreviaturas dos nomes das doenças.

Mutações nessa via também conferem um risco elevado de LMMJ, e pacientes com NF1 e síndrome de Noonan constituem um percentual significativo dos pacientes com LMMJ. O RAS é um proto-oncogene, ou seja, um gene que regula o crescimento e a proliferação celular que pode se tornar um oncogene (gene causador de câncer) se sofrer mutação ou se for expresso inadequadamente. Outros exemplos de proto-oncogenes incluem MYC (vinculado ao linfoma de Burkitt), ERRB2 (HER2, vinculado ao câncer de mama) e CTNNB1 (β -CATENIN, vinculado ao câncer de pâncreas). O entendimento crescente das vias genéticas que fundamentam a LMMJ fornece alguma esperança para o futuro na forma de terapias mais direcionadas.

Leituras sugeridas

- Brakenhoff, R. Another NOTCH for cancer. *Science*. 2011; 333:1102–1103.
- Burtner, C., Kennedy, B. Progeria syndromes and ageing: what is the connection? *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010; 8:567–578.
- Fontana, L., Partridge, L., Longo, V. Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*. 2010; 328:321–326.
- Jopling, C., Boue, S., Izpisua Belmonte, J. Dedifferentiation, transdifferentiation and reprogramming: three routes to regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011; 12:79–89.
- Kelly, D. Ageing theories unified. *Nature*. 2011; 470:342–343.
- Martin, G. The biology of aging: 1985–2010 and beyond. *FASEB J*. 2011; 25:3756–3762.
- Muneoka, K., Allan, C., Yang, X. Mammalian regeneration and regenerative medicine. *Birth Defects Res Pt C*. 2008; 84:265–280.
- Polakis, P. The many ways of Wnt in cancer. *Curr Opin Gen Dev*. 2007; 17:45–51.
- Rubin, L., de Sauvage, F. Targeting the hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Discov*. 2006; 5:1026–1030.
- Stipp, D. A new path to longevity. *Sci Am*. 2012; 306:6–18.

CAPÍTULO 1

Gametogênese, Fertilização e Primeira Semana

Resumo

Um livro-texto de embriologia humana poderia começar por qualquer um dos diversos pontos do ciclo de vida humano. Este livro-texto começa com a discussão sobre a origem das células especializadas denominadas **células germinativas primordiais (PGCs)**. As PGCs podem ser primeiramente identificadas dentro da parede do **saco vitelínico**, uma das membranas extraembrionárias, da 4^a à 6^a semana de gestação. Essas PGCs darão origem à **linhagem germinativa**, um conjunto de células que formam as células sexuais, ou **gametas** (*i. e.*, o **ovócito** e o **espermatozoide**). Contudo, esses gametas não serão funcionais para formar a próxima geração por várias décadas (*i. e.*, até o início da **puberdade**). Todavia, notavelmente, um dos primeiros eventos que acontecem no embrião em desenvolvimento é a separação da linhagem germinativa para a promoção da próxima geração. De modo semelhante, as linhagens germinativas que deram origem ao embrião em desenvolvimento foram estabelecidas uma geração antes, quando os embriões do pai e da mãe estavam se desenvolvendo no útero (*i. e.*, quando as avós paterna e materna estavam grávidas com os embriões do pai e da mãe).

Da parede do saco vitelínico, as PGCs migram ativamente da 6^a à 12^a semana de gestação para a parede dorsal do corpo do embrião, onde povoam as gônadas em desenvolvimento e se diferenciam nas células precursoras dos gametas, denominadas **espermatogônia** no macho e **ovogônia** na fêmea. Assim como as células somáticas normais do corpo, a espermatogônia e a ovogônia são **diploides**, ou seja, cada uma contém 23 pares de cromossomas (para um total de 46 cromossomas cada). Quando essas células produzem **gametas** pelo processo de **gametogênese** (denominado **espermatogênese** no macho e **ovogênese** na fêmea), sofrem **meiose**, uma sequência de duas divisões celulares especializadas pelas quais o número de cromossomas nos gametas é reduzido à metade. Os gametas contêm, então, 23 cromossomas (um de cada par) e são, portanto, **haploides**. Os gametas em desenvolvimento também sofrem diferenciação citoplasmática, resultando na produção de **espermatozoides** maduros no macho e **ovócitos definitivos** na fêmea.

No macho, a espermatogênese acontece nos túbulos seminíferos dos testículos e não ocorre até a **puberdade**. Contrariamente, na fêmea a ovogênese é iniciada durante a vida fetal. Especificamente, entre o 3º e o 5º mês de vida fetal, a ovogônia inicia a primeira divisão meiótica, tornando-se, assim, um ovócito primário. No entanto, os ovócitos primários entram rapidamente em um estado de interrupção meiótica que persiste até depois da puberdade. Após a puberdade, alguns poucos ovócitos e seus folículos envoltórios terminam seu desenvolvimento a cada mês, em resposta à produção de hormônios gonadotróficos da hipófise. Geralmente, apenas um desses folículos amadurece completamente e passa pela **ovulação** para liberar o ovócito aprisionado, e o ovócito completa a meiose somente se for fertilizado por um espermatozoide. A **fertilização**, a união do ovócito e do espermatozoide, se dá na tuba uterina. Após o ovócito terminar a meiose, os cromossomas maternos e paternos se misturam, resultando na formação de um **zigoto** contendo cromossomas maternais e paternais alinhados na placa metafásica. Considera-se que o desenvolvimento embrionário começa nesse ponto.

O embrião recém-formado sofre uma série de divisões celulares, denominada **clivagem**, ao longo de seu deslocamento pela tuba uterina em direção ao útero. A clivagem subdivide o zigoto primeiro em duas células, então em quatro, depois em oito e assim por diante. Essas células filhas não crescem entre as divisões, logo, o embrião como um todo permanece no mesmo tamanho. Começando no estágio de 8 a 16 células, o embrião em clivagem, ou **mórula**, diferencia-se em dois grupos de células: uma camada celular periférica externa e uma **massa celular interna** central. A camada celular externa, denominada **trofoblasto**, forma o componente fetal da placenta e das membranas extraembrionárias associadas, enquanto a massa celular interna, também denominada **embrioblasto**, origina o embrião propriamente dito e as membranas extraembrionárias associadas. No estágio de 30 células, o embrião começa a formar uma cavidade central cheia de líquido, a **cavidade blastocística**. Por volta do 5º ao 6º dia de desenvolvimento, o embrião é uma esfera oca formada por cerca de 100 células, denominada **blastocisto**. Neste ponto, ele entra na

cavidade uterina e começa a se implantar no endométrio que reveste a parede uterina.

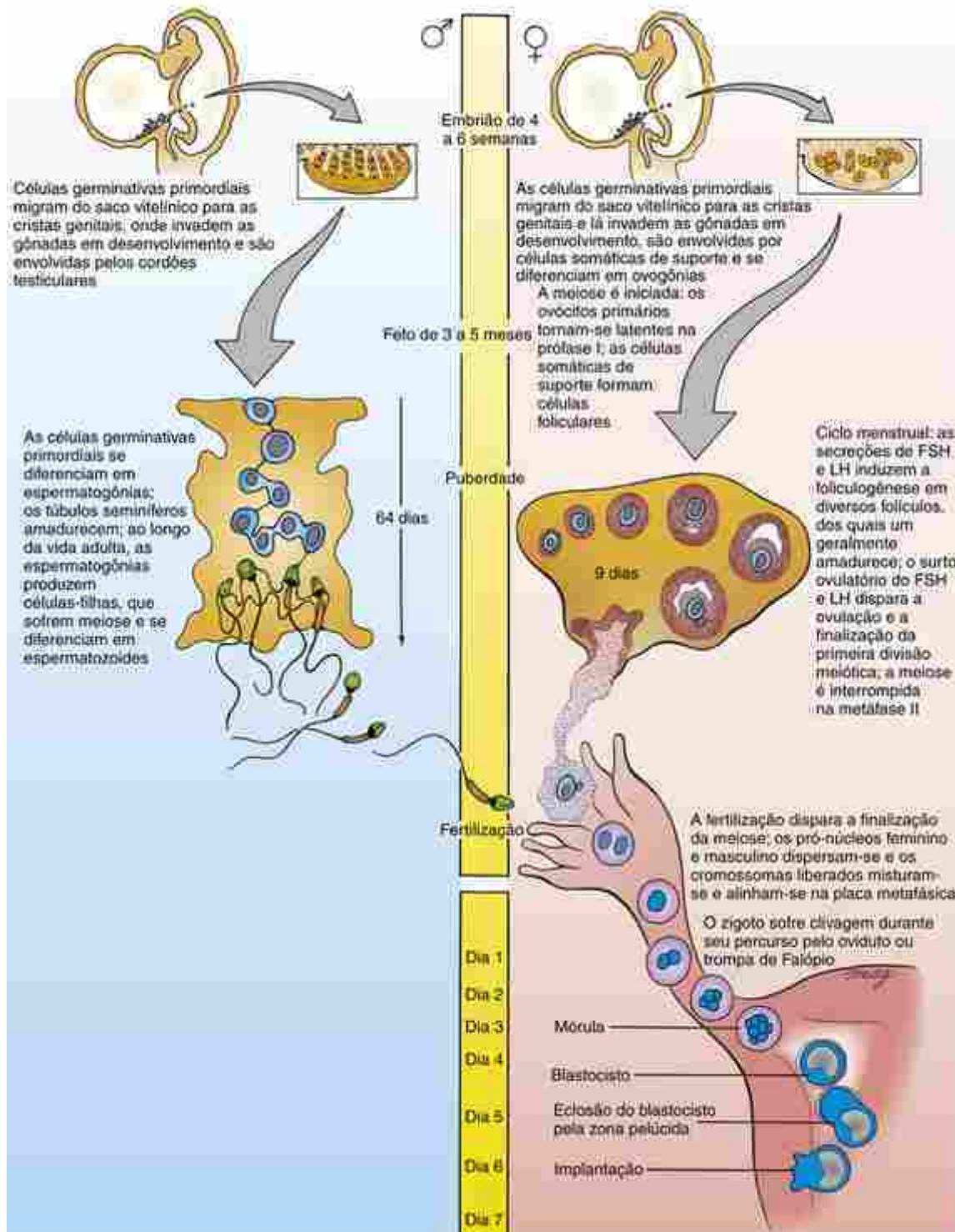
Caso Clínico

Um casal, ambos na faixa dos 30, está tendo dificuldade em conceber uma criança. No início do seu casamento, há cerca de 10 anos, eles usavam pílulas anticoncepcionais e preservativos, mas pararam de usar todas as formas de controle de natalidade há mais de 2 anos. A despeito disso e tendo relações 3 a 4 vezes por semana, não ocorreu gravidez. Pelos exames físicos de rotina, tanto o homem quanto a mulher parecem ter saúde excelente. A mulher é uma corredora ávida e compete ocasionalmente em maratonas, e tem tido períodos regulares desde sua menarca aos 13 anos. O homem teve varicocele, que foi corrigida quando ele tinha 19; o urologista que realizou a cirurgia assegurou que sua fertilidade não sofreria efeitos adversos subsequentes.

Como não foi observada nenhuma causa óbvia para seu problema de fertilidade, o casal foi encaminhado a uma clínica de fertilidade local para tratamento especializado. Na clínica, foi analisado o sêmen do homem. Essa análise revelou que sua contagem espermatogênica (60 milhões de espermatozoides por ejaculado), mobilidade espermatogênica (motilidade vigorosa e progressão para a frente [*i. e.*, movimento de natação reto]), morfologia espermatogênica (70% com a cabeça oval e uma cauda 7 a 15 vezes mais longa do que a cabeça) e o volume do sêmen (3,5 mL com nível normal de frutose) estão dentro dos níveis normais. A viscosidade do sêmen e a aglutinação espermatogênica também estão normais. Como um próximo passo, um teste pós-coito é planejado. Usando a história menstrual recente da mulher para estimar o tempo de seu ciclo médio, e as medidas da temperatura corporal basal diária e os testes de LH (hormônio luteinizante) na urina para prever a ovulação, a relação é programada para o entardecer do dia no qual se espera que a ovulação ocorra. Na manhã seguinte, a mulher passa por um exame cervical. Nota-se que o muco cervical contém espermatozoides amontoados e imóveis, sugerindo uma incompatibilidade entre o muco cervical e os espermatozoides.

Com base nos resultados do teste pós-coito, o casal decide passar por uma **inseminação artificial**. Após cinco tentativas nas quais os espermatozoides do homem são coletados, lavados e injetados dentro do útero através de um cateter estéril passado pelo colo uterino, ainda não havia ocorrido a gravidez. O casal está desencorajado e decide aguardar para considerar suas opções.

Após considerar adoção, barriga de aluguel e permanecer sem filhos, o casal retorna 3 meses depois e solicita uma **FIV (fertilização *in vitro*)**. Na segunda de duas tentativas, o casal fica encantado ao saber que havia gravidez. Poucas semanas depois, um exame de ultrassom com Doppler detecta dois batimentos cardíacos fetais. Isso é confirmado 2 meses mais tarde por ultrassonografia. No início do nono mês de gestação nasceram dois bebês saudáveis, uma menina de 2,78 kg e um menino de 2,67 kg.



Linha do Tempo.
Gametogênese e primeira semana do desenvolvimento.

Células germinativas primordiais

As células germinativas primordiais residem no saco vitelínico

As células que originam os **gametas**, tanto em machos quanto em fêmeas, podem ser identificadas durante a quarta semana de gestação, dentro de uma membrana extraembrionária denominada **saco vitelínico** (Fig. 1-1A). Com base em estudos com modelos animais, acredita-se que essas células surjam no início da gestação, durante a fase de gastrulação (discutida no Cap. 3). Essas células são denominadas **células germinativas primordiais** (PGCs) e a sua linhagem constitui a **linhagem germinativa**. As PGCs podem ser reconhecidas dentro do saco vitelínico e durante sua

subsequente migração (ver próximo parágrafo), devido a seu citoplasma pálido e à sua forma arredondada (Fig. 1-1B,C). Também podem ser marcadas especificamente com diversos marcadores moleculares.

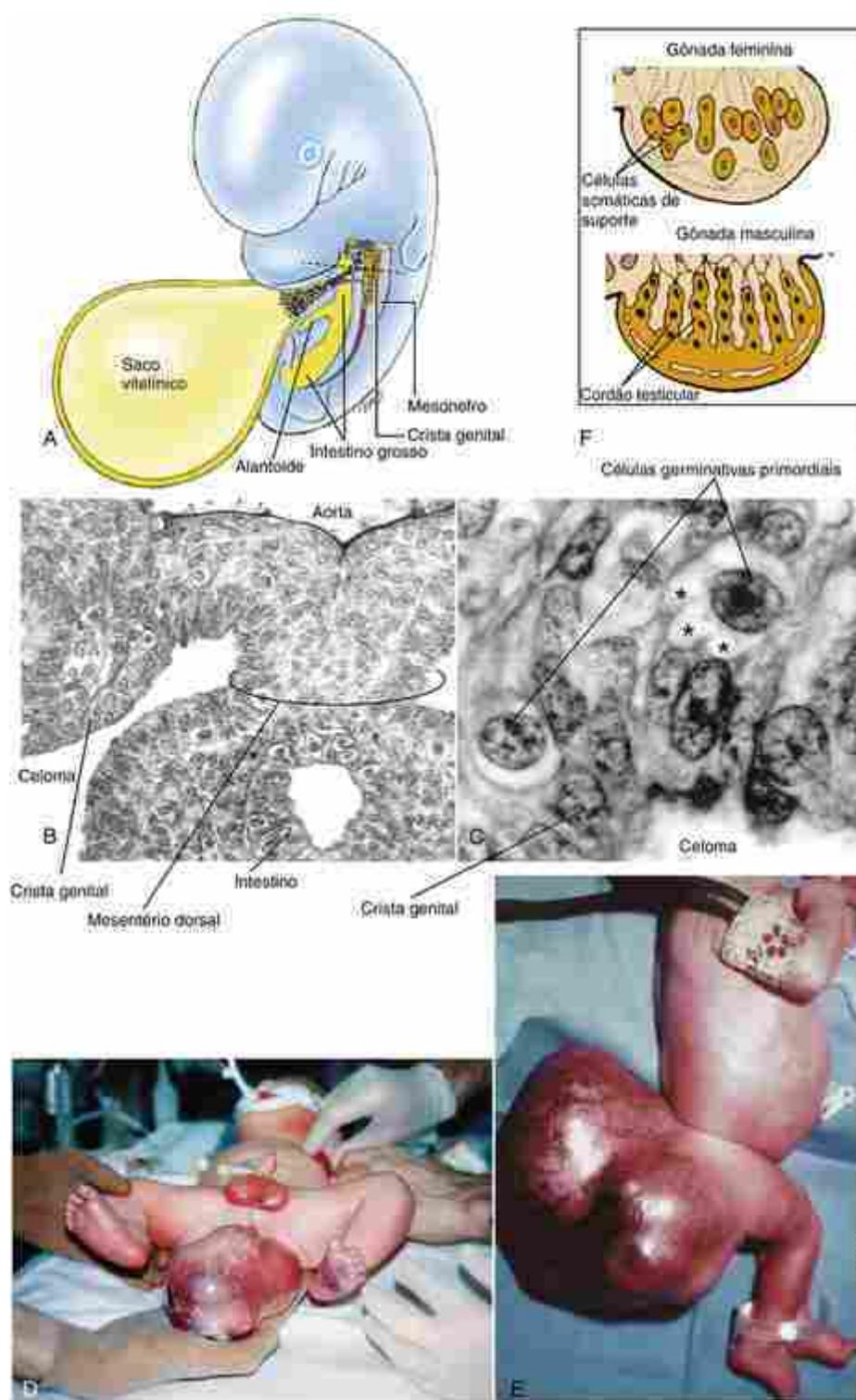


FIGURA 1-1 Origem das células germinativas primordiais no saco vitelínico, sua migração durante o desenvolvimento normal e a formação de teratomas. *A*, As células germinativas primordiais (PGCs) localizam-se na camada endodérmica da porção caudal do saco vitelínico, entre a 4^a e a 6^a semana do desenvolvimento. *B, C*, As PGCs, então, migram para a parede dorsal do corpo. O asterisco indica três pseudopodias na migração de uma PGC. *D, E*, Crianças com grandes teratomas sacrococcígeos. *F*, Entre a 6^a e a 12^a semana, as PGCs estimulam a formação das cristas genitais na parede dorsal do corpo. As células somáticas de suporte diferenciam-se e revestem as PGCs. Nas mulheres, as células somáticas de suporte tornam-se as células foliculares ovarianas; nos homens, as células somáticas de suporte se organizam em cordões testiculares e, finalmente, tornam-se as células de Sertoli dos túbulos seminíferos.

As células germinativas primordiais migram para a parede dorsal do corpo

Entre a 4^a e a 6^a semana, as PGCs migram por movimento ameboide do saco vitelínico para a parede do tubo digestivo. Do tubo digestivo, migram pelo mesentério do intestino até a parede dorsal do corpo (Fig. 1-1A,B). Na parede dorsal do corpo, essas células se estabelecem em ambos os lados da linha média no tecido mesenquimal fróxio logo abaixo da membrana (epitelial) que reveste a cavidade celômica. A maioria das PGCs povoa a região da parede do corpo no local que formará as gônadas (discutido no Cap. 16). As PGCs continuam a se multiplicar por mitose durante sua migração. Algumas PGCs podem ficar encalhadas durante a migração, fixando-se em sítios extragonadais. Ocionalmente, esse tipo de célula germinativa extraviada pode originar um tipo de tumor denominado **teratoma** (Fig. 1-1D,E).

Na Clínica

Formação de teratoma

Os **teratomas**, tumores compostos por tecidos derivados das três camadas germinativas, podem ser extragonadais ou gonadais e são derivados das PGCs. Teratomas sacrococcígeos, os tumores mais comuns em recém-nascidos, ocorrem em 1 de cada 20.000 a 70.000 nascimentos (Fig. 1-1D,E). Eles ocorrem quatro vezes mais frequentemente nas fêmeas recém-nascidas do que nos machos recém-nascidos, e representam cerca de 3% de todas as malignidades da infância. Os tumores gonadais são geralmente diagnosticados após o início da puberdade. Tanto teratomas ovarianos quanto testiculares podem se formar. A **pluripotência** (capacidade de formar vários tipos celulares, não deve ser confundida com **totipotência**, a capacidade de formar *todos* os tipos celulares) dos teratomas é caracterizada por sua capacidade de originar uma variedade de estruturas anatômicas definitivas, incluindo pelo, dente, glândula pituitária e mesmo um olho completamente formado.

As células germinativas primordiais estimulam a formação das gônadas

A diferenciação das gônadas é descrita detalhadamente no Capítulo 16. Quando as PGCs chegam à região que origina a gôndada, elas estimulam células do epitélio celômico adjacente a proliferar e a formar as **células somáticas de suporte** (Fig. 1-1F; Figs. 16-1D e 16-5). A proliferação das células somáticas de suporte cria uma protuberância medial a cada mesonefro (rim embrionário) dos lados direito e esquerdo do mesentério intestinal. Essas protuberâncias, as **cristas genitais**, representam as gônadas primitivas. As células somáticas de suporte envolvem as PGCs e originam tecidos que vão nutrir e regular o desenvolvimento das células sexuais maduras – **folículos ovarianos** na fêmea e **células de Sertoli do epitélio germinativo (epitélio seminífero)** dos **túbulos seminíferos** no macho. As células somáticas de suporte são essenciais para o desenvolvimento das células germinativas na gôndada. Se as células germinativas não forem envolvidas pelas células somáticas de suporte, elas degeneram. Contrariamente, se as PGCs falharem em chegar à região que dará origem à gôndada, o desenvolvimento gonadal será interrompido. As células somáticas de suporte no macho rapidamente agregam-se em cordões epiteliais denominados **cordões testiculares**.

No Laboratório de Pesquisa

Origem das PGCs

Embora o tempo e o local exatos da origem das PGCs em humanos sejam desconhecidos, testes de rastreamento celular e outros experimentos em camundongos demonstram que as PGCs originam-se do epiblasto (uma das camadas dos estágios bilaminar e trilaminar do blastoderma; discutido nos Caps. 2 e 3). Durante a gastrulação, essas células se movem pela parte caudal da linha primitiva para a área extraembrionária. De lá, migram para a parede do intestino e, através do mesentério do intestino, até as cristas gonadais, assim como nos humanos.

A migração das PGCs para o desenvolvimento das gônadas envolve processos compartilhados pela migração das células da crista neural (Cap. 4), processos neuronais (Caps. 9 e 10) e desenvolvimento dos vasos sanguíneos e linfáticos (Cap. 13). Esses processos incluem programas de motilidade intrínsecos, envolvendo dinâmica do citoesqueleto (notar os pseudópodos em uma das PGCs mostradas na Fig. 1-1C), substratos adesivos (como tenascina C, integrina β2 e laminina, todas parecem ser necessárias para a migração da PGC), e sinais extracelulares atrativos e repulsivos. Como discutido no Capítulo 10, **quimiocinas** (um tipo de **citocina**) e seus receptores direcionam a migração das células precursoras simpáticas. Similarmente, quimiocinas desempenham funções importantes na migração da PGC, atuando como **sinais quimiotróficos** (*i. e.*, sinais atrativos produzidos pelas gônadas em desenvolvimento) para regular o estabelecimento da PGC. Tais quimiocinas incluem o ligante Sdf1 (fator 1 derivado do estroma, também conhecido como Cxcl12) e seu receptor Cxcr4. A migração da PGC em

direção à gônada é interrompida no embrião do camundongo ou no embrião do peixe zebra que não tenham o ligante ou seu receptor. Adicionalmente, o Sdf1 atua como um fator de sobrevivência da PGC. Além disso, os fatores envolvidos na migração dos melanócitos (discutido no Cap. 4) também estão envolvidos na migração da PGC. Esses fatores incluem o fator STEEL (também conhecido como fator de célula-tronco), o ligante c-Kit e o seu receptor c-Kit.

Regulação molecular do desenvolvimento da PGC

O desenvolvimento da linhagem germinativa envolve a ativação sequencial de genes que controlam a indução inicial, a proliferação, a sobrevivência, a migração e a diferenciação das PGCs. Modelos animais têm sido muito úteis para entender esses eventos e têm sido usados para mostrar que as funções de muitos genes que controlam o desenvolvimento da PGC são conservadas em diversos organismos. Contudo, mecanismos que promovem os eventos iniciais da formação da PGC em mamíferos parecem ser bem diferentes daqueles dos organismos mais simples.

Em alguns organismos modelo, como a mosca da fruta, verme e sapo, genes maternos (**genes de efeito maternal**) (discutido no Cap. 5) são necessários para iniciar a formação das células germinativas. A ativação desses genes maternos regula a segregação do **plasma germinativo** (citoplasma contendo determinantes da linhagem germinativa) para uma região específica do zigoto, para que ele seja incorporado durante a clivagem em um único grupo de células que formarão os precursores das células germinativas.

É dessa forma que a proteína *vasa* da *Drosophila* é segregada para as células germinativas. Transcriptos *vasa* são expressos ubliquamente no citoplasma do ovócito, mas a proteína *vasa* torna-se especificamente localizada no plasma germinativo. *Vasa* é uma proteína ligante de RNA da família DEAD BOX e seu provável papel é ligar-se aos RNAs mensageiros envolvidos na determinação da linhagem germinativa, tais como OSKAR e NANOS, e, assim, controlar o início de sua transcrição. Existem ortólogos de *vasa*, mas em alguns vertebrados a proteína *vasa* é expressa nos precursores de células germinativas enquanto estão se formando (contudo, em camundongos, a *vasa* é expressa nas células germinativas somente mais tarde, após elas terem se diferenciado e estarem prestes a colonizar as gônadas).

Ao contrário do que ocorre nos organismos inferiores, nos quais as células germinativas são geralmente especificadas pela herança de produtos do gene materno, em camundongos e, provavelmente, também em humanos, a linhagem germinativa é induzida. Todas as células da mórlula de mamíferos são aparentemente capazes de formar células germinativas pluripotentes, mas sua capacidade de fazer isso torna-se rapidamente restrita, primeiro à massa celular interna e, então, ao epiblasto. Portanto, em mamíferos, a **iniciação do desenvolvimento da linhagem germinativa** requer a ativação de genes que mantêm a pluripotência em precursores que irão formar a linhagem germinativa. Um desses genes codifica um fator de transcrição com domínio POU (*Oct4*, também denominado *Pou5f1*; fatores de transcrição são discutidos no Cap. 5). No início, atua em todas as células da mórlula, mas depois somente na massa celular interna. Ela fica, então, restrita ao epiblasto e, finalmente, é expressa somente nas futuras células germinativas.

A **continuação do desenvolvimento da linhagem germinativa** requer um sinal indutor do trofoblasto (a indução é discutida no Cap. 5). Tal sinal é proporcionado pelas proteínas morfogenéticas do osso (*Bmps*). Em embriões de camundongos quiméricos (quiimeras de camundongos são discutidas no Cap. 5) nos quais faltam *Bmp4* apenas no trofoblasto, não se formam PGCs nem o alantoide (uma membrana extraembrionária). O *Bmp4* induz a expressão de dois genes específicos da linhagem germinativa em camundongos: *fragilis* e *stella*; contudo, seus exatos papéis no desenvolvimento das PGCs são desconhecidos, já que a perda de função (nocaute) de qualquer desses genes não afeta a especificação da PGC.

Contrariamente, foram identificados dois outros genes que estão faltando em mutantes na sinalização pelo *Bmp*, e quando eles perdem a função o resultado é a perda das PGCs. Um deles é a proteína 1 indutora da maturação do linfócito B, *Blimp 1*, um regulador importante (*master*) da diferenciação das células B em células plasmáticas durante o desenvolvimento do sistema imunológico. O outro, *Prdm14*, tem seu papel menos definido. Ambos os genes são essenciais para a diferenciação da PGC.

A **proliferação e a sobrevivência** das PGCs são asseguradas pela expressão de **fatores tróficos** (fatores que promovem o crescimento e a sobrevivência celular) no interior das PGCs ou no interior de células associadas. Um fator trófico expresso pelas PGCs e requerido para sua sobrevivência e proliferação inicial é a proteína de ligação ao RNA *tier*. Outro é o ortólogo de camundongo do gene *nanos* da *Drosophila* (*nanos 3*). Muitos outros fatores tróficos parecem ser requeridos para a sobrevivência e a proliferação das PGCs ao longo do seu caminho migratório do saco vitelínico para o intestino e daí para a parede dorsal do corpo, através do mesentério dorsal. São diversos fatores expressos pelos tecidos ao longo do caminho, incluindo o ligante c-kit (fator de célula-tronco ou fator *steel*) e membros da família de citocinas interleucina/Lif (uma citocina é uma proteína reguladora liberada pelas células do sistema imunológico que atua como um mediador intercelular na geração de uma resposta imunológica). Estudos

de mutantes *c-kit* e *steel* revelaram que essa via de sinalização suprime a **apoptose das PGCs** (morte celular) durante a migração. Esses achados fornecem uma explicação sobre por que as PGCs geralmente degeneram quando se extraviam de seu caminho normal de migração e acabam se fixando em sítios extragonodais (mas nem sempre; ver a discussão anterior sobre teratomas extragonodais).

Uma vez que as PGCs chegam à futura gônada, numerosos genes devem ser expressos para **regular a diferenciação final das células da linhagem germinativa**. Três novos genes específicos de células germinativas são expressos logo após as PGCs entrarem nas cristas genitais (depois disso passam a ser denominados **gonócitos**): o homólogo *vasa* murino (mVh; o gene *vasa* foi discutido anteriormente), o antígeno nuclear da célula germinativa 1 (Gcna1) e o gene *germ cell-less* (Gcl1). O último é expresso na linhagem germinativa da *Drosophila* logo após seu estabelecimento. Este gene foi assim nomeado após sua inativação ter causado a perda da linhagem germinativa.

Gametogênese

Os momentos da gametogênese masculina e feminina são diferentes

Tanto em machos quanto em fêmeas, as PGCs sofrem divisões mitóticas adicionais no interior das gônadas, e então inicia-se a **gametogênese**, o processo que as converte em gametas masculinos e femininos maduros (**espermatozoide** e **ovócitos definitivos**, respectivamente). Contudo, os momentos desse processo diferem nos dois sexos (ver Linha do Tempo para este capítulo). Nos machos, as PGCs (geralmente denominadas **gonócitos**) permanecem latentes da sexta semana de desenvolvimento embrionário até a puberdade. Na **puberdade**, os **túbulos seminíferos** amadurecem e as PGCs diferenciam-se em **espermatozônias**. Quantidades sucessivas de espermatozônias sofrem **meiose** (o processo pelo qual o número de cromossomos nas células sexuais é reduzido à metade; ver a seção seguinte) e amadurecem formando espermatozoides. Os espermatozoides são produzidos continuamente da puberdade até a morte.

Contrariamente, nas fêmeas, as PGCs (também denominadas agora como **gonócitos**) sofrem algumas divisões mitóticas adicionais após serem envolvidas pelas células somáticas de suporte. Essas, então, diferenciam-se em **ovogônias**. Por volta do quinto mês do desenvolvimento fetal, todas as ovogônias entram em meiose, e, depois disso, elas são denominadas **ovócitos primários**. Contudo, durante a fase inicial da meiose, todas as células sexuais entram em estado de latência e permanecem nessa parada meiótica até a maturidade sexual. Começando na puberdade, a cada mês alguns folículos ovarianos terminam seu desenvolvimento em resposta ao aumento repentino mensal dos hormônios gonadotróficos da pituitária, mas em geral somente um ovócito primário amadurece para **ovócito secundário** e é ovulado. Esse ovócito entra na segunda fase da meiose mas não a completa, a menos que seja fertilizado. Esses ciclos mensais continuam até o início da menopausa, aproximadamente aos 50 anos de idade. Os processos de gametogênese masculina e feminina (denominadas **espermatozônia** e **ovogênese**, respectivamente) são discutidos em detalhes posteriormente neste capítulo.

No Laboratório de Pesquisa

Por que os momentos da gametogênese masculina e feminina são diferentes?

Experimentos em embriões de camundongos fornecem informações sobre por que os momentos da gametogênese masculina e feminina diferem. Logo após entrarem na crista genital, as PGCs param sua migração, sofrem duas ou três rodadas de mitoses adicionais e, então, entram em um estágio pré-meiótico, durante o qual regulam os genes meióticos. Na crista genital masculina, as células germinativas revertem esse processo e param, mas na crista genital feminina elas entram na prófase meiótica como ovócitos primários e progridem pela meiose até o estágio diplóteno, momento no qual elas param. Se as PGCs masculinas (XY) forem transplantadas para embriões femininos (XX), as PGCs masculinas seguirão o curso descrito para as PGCs femininas normais nas fêmeas. Além disso, as PGCs em embriões masculinos ou femininos que falham em alcançar a gônada também progridem através da meiose como ovócitos, não importando seu genótipo. Esses dois resultados sugerem que todas as células germinativas, independentemente da sua constituição cromossômica, são programadas para se desenvolver como ovócitos e que o momento de entrada na meiose parece ser mais uma propriedade autônoma da célula do que uma indução. Corroborando isso, foi recentemente demonstrado que a TET1, um membro da família de proteínas TET, é necessário para a ativação da meiose em fêmeas de camundongos. Embora não esteja claro como a TET1 funciona, as proteínas TET exercem um papel no desaparecimento de marcadores epigenéticos no DNA – um evento crítico no desenvolvimento das PGCs, como discutido no [Capítulo 2](#).

Nos homens, a crista genital impede a entrada pré-natal na meiose, e experimentos sugerem que existe um **inibidor de meiose masculino** e que esse inibidor é um fator de sinalização produzido pelas células de Sertoli. Os possíveis candidatos para esse fator incluem a proteína prostaglandina D2 e a proteína codificada pelo gene Tdl

(um gene que apresenta uma sequência homóloga às proteínas antimicrobianas denominadas beta-defensinas; as prostaglandinas são sintetizadas a partir dos ácidos graxos e modulam diversas funções fisiológicas, como pressão sanguínea, contração do músculo liso e inflamação).

A meiose reduz à metade o número de cromossomas e as fitas de dna nas células sexuais

Embora o momento da meiose seja diferente nos sexos masculino e feminino, os eventos cromossômicos básicos do processo são os mesmos (Fig. 1-2). Como todas as células somáticas normais (não germinativas), as PGCs contêm 23 pares de cromossomas, ou um total de 46 cromossomas. Um cromossoma de cada par é obtido do gameta materno e o outro do gameta paterno. Esses cromossomas contêm **ácido desoxirribonucleico (DNA)**, que codifica a informação necessária para o desenvolvimento e o funcionamento do organismo. Os 46 cromossomas formam 22 pares de cromossoma homólogos pareados denominados **autossomos**. Os dois cromossomas restantes são chamados **cromossomas sexuais**, porque determinam o sexo do indivíduo. Existem dois tipos de cromossomas性uais, X e Y. Indivíduos com um cromossoma X e um cromossoma Y (XY) são geneticamente machos; indivíduos com dois cromossomas X (XX) são geneticamente fêmeas. Todavia, um dos cromossomas X no genoma da fêmea é randomicamente inativado, deixando apenas um cromossoma X ativo em cada célula (a inativação do X é discutida no Cap. 2; mecanismos envolvidos na determinação do sexo são discutidos em detalhes no Cap. 16).

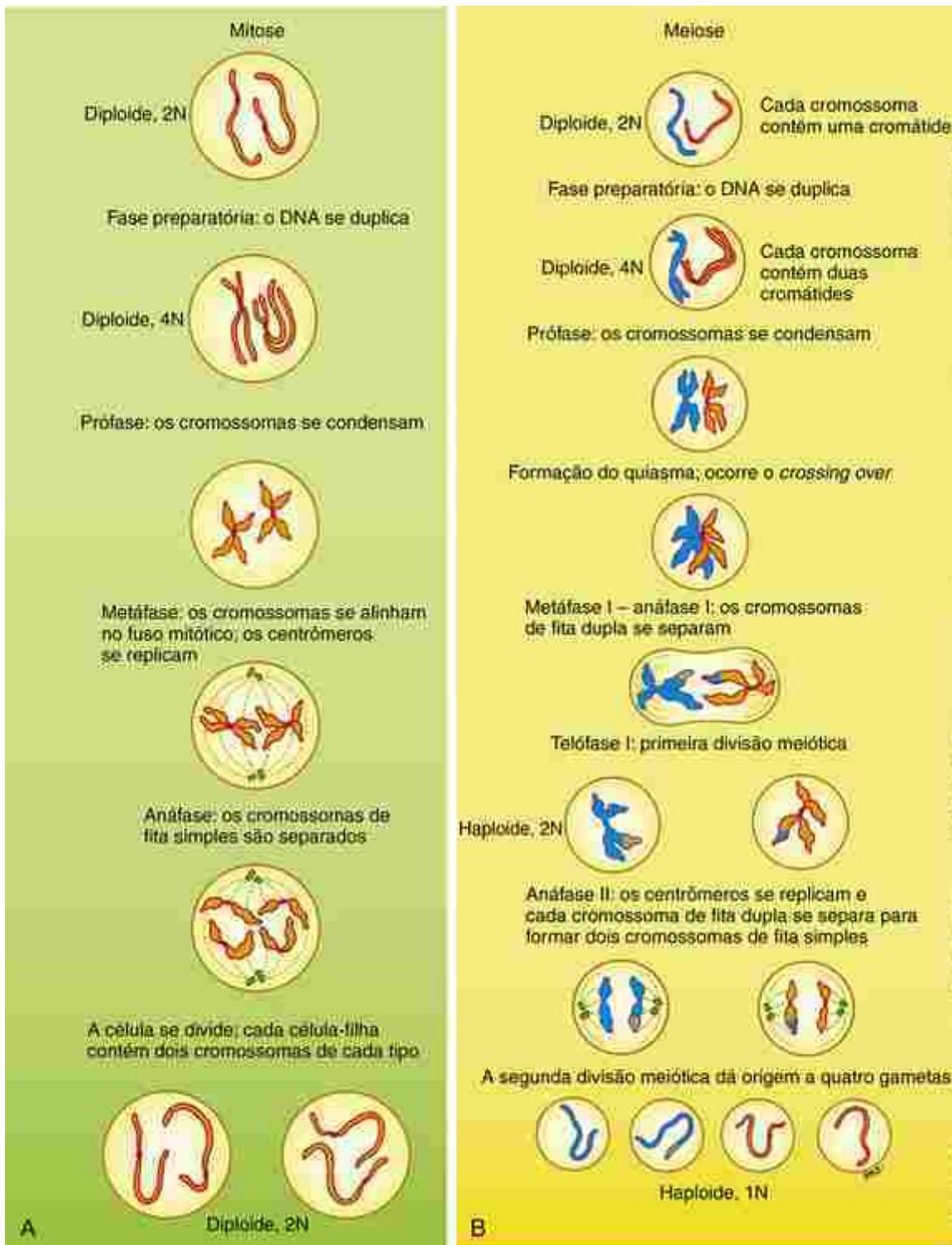


FIGURA 1-2 Tipos de divisão celular. *A*, Mitose. *B*, Meiose. Ver [Tabela 1-1](#) para a descrição dos estágios.

Duas designações que são frequentemente confundidas são a **ploidia** de uma célula e seu **número N**. A ploidia refere-se ao número de cópias de cada *cromossoma* presente em um núcleo celular, enquanto o número N refere-se ao número de cópias de cada *molécula única de DNA* de fita dupla no núcleo. Cada cromossoma contém uma ou duas moléculas de DNA em diferentes estágios do ciclo celular (seja mitótico ou meiótico), então a ploidia e o número N de uma célula nem sempre coincidem. Células somáticas e PGCs têm duas cópias de cada tipo de cromossoma; por isso, elas são chamadas **diploides**. Contrariamente, gametas maduros têm somente uma cópia de cada tipo de cromossoma e são chamados **haploides**. Gametas haploides com uma molécula de DNA por cromossoma são chamados de **1N**. Em alguns estágios do ciclo celular, células diploides também têm uma molécula de DNA por cromossoma, e são então **2N**. Contudo, durante as fases iniciais da meiose ou da mitose, cada cromossoma de uma célula diploide tem duas moléculas de DNA, e então a célula é **4N**.

A **meiose** é um processo especializado da divisão celular que ocorre somente na linhagem germinativa. A [Figura 1-2](#) compara a mitose (*A*) e a meiose (*B*). Na **mitose** (divisão celular normal), uma célula 2N, diploide, replica seu DNA (tornando-se diploide, 4N) e sofre uma única divisão para produzir duas células filhas diploides 2N. Na meiose, uma célula germinativa diploide replica seu DNA (tornando-se diploide, 4N) e sofre duas divisões celulares e nucleares sucessivas, qualitativamente diferentes, para gerar quatro descendentes haploides 1N. No gênero masculino, as divisões celulares da meiose são iguais e produzem quatro **espermatozoides** idênticos. Contudo, nas fêmeas, as divisões meióticas são dramaticamente desiguais e produzem um único **ovócito** haploide grande e definitivo, bem como três **corpos polares** haploides não funcionais e pequenos.

Primeira Divisão Meiótica: Replicação e Recombinação do DNA com Geração de Duas Células Filhas Haploides 2N

As fases da meiose estão ilustradas na [Figura 1-2B](#) e resumidas na [Tabela 1-1](#). A fase preliminar na meiose, assim como na mitose, é a replicação de cada molécula de DNA cromossômico; logo, a célula diploide é convertida de 2N para 4N. Esse evento marca o início da gametogênese. Na mulher, a ovogônia é agora denominada **ovócito primário**, e, no homem, a espermatogônia é agora denominada **espermatócito primário** ([Fig. 1-3](#)). Quando o DNA replica, cada cromossoma fica com duas cadeias paralelas ou **cromátides**, ligadas por uma estrutura denominada **centrômero**. Cada cromátide contém uma molécula única de DNA (em fita dupla; não confundir DNA em fita dupla com as duas fitas de cromátides que compõem cada cromossoma).

Tabela 1-1**Eventos durante as divisões celulares mitótica e meiótica na linhagem germinativa**

Estágio	Eventos	Nome da Célula	Condição do Genoma
Intervalo de descanso entre as divisões celulares mitóticas	Células em estado normal do metabolismo	♀ Ovogônio ♂ Espermatozônia	Diploide, 2N
Mitose			
Fase preparatória	A replicação do DNA produz cromossomas de fita dupla	♀ Ovogônio ♂ Espermatozônia	Diploide, 4N
Prófase	Os cromossomas de fita dupla se condensam		
Metáfase	Os cromossomas se alinham ao longo do equador; os centrômeros se replicam		
Anáfase e telófase	Cada cromossoma de fita dupla se divide em dois cromossomas de fita simples, cada um sendo distribuído para uma célula-filha		
Citocinese	A célula se divide	♀ Ovogônio ♂ Espermatozônia	Diploide, 2N
Meiose I			
Fase preparatória	A replicação do DNA produz cromossomas de fita dupla	♀ Ovócito primário ♂ Espermatócito primário	Diploide, 4N
Prófase	Os cromossomas de fita dupla se condensam; cada par de cromossomas homólogos se alinha no centrômero para formar um quiasma de quatro braços; ocorre a recombinação por <i>crossing over</i>		
Metáfase	Os cromossomas se alinham ao longo do equador; os centrômeros não se replicam		
Anáfase e telófase	Um cromossoma de fita dupla de cada par homólogo é distribuído para cada célula-filha		
Citocinese	A célula se divide	♀ Um ovócito secundário e o primeiro corpo polar ♂ Dois espermatócitos secundários	Haploide, 2N
Meiose II			
Prófase	<i>Não ocorre replicação do DNA durante a segunda divisão meiótica; os cromossomas com fita dupla se condensam</i>		
Metáfase	Os cromossomas se alinham ao longo do equador; os centrômeros se replicam		
Anáfase e telófase	Cada cromossoma se divide em dois cromossomas de fita simples; cada um é distribuído para uma célula-filha		
Citocinese	A célula se divide	♀ Um ovócito definitivo e três corpos polares ♂ Quatro espermátides	Haploide, 1N

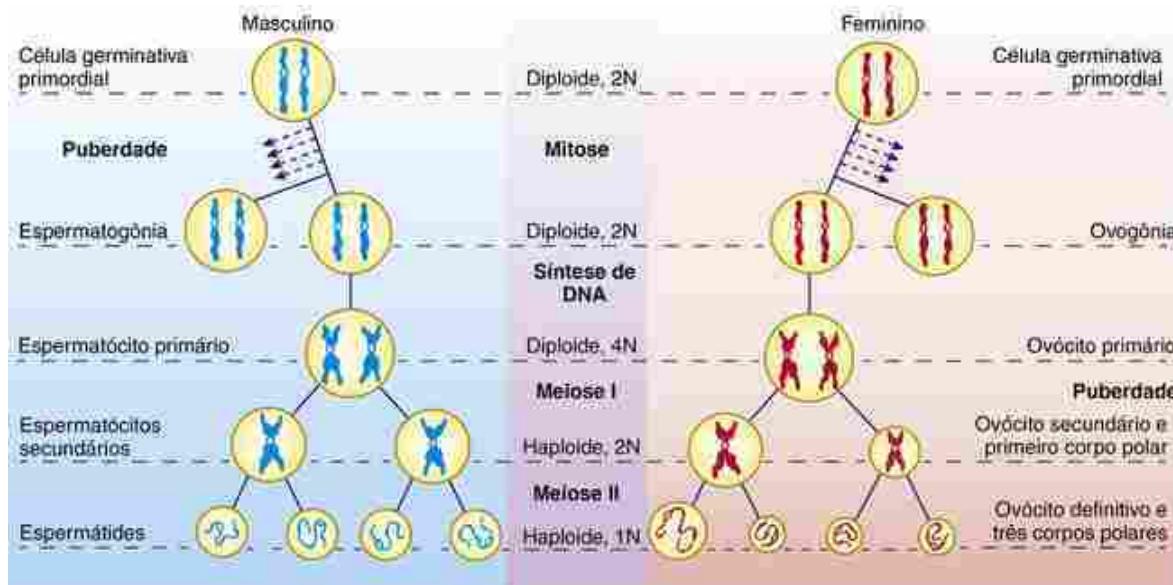


FIGURA 1-3 Maturação nuclear das células germinativas nas meioses masculina e feminina. Na masculina, as células germinativas primordiais (PGCs) permanecem latentes até a puberdade, quando se diferenciam em espermatogônias e começam a mitose. Durante a vida adulta, as espermatogônias produzem espermatócitos primários, os quais passam pela meiose e pela espermatogênese. Cada espermatocito primário se divide para produzir dois espermatócitos secundários e cada um produz dois espermatozoides. Logo, cada espermatocito primário gera quatro gametas funcionais. Durante a vida fetal da mulher, as PGCs se diferenciam em ovogônias, sofrem mitose e iniciam então a meiose, agora como ovócitos primários. Os ovócitos primários permanecem parados na prófase I até que sejam estimulados a recomeçar a meiose durante um ciclo menstrual. Cada ovócito primário tem o potencial de formar um ovócito secundário e o primeiro corpo polar. Neste sentido, cada ovócito secundário tem o potencial de formar um ovócito definitivo e outro corpo polar, e o primeiro corpo polar tem o potencial de formar dois corpos polares. Logo, cada ovócito primário tem o potencial de gerar um único gameta funcional e três corpos polares.

Na próxima fase, denominada **prófase**, o cromossoma condensa-se em estruturas compactas de cadeia dupla (*i. e.*, duas cromátides unidas por um centrômero). Durante os estágios finais da prófase, os cromossomas em cadeia dupla de cada par homólogo ficam pareados, centrômero com centrômero, para formar uma estrutura unida denominada **quiásma** (composta por quatro cromátides, dois centrômeros e dois cromossomas). A formação do quiásma permite que os dois cromossomas homólogos troquem grandes segmentos de DNA por um processo chamado *crossing over*. A **recombinação** do material genético resultante nos cromossomas homólogos maternos e paternos é altamente randômica; portanto, ela aumenta a variabilidade genética dos futuros gametas. Como mencionado anteriormente, o ovócito primário entra em meiose e para durante a prófase da primeira meiose.

Durante a **metáfase**, as quatro estruturas do quiásma são organizadas no equador de um aparato de fuso, similar ao que se forma durante a mitose. Durante a **anáfase**, um cromossoma em cadeia dupla de cada par homólogo é distribuído para o núcleo de cada uma das duas células-filhas. Durante a primeira divisão meiótica, os centrômeros dos cromossomas não replicam, portanto, as duas cromátides de cada cromossoma permanecem juntas. Logo, os núcleos das células-filhas resultantes são haploides mas 2N: eles contêm a mesma quantidade de DNA que a célula germinativa parental, mas a metade dos cromossomas. Conforme vai acontecendo a formação do núcleo da célula-filha, a célula se divide (sofre **citocinese**). A primeira divisão meiótica produz dois **espermatócitos secundários** no homem e um **ovócito secundário** e um **primeiro corpo polar** na mulher (Fig. 1-3).

Segunda Divisão Meiótica: os Cromossomas em Cadeia Dupla Dividem-se, Originando Quatro Células-filhas Haploides 1N

Nenhuma replicação de DNA ocorre durante a segunda divisão meiótica. Os 23 cromossomas em cadeia dupla se condensam durante a prófase da segunda meiose e se alinham durante a metáfase da segunda meiose. Os centrômeros cromossomais então se replicam, e, durante a anáfase, os cromossomas em cadeia dupla separam-se em cromossomas de cadeia única, um para cada núcleo das células-filhas. Nos homens, a segunda divisão celular meiótica produz dois **espermatócitos definitivos**, mais comumente denominados **espermátides** (*i. e.*, um total de quatro para cada célula germinativa que entra na meiose). Na mulher, a segunda divisão celular meiótica, assim como a primeira, é radicalmente desigual, produzindo um grande **ovócito definitivo** e outro pequeno corpo polar. O primeiro corpo polar pode sofrer simultaneamente uma segunda divisão meiótica para produzir um terceiro corpo polar (Fig. 1-3).

Na mulher, o ovócito entra na segunda fase da meiose, mas para durante a segunda metáfase meiótica, antes da

replicação dos centrômeros. A meiose não se completa a não ser que a célula seja fertilizada.

Espermatogênese

Agora que a meiose foi descrita, é possível descrever e comparar os processos específicos da espermatogênese e da ovogênese. Na puberdade, os testículos começam a secretar quantidades crescentes do hormônio esteroide **testosterona**. Esse hormônio tem vários efeitos. Além de estimular o desenvolvimento de várias características sexuais secundárias, ele dispara o crescimento dos testículos, o amadurecimento dos túbulos seminíferos e o início da espermatogênese.

Sob a influência da testosterona, as células de Sertoli se diferenciam em um sistema de túbulos seminíferos. As PGCs latentes terminam o desenvolvimento, dividem-se várias vezes por mitose e então diferenciam-se em espermatogônias. Essas espermatogônias estão localizadas abaixo da membrana basal que circunda os túbulos seminíferos, onde elas ocupam uma cavidade entre as células de Sertoli ([Fig. 1-4A](#)). As células de Sertoli adjacentes estão interconectadas entre as cavidades por **junções de oclusão**, que ajudam a estabelecer uma **barreira hematotesticular**. Assim, as espermatogônias residem em um sítio imunologicamente privilegiado durante seu desenvolvimento nos testículos.

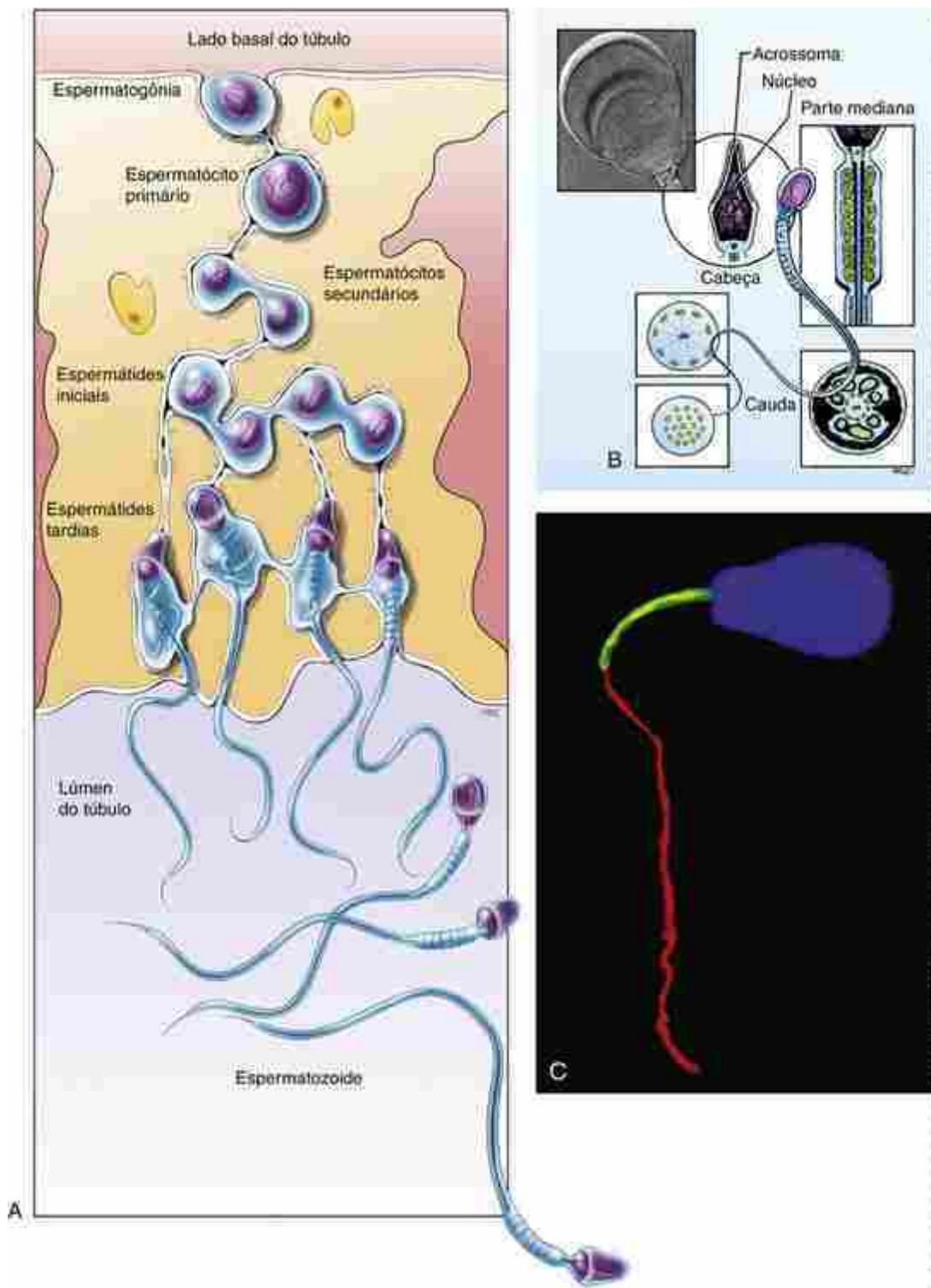


FIGURA 1-4 Espermatogênese e espermogênese. A, Corte esquemático da parede do túbulo seminífero. A espermatogônia logo abaixo da superfície externa da parede do túbulo (lado basal) sofre mitose para produzir células-filhas, as quais podem continuar a se dividir por mitose (renovando, portanto, a população de células-tronco espermatogoniais) ou começar a meiose como espermatócitos primários. Enquanto ocorrem a espermatogênese e a espermogênese, a célula em diferenciação é translocada entre as células de Sertoli adjacentes até a luz do túbulo. Os espermatócitos-filhos e as espermatídes permanecem ligados por pontes citoplasmáticas. Todo clone de espermatogônia derivado de cada célula germinativa primordial é ligado por pontes citoplasmáticas. B, Estrutura de um espermatozoide maduro. A cabeça contém o núcleo coberto pelo acrossoma; a peça intermediária contém mitocôndrias espiraladas; a cauda contém microtúbulos propulsores. A micrografia inserida mostra a cabeça de um espermatozoide humano. C, Espermatozoide bovino com marcadores fluorescentes para revelar o núcleo (azul) na sua cabeça, as mitocôndrias (verde) na parte média e os microtúbulos (vermelho) na cauda. A marcação em vermelho ao redor do perímetro da cabeça é marcação de fundo (artefato).

As células germinativas dos homens são translocadas para o lúmen do túbulo seminífero durante a espermatogênese

As células que irão passar pela espermatogênese originam-se por mitose da espermatogônia. Essas células são gradualmente deslocadas entre as células de Sertoli, do lado basal para o lado luminal do epitélio seminífero, enquanto a espermatogênese acontece (Fig. 1-4A). Durante essa fase migratória, os espermatócitos primários passam sem interrupção por ambas as divisões meióticas, produzindo primeiro dois espermatócitos secundários e então quatro espermátides. As espermátides sofrem mudanças dramáticas que as convertem em espermatozoides maduros enquanto elas completam sua migração para o lúmen. Esse processo de diferenciação da espermátilde é denominado **espermiogênese**.

As células de sertoli também são instrumentos na espermiogênese

As células de Sertoli participam intimamente da diferenciação dos gametas. Os espermatócitos e as espermátides em maturação estão conectados às células de Sertoli circundantes por junções intercelulares, tipicamente aquelas encontradas nas células epiteliais, e processos citoplasmáticos únicos denominados **complexos tubulobulbares** que se estendem para dentro das células de Sertoli. O citoplasma dos gametas em desenvolvimento encolhe dramaticamente durante a espermiogênese; os complexos tubulobulbares fornecem um mecanismo pelo qual o excesso de citoplasma é transferido para as células de Sertoli. Como o citoplasma é removido, as espermátides sofrem mudanças dramáticas na forma e na organização interna que as transformam em espermatozoides. Finalmente, as últimas conexões com as células de Sertoli se desfazem, liberando o espermatozoide para o lúmen do túbulo. Essa fase final é denominada **espermiação**.

Como mostrado na Figura 1-4B,C, um espermatozoide é formado por uma **cabeça**, uma **peça intermediária** e uma **cauda**. A cabeça contém o núcleo condensado e é coberta por uma vesícula apical preenchida com enzimas hidrolíticas (p. ex., acrosina, hialuronidase e neuraminidase). Essa vesícula, o **acrossoma**, exerce um papel essencial na fertilização. A peça intermediária contém mitocôndrias grandes em hélice e gera energia para a natação. A cauda longa contém microtúbulos que formam parte do sistema de propulsão do espermatozoide.

Na Clínica

Anormalidades do espermatozoide

Erros na espermatogênese ou na espermiogênese são comuns. O exame de uma amostra de esperma revelará espermatozoides com anormalidades, como cabeças pequenas, estreitas ou piriformes (forma de pera), cabeças duplas ou triplas, defeitos acrossônicos e caudas duplas. Se pelo menos 50% dos espermatozoides em um ejaculado tiverem morfologia normal, não é esperado que a fertilidade seja prejudicada. Se tiverem um número maior de espermatozoides anormais (chamado de teratospermia se for excessivo), poderá haver infertilidade.

Ondas contínuas de espermatogênese ocorrem no epitélio seminífero

A espermatogênese ocorre continuamente desde a puberdade até a morte. Os gametas são produzidos em ondas sincronizadas em cada área do epitélio germinativo, embora o processo não seja sincronizado ao longo do túbulo seminífero. Em vários mamíferos diferentes, o clone de espermatogônias, derivado de cada célula-tronco espermatogônica, povoá uma área local dos túbulos seminíferos e apresenta uma espermatogênese sincronizada. Esse pode ser o caso dos humanos também. Cerca de quatro ondas sincronizadas de diferenciação celular podem ser observadas a cada vez em uma determinada região do epitélio do túbulo humano. Estudos ultraestruturais fornecem evidências de que essas ondas de diferenciação celular permanecem sincronizadas devido à citocinese incompleta ao longo de uma série de divisões mitóticas e meióticas que ocorrem entre a divisão de uma espermatogônia e a formação da espermátilde. Ao invés de se separarem completamente, as células-filhas produzidas por essas divisões permanecem conectadas por pontes citoplasmáticas delgadas (Fig. 1-4A), que podem permitir a passagem de pequenas moléculas de sinalização ou metabólitos.

No homem, cada ciclo de espermatogênese dura cerca de 64 dias. A mitose da espermatogônia leva em torno de 16 dias, a primeira divisão meiótica em torno de 8 dias, a segunda divisão meiótica em torno de 16 dias, e a espermiogênese em torno de 24 dias.

Os espermatozoides passam por uma fase final de maturação funcional denominada capacitação

Durante a sua jornada dos túbulos seminíferos para a ampola do oviduto, a célula espermática passa por um processo de maturação funcional que a prepara para fertilizar um ovócito. Os espermatozoides produzidos nos túbulos seminíferos são armazenados na parte inferior do **epidídimo**, um ducto de 12 metros altamente enovelado, conectado ao **ducto deferente** próximo à sua origem no testículo. Durante a ejaculação, os espermatozoides são impulsionados através do ducto deferente e da uretra e são misturados às secreções nutritivas das **vesículas seminais**, da **próstata** e das **glândulas bulbouretrais** (essas estruturas são discutidas no [Capítulo 16](#)). Em torno de 300 milhões de espermatozoides podem ser depositados na vagina em uma única ejaculação, mas somente algumas poucas centenas têm sucesso em navegar através da cérvix, do útero, do oviduto e da região expandida da ampola. Na **ampola** do oviduto, os espermatozoides sobrevivem e mantêm a sua capacidade de fertilizar um ovócito por 1 a 3 dias.

A **capacitação**, fase final da maturação do espermatozoide, consiste principalmente em mudanças no acrossoma que o preparam para liberar as enzimas necessárias à penetração na zona pelúcida, uma capa de glicoproteínas que envolve o ovócito. A capacitação ocorre dentro do trato genital feminino e sabe-se que requer o contato com as secreções do oviduto. Os espermatozoides usados em procedimentos de fertilização *in vitro* (FIV) são capacitados artificialmente. Os espermatozoides com acrossomas defeituosos podem ser injetados diretamente nos ovócitos pela reprodução assistida em humanos (a tecnologia de reprodução assistida, ou TRA, é discutida posteriormente na parte “Na Clínica” intitulada “Tecnologia de Reprodução Assistida”).

Ovogênese

Os ovócitos primários formam-se nos ovários aos cinco meses da vida fetal

Como mencionado anteriormente, após as células germinativas femininas tornarem-se rodeadas pelas células somáticas de suporte, elas sofrem uma série de divisões mitóticas e então diferenciam-se em ovogônias ([Fig. 1-3](#)). Em torno da 12^a semana de desenvolvimento, as ovogônias nas cristas genitais entram na prófase da primeira meiose e então quase imediatamente tornam-se latentes. O núcleo de cada um desses **ovócitos primários** latentes, contendo os cromossomos parcialmente condensados na prófase, torna-se muito grande e aquoso e é denominado **vesícula germinal**. Acredita-se que o estado inchado da vesícula germinal proteja o DNA do ovócito durante o longo período da parada meiótica.

Uma cápsula pavimentosa, formada por uma camada única de células foliculares epiteliais derivadas das células somáticas de suporte, envolve firmemente cada ovócito primário. Essa cápsula e seu ovócito primário envolvido constituem o **folículo primordial** (discutido adiante). Em torno do quinto mês, quando todas as ovogônias iniciaram a primeira divisão meiótica e se tornaram ovócitos primários, o número de folículos primordiais nos ovários atinge um pico de cerca de 7 milhões. A maior parte desses folículos subsequentemente degenerará. Ao nascimento, somente 700.000 de 2 milhões permanecem, e na puberdade, somente cerca de 400.000.

Os hormônios do ciclo feminino controlam a foliculogênese, a ovulação e as condições uterinas

Após atingir a puberdade, também denominada **menarca** nas mulheres, e até entrar na **menopausa** várias décadas depois, ciclos mensais de secreção de hormônios hipotalâmicos, pituitários e ovarianos controlam um **ciclo menstrual**, que resulta, a cada mês, na produção de um gameta feminino e em um útero preparado para receber um embrião fertilizado. Especificamente, esse ciclo de 28 dias consiste em:

- Maturação mensal de (geralmente) um único ovócito e seu folículo envoltório.
- Proliferação concomitante do endométrio uterino.
- Processo de ovulação no qual o ovócito é liberado do ovário.
- Desenvolvimento contínuo do folículo para um corpo lúteo endócrino.
- Descamação do endométrio uterino e involução do corpo lúteo (a menos que um zigoto se implante no útero e comece a se desenvolver).

Considera-se que o ciclo menstrual começa com a menstruação, a descamação do endométrio uterino degenerado do ciclo anterior. Em torno do quinto dia do ciclo (o quinto dia após o início da menstruação), um aumento na secreção de um pequeno hormônio peptídico do hipotálamo, o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), estimula a glândula pituitária a aumentar a secreção de dois hormônios gonadotróficos (gonadotrofinas): hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) ([Fig. 1-5](#)). Os níveis crescentes de gonadotrofina da pituitária regulam as fases da foliculogênese no ovário e a fase proliferativa no endométrio uterino.

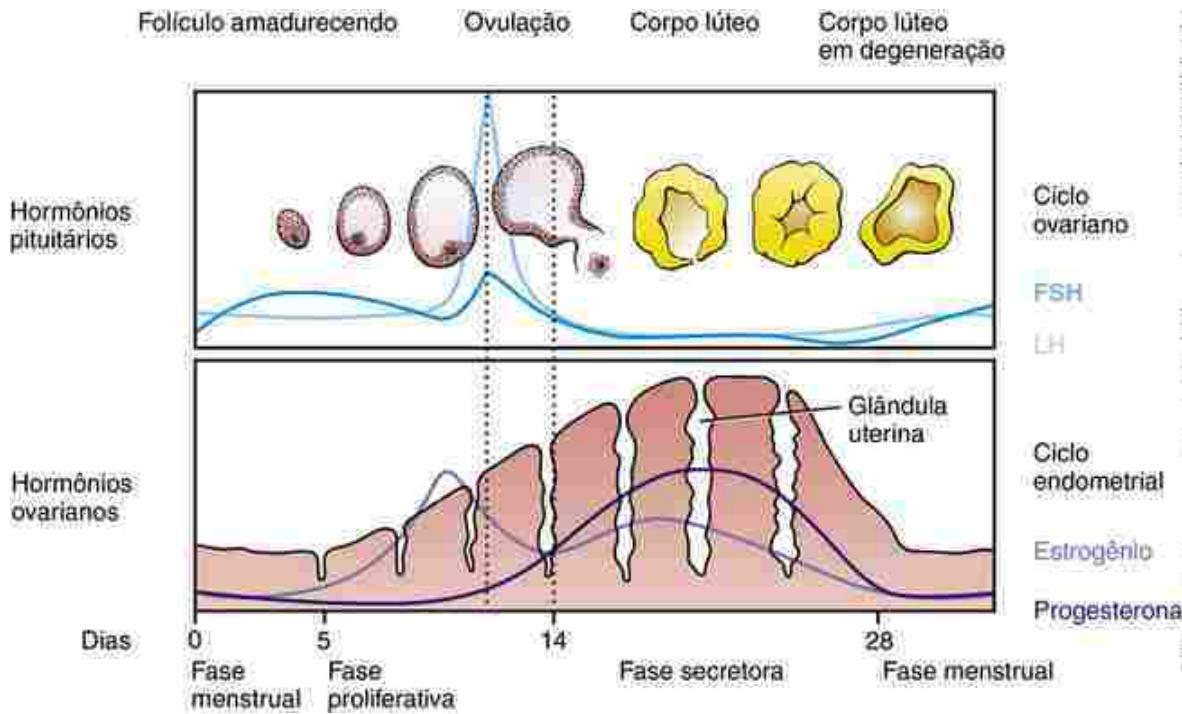


FIGURA 1-5 Eventos ovarianos, endometriais e hormonais do ciclo menstrual. O hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) controlam diretamente o ciclo ovariano e também a produção de estrogênio e progesterona pelos folículos responsivos e pelo corpo lúteo no ovário. Estes hormônios ovarianos, por sua vez, controlam o ciclo do endométrio uterino.

Cerca de cinco a doze folículos primários terminam o desenvolvimento a cada mês

Antes de um ciclo em particular, e independentemente das gonadotrofinas da pituitária, o epitélio folicular de um pequeno grupo de folículos primordiais se espessa, convertendo-se de epitélio folicular com uma camada única de células pavimentosas para uma camada de células cúbicas (Fig. 1-6A). Esses folículos são agora denominados **folículos primários**. As células foliculares e o ovócito secretam, na superfície do ovócito, uma delgada camada de material acelular composta de apenas alguns tipos de glicoproteínas. Embora essa camada, a **zona pelúcida**, pareça formar uma barreira física completa entre as células foliculares e o ovócito (Figs. 1-6B e 1-7A), na verdade, ela é penetrada por prolongamentos delgados das células foliculares conectados à membrana celular do ovócito por junções intercelulares (Fig. 1-7B). Esses prolongamentos e suas junções intercelulares permanecem intactos até antes da ovulação, e eles provavelmente transmitem para o ovócito tanto sinais de desenvolvimento quanto de suporte metabólico. O epitélio folicular de 5 a 12 desses folículos primários, então, prolifera para formar uma cápsula com multicamadas de células foliculares ao redor do ovócito (Fig. 1-6). Os folículos agora são denominados **folículos em crescimento**. Nesse ponto, alguns dos folículos em crescimento cessam o desenvolvimento e finalmente degeneram, enquanto alguns poucos continuam a se expandir em resposta aos níveis crescentes de FSH, principalmente pela absorção de líquido e o desenvolvimento de uma cavidade central repleta com este líquido, denominada **antro**. Esses folículos são denominados **antrais** ou **folículos vesiculares**. Ao mesmo tempo, o tecido conjuntivo do estroma ovariano que circunda cada um desses folículos se diferencia em duas camadas: uma camada mais interna chamada **teca interna** e uma camada mais externa chamada **teca externa**. Essas duas camadas tornam-se vascularizadas, ao contrário das células foliculares, que não são.

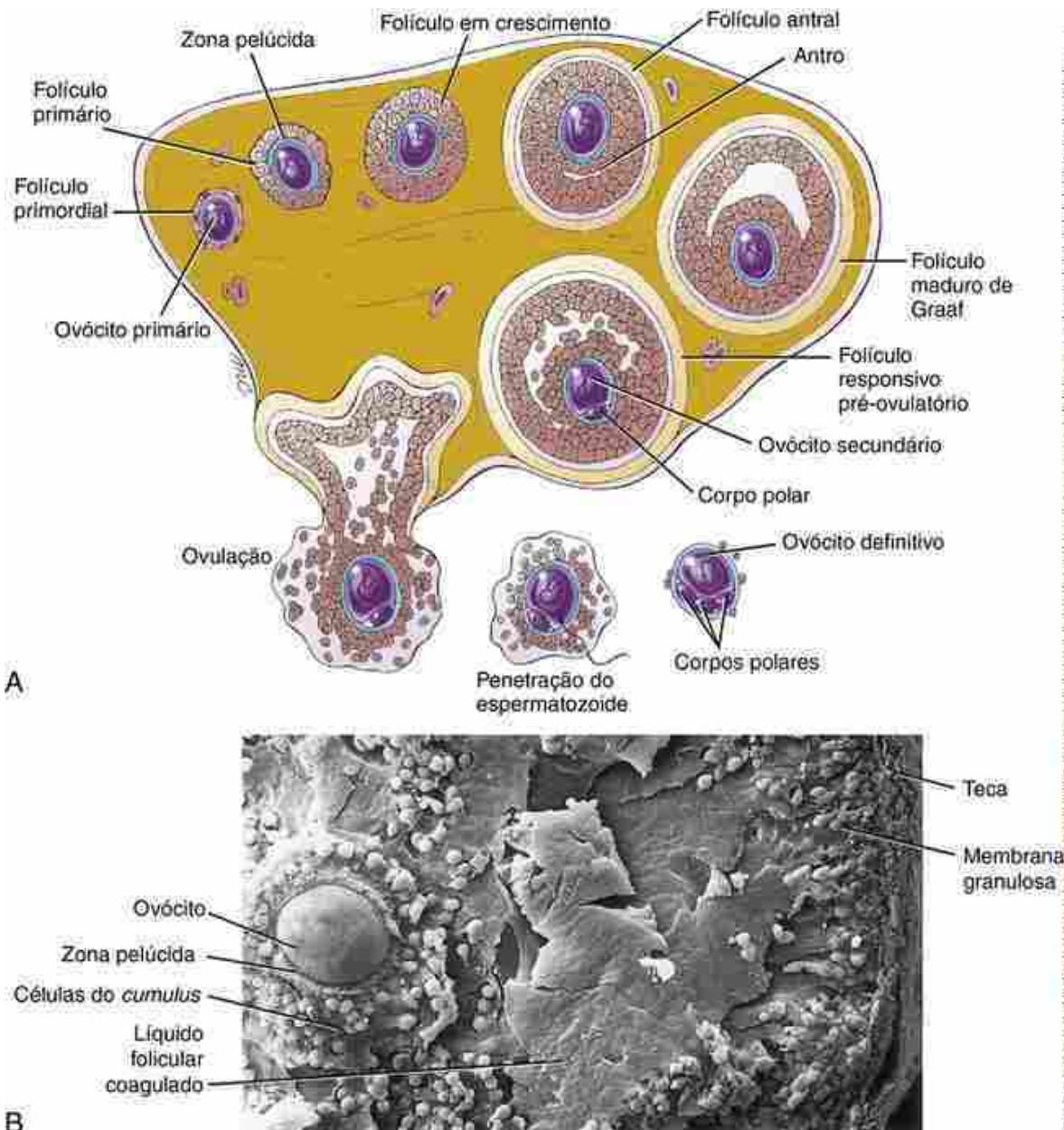


FIGURA 1-6 Maturação do ovócito no ovário e ovulação. A, Esquema do ovário mostrando a foliculogênese e a ovulação. Cinco a doze folículos primordiais respondem inicialmente aos níveis ascendentes do hormônio estimulante de folículo (FSH) e do hormônio luteinizante (LH), mas somente um amadurece. Em resposta ao surto ovulatório do LH e do FSH, o ovócito deste folículo de Graaf em maturação continua a meiose e a ovulação ocorre. Os passos finais da meiose acontecem somente se o ovócito liberado for penetrado por um espermatozoide. B, Micrografia eletrônica de varredura de um folículo pré-ovulatório.

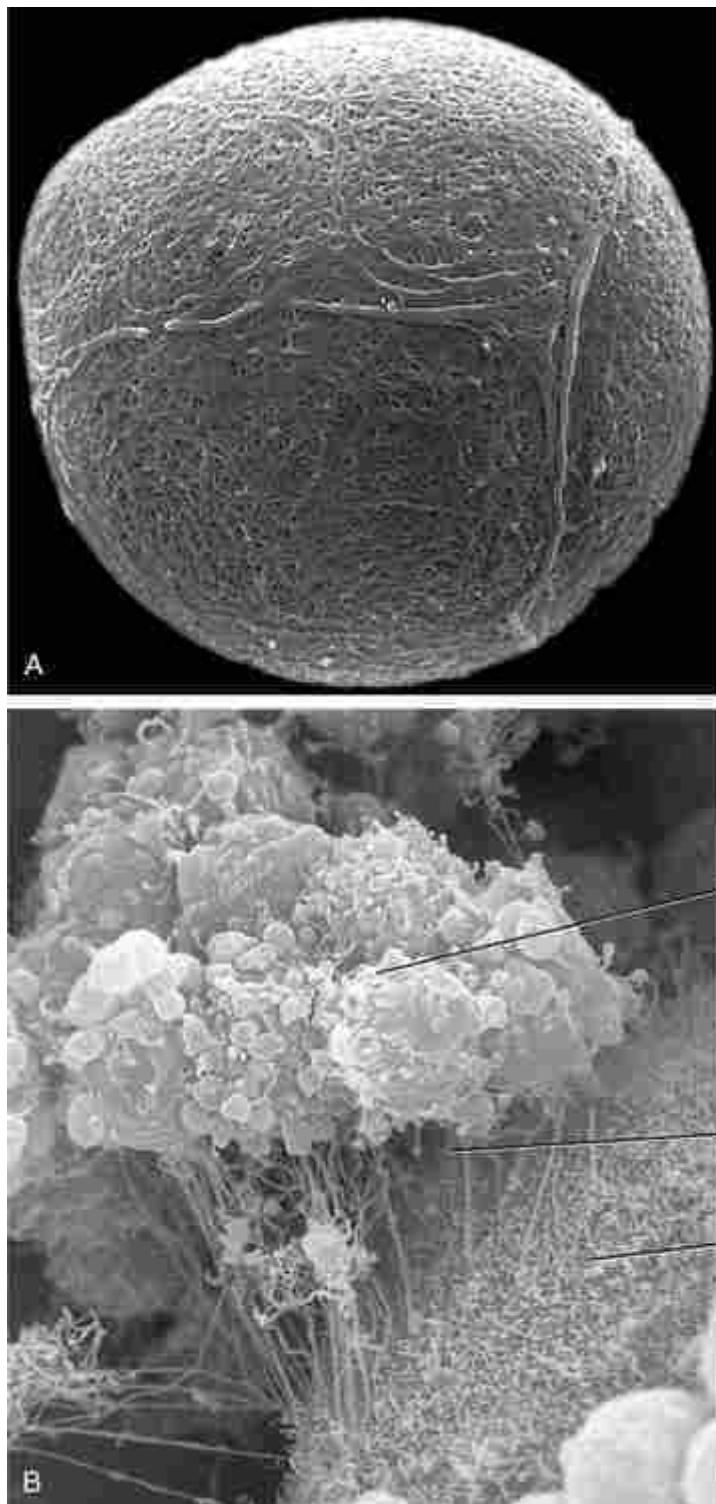


FIGURA 1-7 O ovócito ovulado e suas estruturas associadas. *A*, Micrografia eletrônica de varredura da zona pelúcida após a remoção das células do *cumulus*. A zona é composta por glicoproteína e forma uma barreira que o espermatozoide penetra por meio de suas enzimas acrossâmicas. *B*, Micrografia eletrônica de varredura da superfície do ovócito e do *cumulus ooforus* com a zona pelúcida eliminada por digestão. As células do *cumulus* mantêm contato com o ovócito através de delgados processos celulares que penetraram na zona pelúcida e formam junções intercelulares com a membrana celular do ovócito.

Um único folículo se torna dominante e os restantes degeneram

Finalmente, um dos folículos em crescimento adquire primazia e continua a crescer por absorção de líquido, enquanto os folículos restantes recrutados durante o ciclo degeneram (sofrem **atresia**). O ovócito, circundado por uma pequena massa de células foliculares denominada **cumulus ooforus**, projeta-se para o antro em expansão, mas permanece conectado à camada de células foliculares que limita a cavidade antral. Essa camada de células foliculares da parede do

antrume que também circundam internamente a membrana basal do folículo é denominada **membrana granulosa**. O folículo grande e dilatado é agora denominado **folículo vesicular maduro** ou **folículo de Graaf maduro** (Fig. 1-6). Nesse ponto, o ovócito ainda não terminou a meiose.

Por que a foliculogênese é seletivamente estimulada em apenas alguns poucos folículos a cada mês?

A razão pela qual somente 5 a 12 folículos primordiais começam a foliculogênese a cada mês – e por que, desse grupo, todos, à exceção de um degeneram – é desconhecida. É possível que os folículos tornem-se progressivamente mais sensíveis aos efeitos da estimulação do FSH ao longo de seu desenvolvimento. Portanto, folículos que estão, aleatoriamente, em um estágio mais avançado poderiam responder mais fortemente ao FSH e poderiam ser favorecidos. Outra possibilidade é de que o processo de seleção seja regulado por um sistema complexo de retroalimentação entre hormônios da pituitária e do ovário e os fatores de crescimento.

Na Clínica

Anomalias cromossômicas resultam em aborto espontâneo ou desenvolvimento anormal

Estima-se que um terço de todas as concepções em mulheres normais e saudáveis seja abortada espontaneamente; cerca de um quarto desses abortos ocorre antes que a gravidez seja detectada. As anomalias cromossômicas parecem causar em torno de 40% a 50% dos abortos espontâneos nos casos em que o conceito foi recuperado e examinado. Contudo, algumas anomalias cromossômicas permitem que o feto sobreviva a termo. As crianças resultantes apresentam padrões não aleatórios de anomalias do desenvolvimento, isto é, **síndromes**. Uma dessas síndromes, a síndrome de Down, é discutida em detalhe na próxima seção; outras são discutidas em detalhe nos capítulos subsequentes.

Algumas anomalias cromossômicas surgem durante a gametogênese e a clivagem

Cromossomas anormais podem ser produzidos na linhagem germinativa de qualquer um dos pais devido a um erro na meiose ou na fertilização, ou podem surgir no início do desenvolvimento embrionário devido a um erro na mitose. Gametas ou blastômeros que resultam desses eventos contêm cromossomas a menos ou a mais, ou cromossomas com segmentos duplicados, deletados ou rearranjados. A ausência de um cromossoma específico em um gameta, que combina com um gameta normal, forma um zigoto com a condição conhecida como **monossomia** (porque o zigoto contém somente uma cópia do cromossoma, ao invés do normal com duas). Contrariamente, a presença de dois cromossomas do mesmo tipo em um dos gametas que forma o zigoto resulta em **trissomia**.

A **síndrome de Down** é um distúrbio frequentemente causado por um erro durante a meiose. Se as duas cópias do cromossoma 21 falharem ao se separarem durante a anáfase da primeira ou da segunda divisão meiótica da gametogênese em qualquer um dos pais (um fenômeno de **não disjunção**), metade dos gametas resultantes não terá o cromossoma 21 e a outra metade terá duas cópias (Fig. 1-8A). Embriões formados pela fusão de um gameta que não apresenta o cromossoma 21 com um gameta normal são chamados **embriões monossômicos do 21**. Monossomias dos cromossomas autossômicos são invariavelmente fatais durante o desenvolvimento embrionário inicial. Por outro lado, se um gameta com duas cópias do cromossoma 21 se fusionar com um gameta normal, o **embrião trissômico do 21** resultante poderá sobreviver (Fig. 1-8B). Crianças com trissomia do 21 apresentam padrões de anormalidades descritos como **síndrome de Down**. Além das características faciais reconhecíveis, retardo mental e baixa estatura, indivíduos com síndrome de Down podem apresentar defeitos congênitos do coração (um defeito no septo atrioventricular é o mais comum, isto é, uma falha na formação dos septos atrial e ventricular; discutido no Cap. 12), perda da audição, obstrução duodenal, propensão a desenvolver leucemia e defeitos no sistema imunológico. A trissomia na maioria dos indivíduos com síndrome de Down é o resultado da não disjunção na mãe, geralmente durante a primeira divisão meiótica (75% a 80% dos casos). A identificação do cromossoma extra como de origem materna ou paterna foi originalmente baseada na análise do cariotípico que comparou padrões de bandeamento do cromossoma extra 21 com o cromossoma 21 da mãe e do pai. Esses estudos iniciais concluíram que cerca de 70% a 75% dos casos de síndrome de Down ocorreram como uma consequência da não disjunção na mãe. Contudo, nos últimos anos da década de 1980, análises de cariotípico mais sensíveis aumentaram essa frequência para 80%, e, no início da década de 1990, uma técnica molecular mais sensível ainda (análise por “Southern blot” dos polimorfismos do DNA) forneceu evidências de que cerca de 90% a 95% dos casos de síndrome de Down originam-se da não disjunção na linhagem germinativa materna. Em consequência, atualmente é aceito que apenas 5% dos casos de síndrome de Down resultam de um erro na espermatogênese.

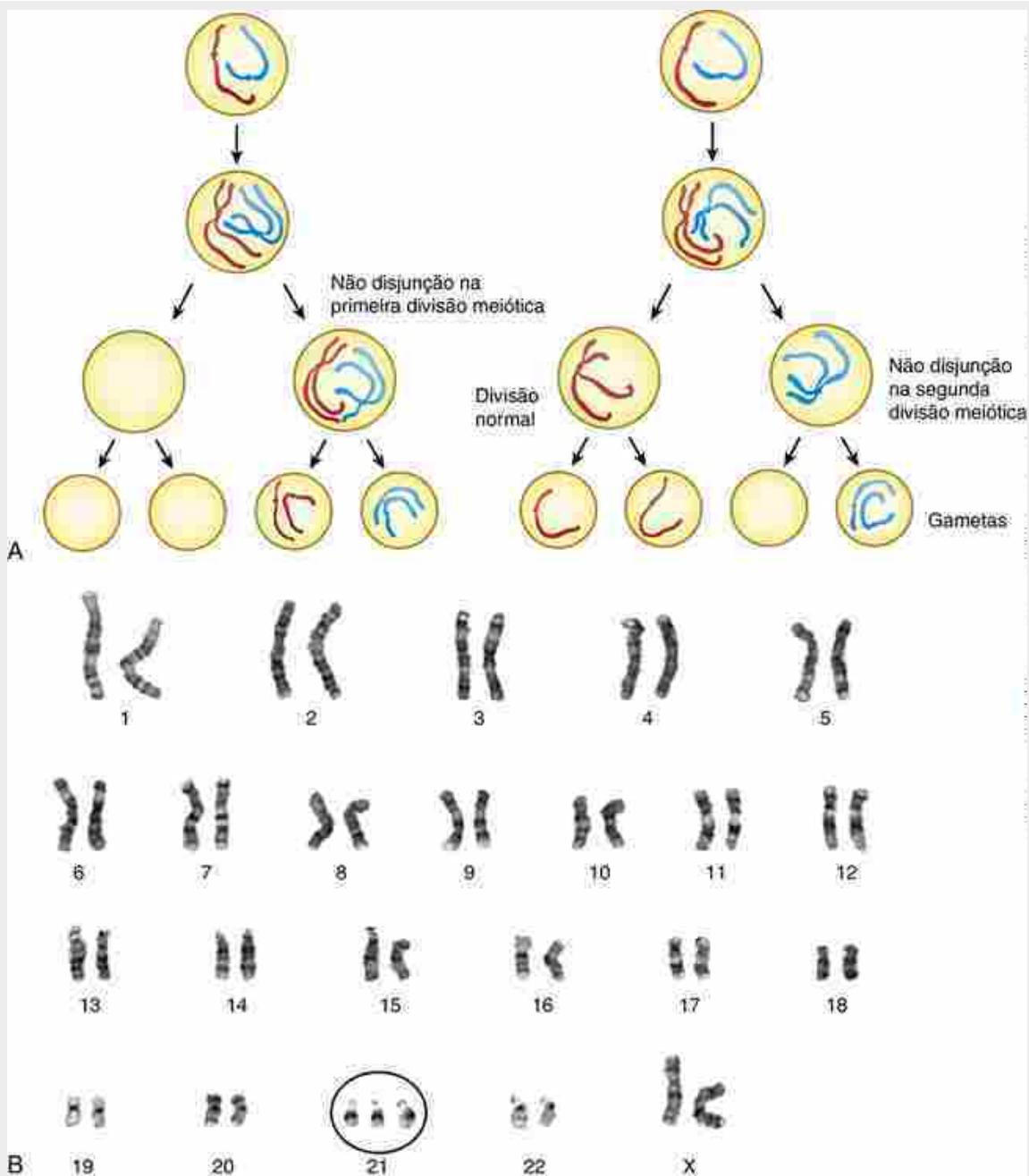


FIGURA 1-8 Não disjunção cromossômica na meiose. A, Falhas na separação do par de cromossomas homólogos de cadeia dupla antes da citocinese, durante a primeira divisão meiótica (*painel esquerdo*), resultam no deslocamento do par para somente um dos gônocitos secundários (ou primeiro corpo polar). Falhas na separação das duas fitas dos cromossomas de cadeia dupla antes da citocinese, durante a segunda divisão meiótica (*painel direito*), resultam no deslocamento destes cromossomas com duas fitas para somente um dos gônocitos definitivos (ou segundo corpo polar). B, Cariótipo de uma mulher com trissomia do 21 (*circulado*) causando a síndrome de Down.

Ocasionalmente, o cromossoma 21 extra é perdido por um subgrupo de células durante a clivagem. O embrião resultante se desenvolve como um **mosaico** de células normais e células com trissomia do 21; 2% a 5% de todos os indivíduos com síndrome de Down são mosaicos. Esses indivíduos podem apresentar uma série de características da síndrome de Down, dependendo da abundância e da localização das células anormais. Se a não disjunção ocorrer na linhagem germinativa, um indivíduo aparentemente normal poderá produzir vários descendentes com síndrome de Down. A meiose de uma célula germinativa trissómica origina gametas normais com uma cópia única de cromossoma, assim como gametas anormais com duas cópias, logo, também podem ser gerados descendentes normais.

A síndrome de Down nem sempre resulta de uma simples não disjunção. Algumas vezes, uma cópia do cromossoma 21 em um gameta em desenvolvimento se prende à ponta de outro cromossoma, como o cromossoma 14, durante a primeira ou a segunda divisão da meiose. Esse evento é denominado **translocação**. O zigoto produzido pela fusão de tal gameta com outro normal terá duas cópias normais do cromossoma 21 mais uma

terceira cópia do cromossoma 21 carregado pelo cromossoma 14 anormal (Fig. 1-9); 2% a 5% dos indivíduos com síndrome de Down possuem esse tipo de translocação.

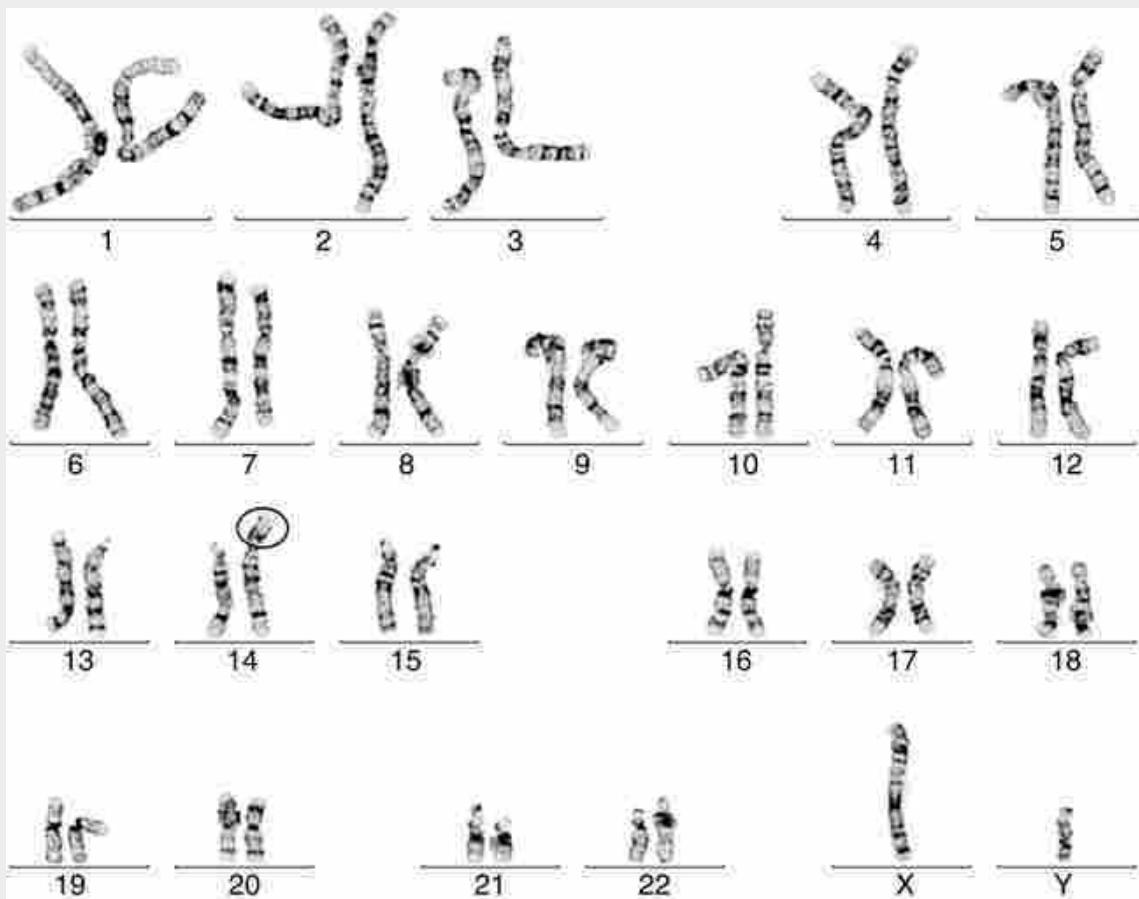


FIGURA 1-9 Cariótipo masculino com síndrome de Down causada pela translocação do cromossoma 21 para um dos cromossomas 14 (circulado).

Casos em que somente uma parte do cromossoma 21 é translocada forneceram informações sobre quais regiões do cromossoma 21 devem estar triplicadas para produzir aspectos específicos da síndrome de Down, como retardamento mental, características faciais específicas e defeitos cardiovasculares. Pela determinação de qual fenótipo específico ocorre em pacientes com síndrome de Down e quais as regiões específicas translocadas do cromossoma 21, foram identificadas **regiões candidatas à síndrome de Down** no cromossoma 21. O término do sequenciamento do cromossoma 21 (em maio de 2000) e a geração de camundongos transgênicos (camundongos transgênicos são discutidos no Cap. 5) trissômicos para essas regiões candidatas estão levando à identificação dos genes responsáveis pelos fenótipos específicos da síndrome de Down em humanos.

A incidência da síndrome de Down aumenta显著mente com a idade da mãe, mas não com a idade do pai. O risco de dar à luz um recém-nascido com síndrome de Down na idade materna de 30 anos é de 1 em 900. O risco aumenta para 9 em 1.000 na idade materna de 40 anos. Contudo, não está claro se as mulheres mais velhas produzem mais ovócitos com não disjunção do cromossoma 21 ou se a eficiência do aborto espontâneo de embriões com trissomia do 21 diminui com a idade.

Trissomias de outros autossomos (tais como os cromossomas 8, 9, 13 e 18) também produzem síndromes reconhecíveis, fruto do desenvolvimento anormal, mas são menos frequentes do que a trissomia do 21. A trissomia do 13 é também denominada **síndrome de Patau** e a trissomia do 18, **síndrome de Edwards**. Similarmente, ocorrem trissomias e monossomias dos cromossomos sexuais (p. ex., as síndromes de **Klinefelter** e **Turner**, duas síndromes nas quais há um número aumentado ou diminuído de cromossomos sexuais, respectivamente; discutido no Cap. 16). Embriões **triploides** ou **tetraploides**, nos quais cópias múltiplas do genoma inteiro estão presentes, podem ser produzidos por erros na fertilização (discutido no Cap. 2).

Vários outros tipos de anomalias cromossômicas são produzidos na meiose. Em alguns casos, erros na meiose resultam em deleção de apenas parte de um cromossoma ou duplicação de um pequeno segmento do cromossoma. As anomalias resultantes são chamadas **monossomia parcial** e **trissomia parcial**, respectivamente. Outros erros que podem ocorrer durante a meiose são as **inversões** dos segmentos do cromossoma e a formação de **cromossomas**

circulares.

Como discutido anteriormente, a idade materna é o principal fator na incidência da síndrome de Down. Descobertas recentes mostram que a taxa de novas mutações aumenta com a idade paterna, com o número de novas mutações na linhagem germinativa masculina dobrando a cada 16,5 anos. Como as espermatogônias se dividem por toda a vida, replicando-se mais de 20 vezes por ano, elas acumulam erros nas cópias genéticas, por isso um homem de 70 anos é oito vezes mais suscetível a passar mutações à sua prole do que um homem de 20 anos. Por exemplo, um homem de 50 anos é duas vezes mais suscetível a passar mutações que contribuem para o autismo do que um homem de 29 anos. Além disso, a idade paterna aumentada parece contribuir para o risco aumentado de outras desordens neurológicas, como esquizofrenia, epilepsia e desordem bipolar.

Análises de cromossomos podem detectar material genético defeituoso e podem guiar o diagnóstico e o tratamento

A análise genética de defeitos congênitos é muito recente. O **cariótipo** humano normal não foi totalmente caracterizado até o final dos anos 1950. Colorações aperfeiçoadas e condições de cultura agora permitem o bandeamento cromossômico em alta resolução, aumentando a capacidade de detecção de pequenas deleções ou duplicações. Avanços nas técnicas de genética molecular têm levado a uma análise muito mais detalhada da estrutura do DNA. Como resultado, é possível identificar mesmo pequenos defeitos não evidentes pelo bandeamento em alta resolução. Essas técnicas são usadas tanto para diagnóstico quanto para aconselhamento genético. Células sanguíneas de um provável progenitor podem ser checadas para anomalias cromossômicas hereditárias, e células embrionárias obtidas do líquido amniótico (**amniocentese**) ou das vilosidades coriônicas (**amostras de vilosidades coriônicas**) podem ser usadas para detectar várias desordens precocemente na gestação (discutido no [Cap. 6](#)). Avanços recentes também permitem a detecção não invasiva de trissomias do soro materno, pela análise de DNA de células fetais circulantes ([Cap. 6](#)).

Duas outras abordagens moleculares são usadas rotineiramente para análise cromossômica ([Figs. 1-10](#) e [1-11](#)): hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) e *microarray* cromossômico (CMA). Em ambas as técnicas, sondas de DNA ligadas a corantes fluorescentes (*i. e.*, fluorocromos, cada um deles emite um espectro único de luz e é associado a uma cor específica no computador) são usadas para sondar *loci* específicos nos cromossomos. Essas técnicas são particularmente úteis para a detecção de trocas no número dos cromossomos (aneuploidia) e para a caracterização do material cromossômico envolvido nas translocações, quando comparadas com o bandeamento de cromossomos de alta resolução. A MAC também é útil na detecção da herança do material cromossômico que está impropriamente *imprintado*, como na isodisomia uniparental (onde ambos os pares inteiros de cromossomos ou partes deles derivam do mesmo progenitor).

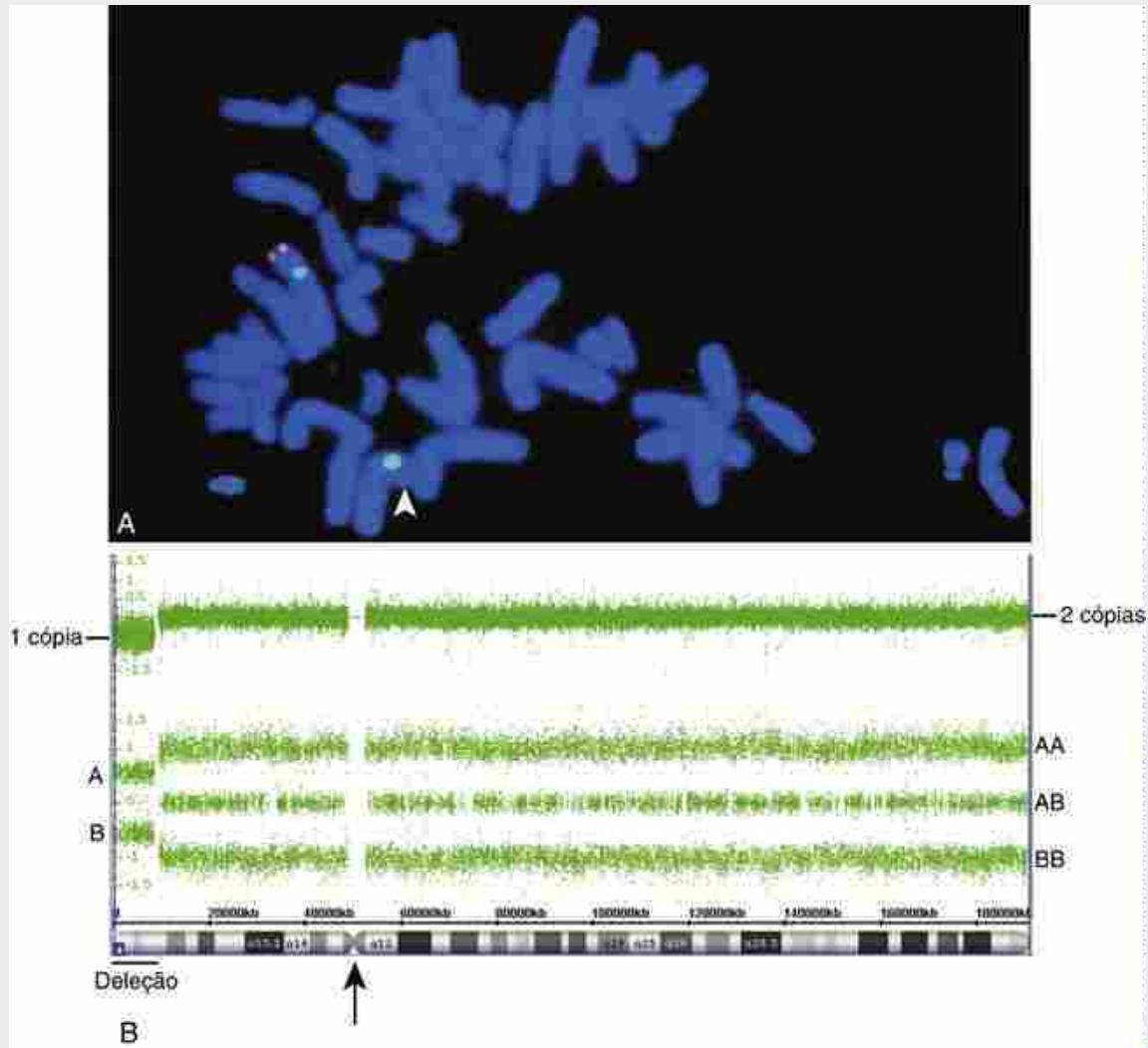


FIGURA 1-10 Deleções ou duplicações cromossômicas não aparentes no bandeamento cromossomial de alta resolução (cariotipagem) podem ser detectadas por meio de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) e/ou *microarray* cromossômica (MAC). A, A deleção 4p16.2 é mostrada usando a FISH nos cromossomas em metáfase. A sonda azul clara marca os centrômeros do par de cromossomas homólogos 4. A sonda vermelha marca as duas cromátides irmãs de uma 4p16.2; essa região é deletada no outro cromossoma 4 (*cabeça de seta branca*; a ponta do cromossoma está dobrada para baixo). B, A mesma deleção mostrada, mas agora pela MAC. Essa tecnologia usa dois tipos de sondas. O primeiro tipo detecta o número de cópias de DNA (dosagem; normalmente entre zero e três cópias, com o normal sendo duas cópias e uma deleção, como nesse exemplo, gerando uma cópia e a duplicação gerando três cópias) por comparação do DNA de pacientes com o controle. O sinal desse tipo de sonda é mostrado no topo, variando de duas cópias do cromossoma (*direita*) para uma cópia na área da deleção (*esquerda*). O segundo tipo de sonda analisa polimorfismo em um único nucleotídeo (SNPs; dos genótipos AA, AB e BB resultando nas três linhas de sinal). Cada ponto esverdeado representa uma sonda de DNA diferente, com sondas múltiplas para todo o comprimento do cromossoma 4 (*abaixo* a marcação do bandeamento do cromossoma 4; a *seta* indica o centrômero). A deleção na 4p16.2 (indicada pela *barra* abaixo do desenho do cromossoma) é percebida pela mudança do número de cópias de sondas, ficando com a dosagem de uma cópia e hemizigose (A ou B, pois apenas uma cópia está presente) em todas as sondas SNP desta mesma região.

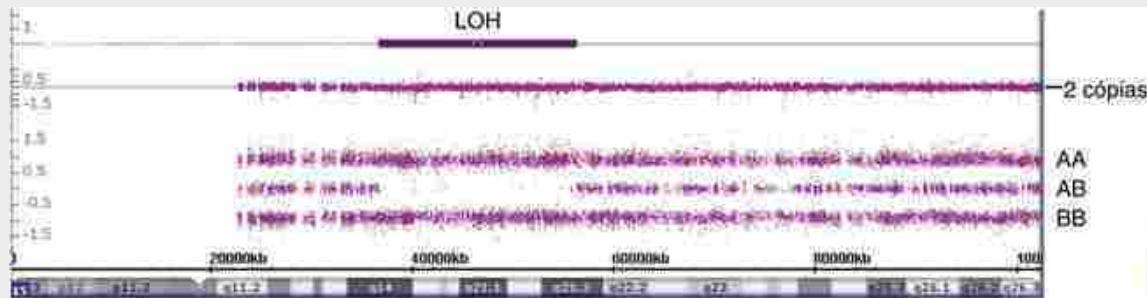


FIGURA 1-11 Microanálise cromossômica (MAC) mostrando perda de heterozigose (LOH) para uma região do cromossoma 11. Esta técnica está indicando duas cópias inteiras do cromossoma, mas o polimorfismo de um único nucleotídeo (SNP) indica perda de heterozigose nas bandas q14-q21.3 (todos os genótipos são AA ou BB para esse intervalo de aproximadamente 20Mb). Esse resultado indica ou herança de um ancestral comum (consanguinidade), ou que as duas cópias do cromossoma 11 são de um único progenitor (uniparental). Os dois casos podem resultar em doença genética (erros recessivos no primeiro e erros de *imprinting* no segundo, por exemplo, síndrome de Prader-Willi ou síndrome de Angelman).

Ovulação

O recomeço da meiose e a ovulação são estimulados pelo surto ovulatório de FSH e LH

Em torno do dia 13 ou do dia 14 do ciclo menstrual (ao final da fase proliferativa do endométrio uterino), níveis de FSH e LH aumentam acentuadamente de maneira súbita (Fig. 1-5). Esse **surto ovulatório** das gonadotrofinas hipofisárias estimulam o ovócito primário do folículo de Graaf maduro a completar a meiose. Essa resposta pode ser observada visualmente cerca de 15 horas após o início do surto ovulatório, quando se rompe a membrana da vesícula germinal dilatada (núcleo) do ovócito (Fig. 1-12A). Em 20 horas, os cromossomas estão alinhados na metáfase e rapidamente começa a divisão celular para formar o ovócito secundário e o primeiro corpo polar (Fig. 1-12B). O ovócito secundário prontamente começa a segunda divisão meiótica que, cerca de 3 horas antes da ovulação, é interrompida na metáfase.

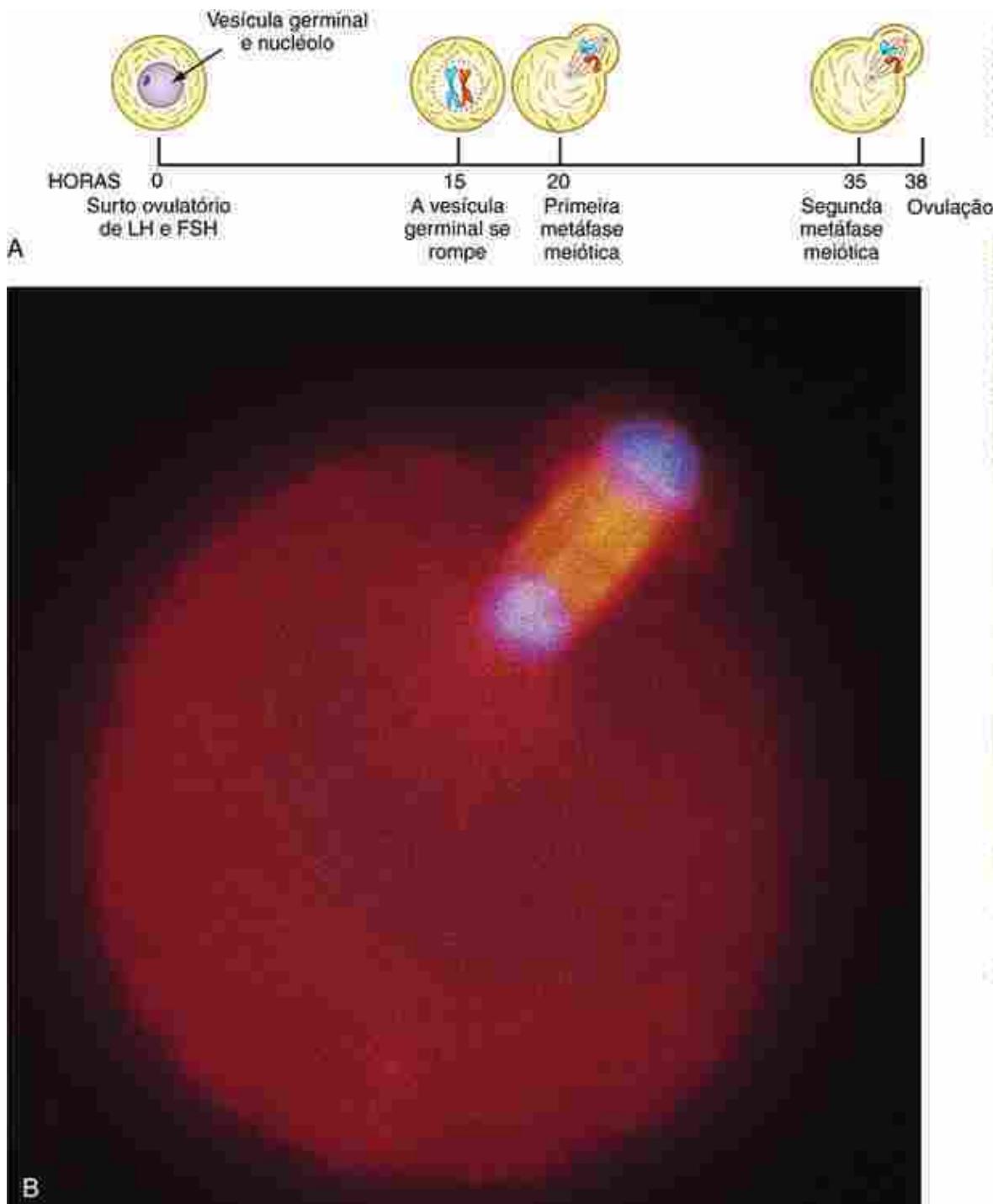


FIGURA 1-12 Eventos meióticos durante o ciclo ovariano. *A*, Tempo dos eventos. *B*, Micrografia do ovócito pré-ovulatório na primeira metáfase meiótica. A célula está marcada com anticorpos fluorescentes específicos para as proteínas do fuso e mostra o aparato excêntrico do fuso e o primeiro corpo polar incipiente.

O *cumulus ooforus* expande-se em resposta ao surto ovulatório

Assim que a vesícula germinal se rompe, as células do *cumulus* que envolvem o ovócito perdem suas junções intercelulares e se desagregam. Como resultado, o ovócito e a massa frouxa de células do *cumulus* se destacam para dentro da cavidade antral. Pelas próximas horas, as células do *cumulus* secretam uma abundante matriz extracelular, que consiste principalmente em ácido hialurônico, que faz com que a massa celular do *cumulus* expanda-se significativamente. Esse processo de **expansão do *cumulus*** desempenha um importante papel em vários processos, incluindo a regulação da progressão meiótica e da ovulação. Adicionalmente, a massa da matriz e as células do *cumulus* nela aprisionadas que acompanham o ovócito ovulado podem desempenhar papéis no transporte do ovócito pelo oviduto, na fertilização e no desenvolvimento inicial do zigoto.

A ovulação depende do rompimento da parede do folículo

O processo de **ovulação** (a expulsão do ovócito secundário do folículo) tem sido comparado a uma resposta inflamatória. A cascata de eventos que culmina na ovulação parece ser iniciada pela secreção de histamina e prostaglandinas, mediadores inflamatórios bem conhecidos. Poucas horas após o surto ovulatório de FSH e LH, o folículo torna-se mais vascularizado e é visivelmente rosa e edematoso em comparação com os folículos não responsivos. O folículo é deslocado para a superfície do ovário, onde forma uma protuberância ([Fig. 1-6A](#)). Com a proximidade da ovulação, a parede projetada do folículo afina, resultando na formação de uma pequena projeção em forma de mamilo denominada **estigma**. Por fim, uma combinação da tensão produzida pelas células musculares na parede do folículo, mais a liberação de enzimas de degradação de colágeno e outros fatores pelos fibroblastos na região, causa a ruptura do folículo. A ruptura do folículo não é explosiva: o ovócito, acompanhado por um grande número de células envoltórias do *cumulus* ligadas à matriz de ácido hialurônico, é lentamente extrudido da superfície do ovário. A ovulação ocorre cerca de 38 horas após o início do surto ovulatório de FSH e LH.

A massa pegajosa formada pelo ovócito e pelo *cumulus* é ativamente retirada da superfície do ovário pela abertura fimbriada do oviduto ([Fig. 1-13](#)). O complexo *cumulus*-ovócito é, então, deslocado pela ampola do oviduto pelo batimento sincronizado dos cílios na parede do oviduto. Dentro da ampola, o ovócito pode permanecer viável por até 24 horas antes de perder sua capacidade de ser fertilizado.

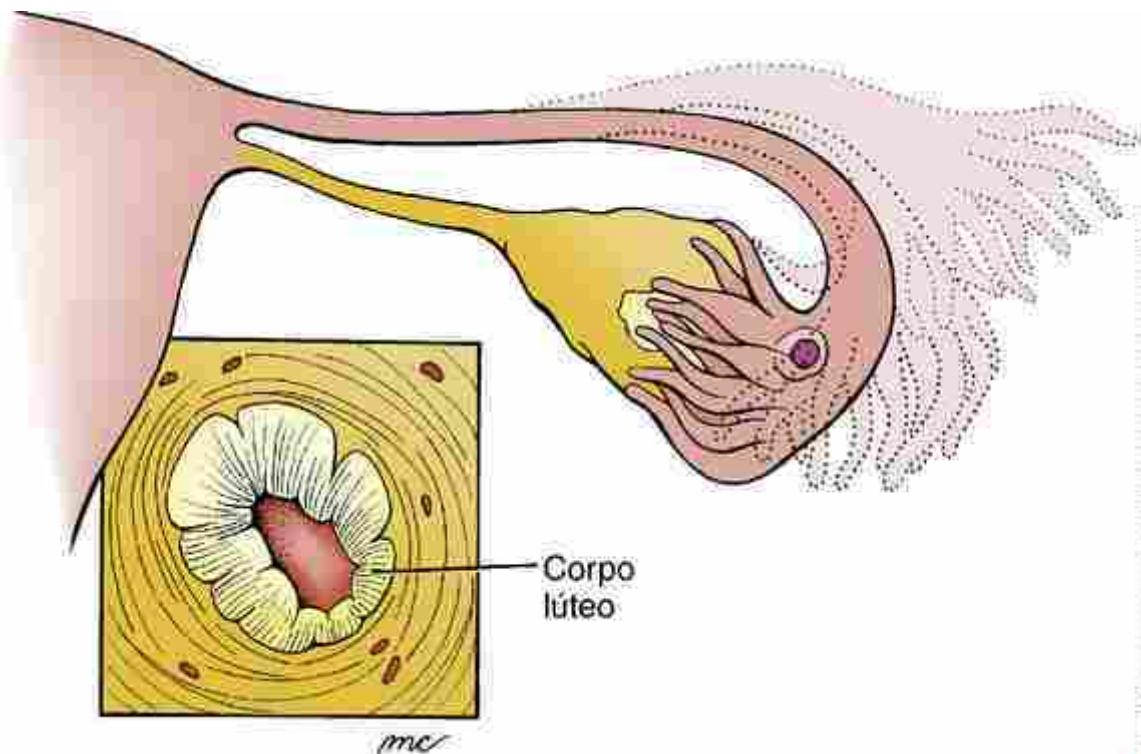


FIGURA 1-13 O ovócito ovulado cola-se à superfície do ovário pelo *cumulus ooforus* gelatinoso e é ativamente raspado e descolado pela boca fimbriada do oviduto. Após a ovulação, a camada rompida da membrana granulosa do folículo prolifera para formar o corpo lúteo endócrino.

A ruptura do folículo gera o corpo lúteo endócrino

Após a ovulação, as células da membrana granulosa da parede do folículo rompido começam a proliferar e dão origem às **células luteínicas** do **corpo lúteo** ([Figs. 1-6](#) e [1-13](#)). Como descrito posteriormente, o corpo lúteo é uma estrutura endócrina que secreta hormônios esteroides para manter o endométrio uterino em condições de receber um embrião. Se um embrião não se implantar no útero, o corpo lúteo degenerará após 14 dias e será convertido em uma estrutura de cicatriz denominada *corpus albicans*.

Ciclo menstrual

Iniciando suas atividades por volta do quinto dia do ciclo menstrual, as células da teca e foliculares dos folículos responsivos secretam esteroides denominados **estrógenos**. Esses hormônios, por sua vez, levam o endométrio de

revestimento uterino a proliferar e a se remodelar. Essa **fase proliferativa** começa em torno do quinto dia do ciclo e se completa por volta do décimo quarto dia ([Fig. 1-5](#)).

Após ocorrer a ovulação, as células da teca na parede do corpo lúteo continuam a secretar estrógenos, e as **células luteínicas** que se diferenciam das células foliculares remanescentes também começam a secretar altos níveis de um hormônio do tipo esteroide, a **progesterona**. A progesterona luteínica estimula a camada endometrial uterina a se espessar ainda mais, a formar glândulas espiraladas e a aumentar a vascularização. A menos que um embrião se implante no revestimento uterino, essa **fase secretora** da diferenciação endometrial dura cerca de 13 dias ([Fig. 1-5](#)). Nesse ponto (próximo ao final do ciclo menstrual), o corpo lúteo diminui e os níveis de progesterona decrescem. O endométrio espessado, que é dependente de progesterona, degenera e começa a se desprender. A **fase menstrual**, que dura de 4 a 5 dias, na qual o endométrio é descartado (junto com cerca de 35 mL de sangue e o ovócito não fertilizado), é, por convenção, considerada o início do próximo ciclo.

Fertilização

Se espermatozoides viáveis encontram um ovócito ovulado na ampola do oviduto, eles o cercam e começam a abrir caminho através da massa do *cumulus* ([Fig. 1-14A](#)). Evidências *in vitro* sugerem que o folículo ovulado contenha um **fator quimiotrófico do espermatozoide** ainda desconhecido e que somente espermatozoides capacitados estejam aptos a responder a esse fator, nadando diretamente em direção ao ovócito. Com base nisso, pode-se dizer que o espermatozoide humano considera o ovócito humano “atrativo” (trocadilho intencional).

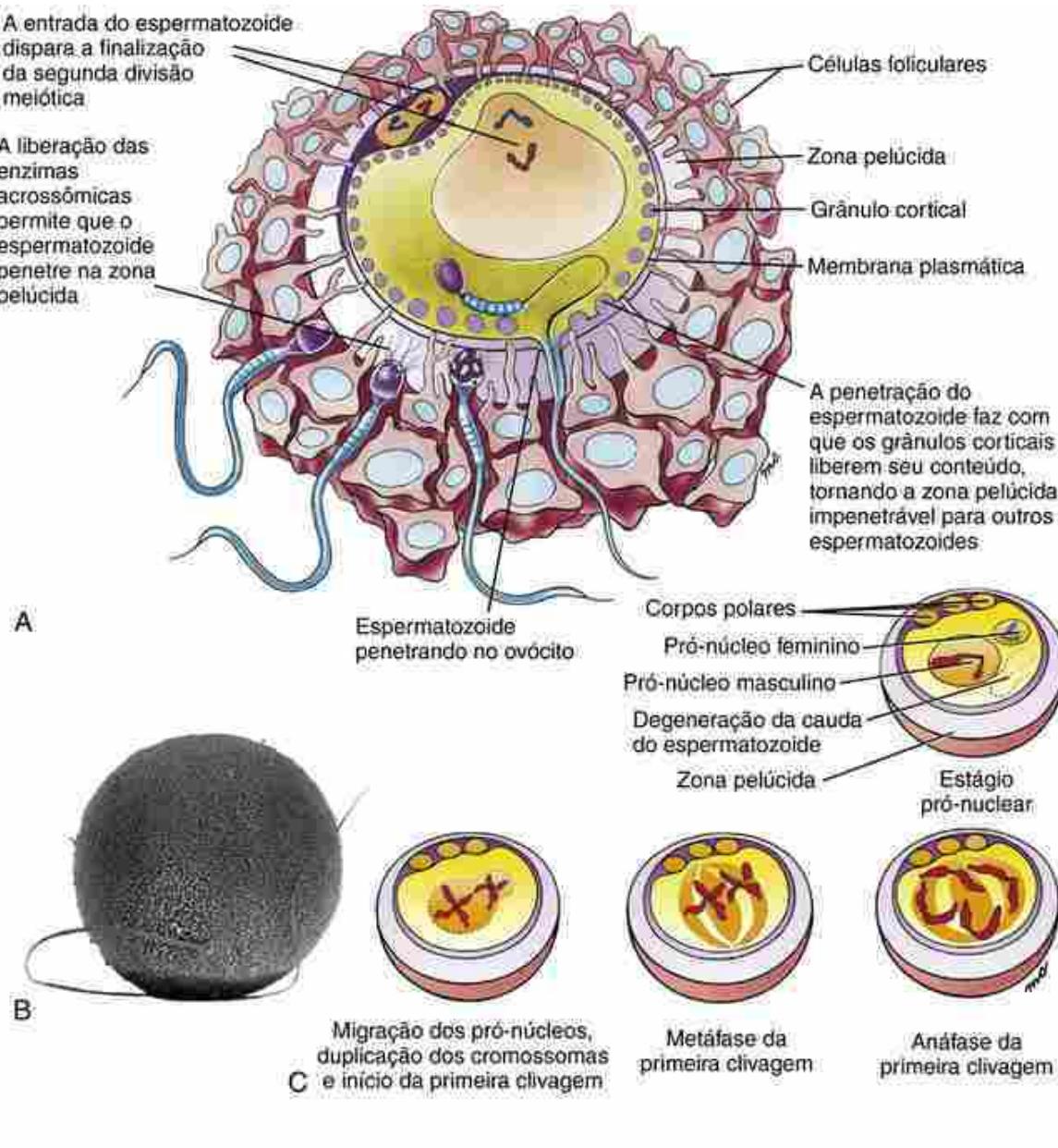


FIGURA 1-14 Fertilização. A, O espermatozoide se contorce através da massa do *cumulus* e libera suas enzimas acrossônicas quando em contato com a zona pelúcida. As enzimas acrossônicas dissolvem a zona pelúcida e permitem que o espermatozoide alcance o ovócito. Simultaneamente à fusão das membranas do espermatozoide que está fertilizando o ovócito, grânulos corticais do ovócito liberam seu conteúdo, que faz com que a zona pelúcida se torne impenetrável a outros espermatozoides. A entrada do núcleo do espermatozoide no citoplasma estimula o ovócito a completar a segunda divisão meiótica. B, Micrografia eletrônica de varredura mostrando um espermatozoide humano fusionando-se com um ovócito de *hamster* desnudado da sua zona pelúcida. A habilidade de um espermatozoide de homem de penetrar em um ovócito de *hamster* desnudado é frequentemente usada como teste clínico da atividade do esperma. C, Eventos iniciais no desenvolvimento do zigoto. Após o ovócito completar a meiose, o pró-núcleo feminino e o grande pró-núcleo masculino aproximam-se, enquanto o DNA se duplica nos cromossomas maternos e paternos, iniciando a primeira divisão mitótica. As membranas dos pró-núcleos se rompem e os cromossomas maternos e paternos se unem na placa metafásica. Os centrômeros então replicam-se, e os cromossomas homólogos são distribuídos para as duas primeiras células do embrião.

Quando um espermatozoide alcança a zona pelúcida que circunda o ovócito, ele se liga através de uma ligação específica para a espécie (*i. e.*, humana), através de uma molécula receptora do esperma para glicoproteínas da zona (ZP3, uma das três glicoproteínas constituintes da zona pelúcida). A ligação à ZP3 é mediada por uma proteína de superfície do esperma denominada SED1. Adicionalmente, a ligação dos espermatozoides humanos envolve uma sequência de moléculas de carboidratos, denominada *sialyl-Lewis^x*, no final dos oligossacarídeos das proteínas ZP. Como resultado dessa ligação, o acrosoma é induzido a liberar enzimas de degradação que permitem que o espermatozoide penetre na zona pelúcida. Quando o espermatozoide penetra com sucesso na zona pelúcida e alcança o ovócito, as membranas celulares das duas células se fundem (Fig. 1-14A,B). A tetraspanina do ovo (uma proteína

transmembranar de quatro passagens), CD9, é requerida para esse evento, assim como uma proteína específica do espermatozoide denominada IZUMO, em homenagem ao santuário japonês para o casamento (IZUMO é um membro da superfamília das imunoglobulinas e, como tal, é provável que seja uma molécula de adesão). Outros fatores implicados na fusão são membros da superfamília ADAM (todos os 30 membros, ou quase todos, da família contêm uma desintegrina e um domínio de metaloprotease). A FERTILINA β , também conhecida como ADAM2, está presente na superfície dos espermatozoides dos mamíferos e interage com uma integrina (integrinas são discutidas no Cap. 5) na superfície do ovócito. A fusão das membranas imediatamente leva à ocorrência de dois eventos: a formação de uma onda de cálcio que se irradia através da superfície do ovo, a partir do ponto de contato do espermatozoide, e a liberação do conteúdo de milhares de pequenos **grânulos corticais** que estavam localizados logo abaixo da membrana celular do ovócito, para dentro do **espaço perivitelínico**, entre o ovócito e a zona pelúcida. Esses dois eventos alteram as moléculas receptoras do espermatozoide, fazendo com que a zona se torne impenetrável para outros espermatozoides. Portanto, essas alterações evitam a **poliespermia** ou a fertilização do ovócito por mais de um espermatozoide. Como algumas poucas centenas de espermatozoides atingem os arredores do ovócito, é extremamente importante bloquear a poliespermia.

A fusão da membrana celular do espermatozoide com a membrana do ovócito também leva o ovócito a terminar a meióse. O ovócito completa a segunda metáfase meiótica e rapidamente prossegue através da anáfase, telófase e citocinese, produzindo outro corpo polar. Se ignorada a presença do espermatozoide, o ovócito é então um **ovócito definitivo** (considerando-se somente o genoma do ovócito, ele contém, após o término da segunda divisão meiótica, um complemento haploide de cromossomas e uma quantidade de DNA 1N). Contudo, como o espermatozoide penetra no ovócito, o ovócito fertilizado também pode ser denominado **zigoto** (do grego *zygotos*, acoplado). Embora um único núcleo (envolto por uma membrana nuclear) contendo os cromossomas do ovócito e do espermatozoide não se forme no zigoto (ver o próximo parágrafo e as *Figs. 1-14C* e *1-15*), se forem considerados os genomas do ovócito e do espermatozoide, o zigoto contém um complemento de cromossomas diploide e uma quantidade de DNA 2N.

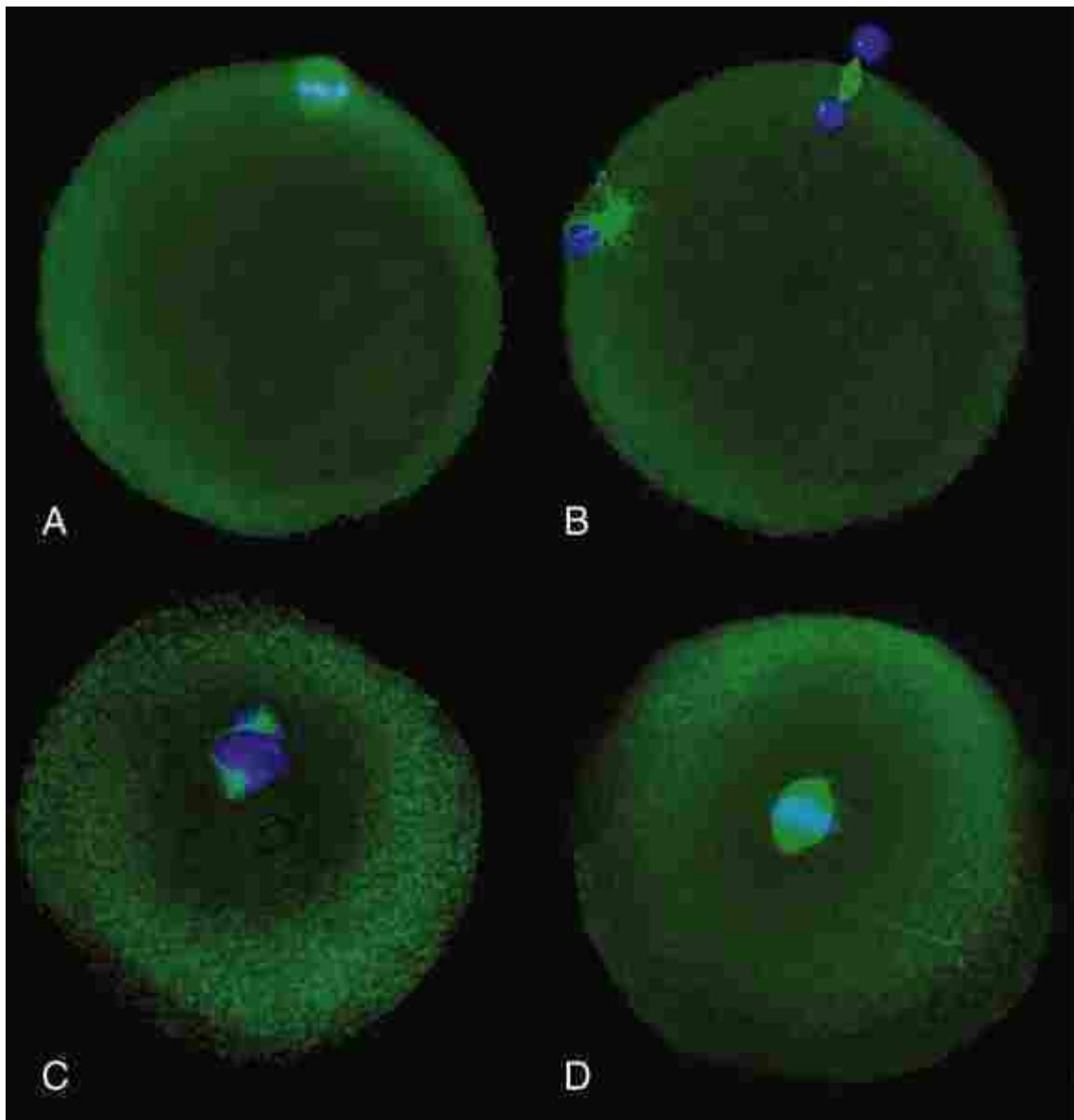


FIGURA 1-15 Fertilização de ovócitos humanos *in vitro*. A, A primeira divisão meiótica ocorreu, formando o primeiro corpo polar e o ovócito secundário. B, A segunda divisão meiótica é completada após o espermatozoide ter entrado no ovócito. Isso resulta na formação do segundo corpo polar e do pró-núcleo feminino. O pró-núcleo masculino e os microtúbulos em condensação ao seu redor se localizam na posição de 9 horas. C, O centríolo do espermatozoide se dividiu em dois centríolos, que estão organizando os fusos associados aos cromossomos misturados dos pró-núcleos masculino e feminino. D, Os cromossomas do espermatozoide e do ovócito estão alinhados na placa metafásica.

Após a penetração do ovócito pelo espermatozoide, os núcleos de ambos aumentam dentro do zigoto e são denominados **pró-núcleo feminino** e **pró-núcleo masculino**, respectivamente (Figs. 1-14C e 1-15). Suas membranas nucleares desaparecem rapidamente quando os cromossomos maternos e paternos são replicados na preparação para a primeira clivagem (próxima seção).

Clivagem

A clivagem subdivide o zigoto sem aumentar seu tamanho

Até 24 horas após a fertilização, o zigoto inicia uma rápida série de divisões celulares mitóticas denominadas **clivagem** (Fig. 1-16). Essas divisões não são acompanhadas por crescimento celular, então elas subdividem o grande zigoto em várias células-filhas menores denominadas **blastômeros**. O embrião como um todo não aumenta em tamanho durante a clivagem e permanece envolto pela zona pelúcida. A primeira divisão de clivagem divide o zigoto para produzir duas células-filhas. A segunda divisão, que se completa por volta de 40 horas após a fertilização, produz quatro blastômeros iguais. Em 3 dias, o embrião consiste em 6 a 12 células, e, em 4 dias, consiste em 16 a 32 células. O

embrião nesse estágio é denominado **mórula** (do latim *morum*, amora).

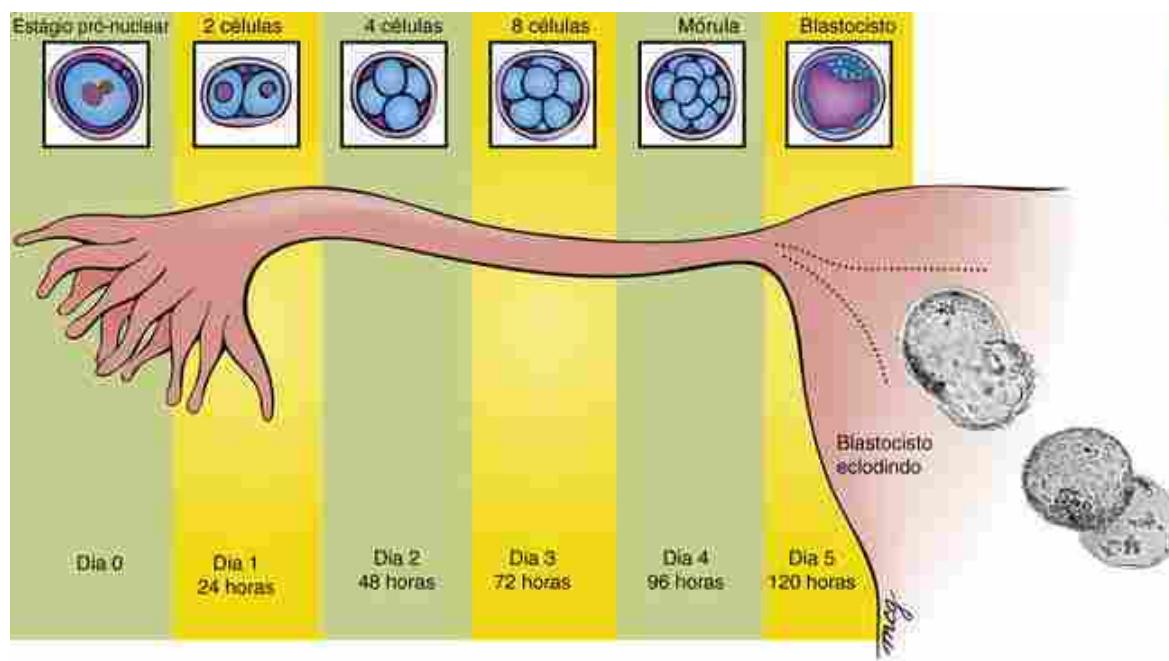


FIGURA 1-16 Clivagem e transporte através da tuba uterina. A fertilização ocorre na ampola da tuba uterina. Durante os primeiros 5 dias, o zigoto sofre clivagens enquanto se desloca através da tuba uterina e entra no útero. No dia 5, o blastocisto eclode da zona pelúcida e então está apto a se implantar no endométrio uterino.

A segregação dos blastômeros em precursores do embrioblasto e do trofoblasto

As células da mórula darão origem não somente ao embrião propriamente dito e suas membranas extraembrionárias associadas, mas também à parte da placenta e suas estruturas associadas. As células que seguirão essas vias diferentes de desenvolvimento são segregadas durante a clivagem. A partir do estágio com oito células, os blastômeros originalmente redondos e fracamente aderentes começam a se achatar, desenvolvendo uma polaridade interior-exterior que maximiza o contato entre os blastômeros adjacentes (Fig. 1-17). Como uma adesão diferencial se desenvolve, as superfícies externas das células tornam-se convexas e suas superfícies internas tornam-se côncavas. Essa reorganização, denominada **compactação**, também envolve alterações no citoesqueleto do blastômero.

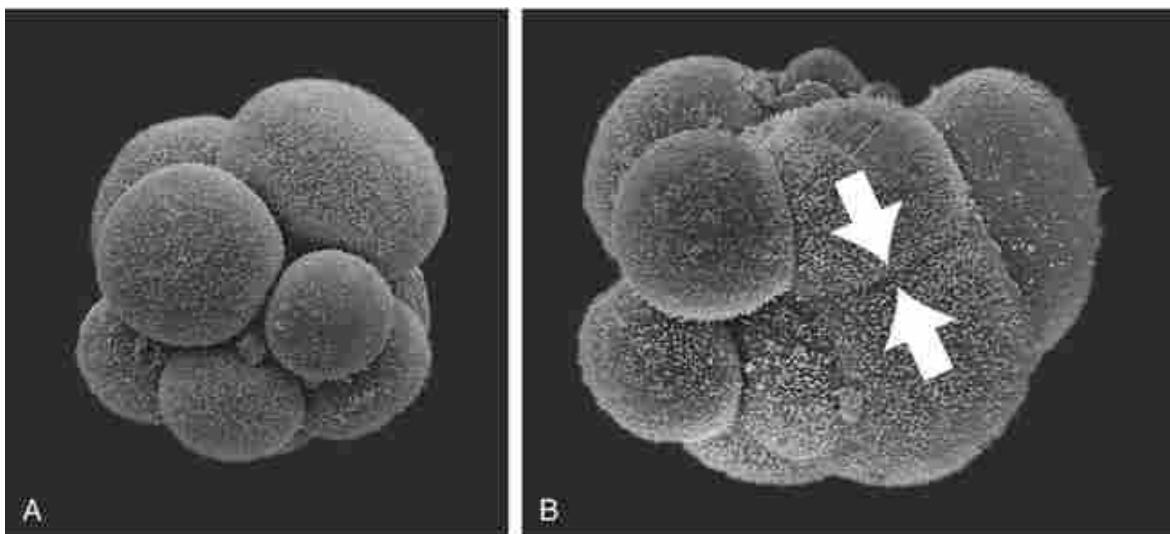


FIGURA 1-17 Compactação. *A*, Micrografia eletrônica de varredura de um embrião humano com 10 células antes da compactação. Note as fendas intercelulares profundas. *B*, Micrografia eletrônica de varredura de um embrião humano de 10 células durante o processo de compactação. Note a ausência de fendas intercelulares profundas entre alguns dos blastômeros (setas). A zona pelúcida foi removida mecanicamente de ambos os embriões.

Com a compactação, alguns blastômeros se segregam para o centro da mórula e outros para a parte externa. Os blastômeros localizados centralmente são agora denominados **massa celular interna**, enquanto os blastômeros da periferia constituem o **trofoblasto**. Como a massa celular interna dá origem ao embrião propriamente dito, ela também é denominada **embrioblasto**. O **trofoblasto** é a fonte primária do componente fetal da placenta (discutido no [Cap. 2](#)).

No Laboratório de Pesquisa

O que determina se um blastômero formará massa celular interna ou trofoblasto?

A hipótese “interna-externa” explica a diferenciação dos blastômeros com base na sua posição, tanto em massa celular interna quanto em trofoblasto – as células mais centrais da mórula tornam-se massa celular interna e as células da periferia da mórula tornam-se trofoblasto. Mas como ocorre essa diferenciação? No estágio de mórula, dois fatores de transcrição (fatores de transcrição são discutidos no [Cap. 5](#)) são expressos uniformemente por todos os blastômeros: Oct4 (discutido anteriormente no capítulo) e nanog (um fator de transcrição que contém homeobox). Enquanto a massa celular interna e o trofoblasto se formam, a expressão do Oct4 e do nanog é mantida pela massa celular interna, mas ambas estão desativadas no trofoblasto. Experimentos de perda de função mostram que o comprometimento das células da linhagem da massa celular interna requer a expressão desses dois fatores de transcrição. Outro fator de transcrição, Cdx2 (assim como o nanog, também é um fator de transcrição que contém homeobox), é expresso no trofoblasto enquanto ele se forma, assim como o fator de transcrição que contém Tbox, o eomes (também denominado eomesodermina). Experimentos de perda de função mostram que a expressão desses fatores inibe a expressão de Oct4 e nanog. Coletivamente, esses estudos demonstram que ambas as expressões de Oct4 e nanog na massa celular interna e a repressão da expressão desses dois fatores de transcrição no trofoblasto são necessárias para o primeiro evento de diferenciação ostensiva que ocorre na mórula. Por fim, a massa celular interna também expressa Sox2, um fator que contém HMG box proximamente aparentado ao SRY (discutido no [Cap. 16](#)). Experimentos têm mostrado que Sox2 e Oct4 regulam a expressão da proteína Fgf4 na massa celular interna, que é necessária para a diferenciação do trofoblasto. Logo, ocorrem interações celulares entre as duas populações nascentes de células e isso é essencial para especificar seus destinos.

A mórula desenvolve uma cavidade preenchida por fluido e é transformada em blastocisto

Por volta do quarto dia do desenvolvimento, a mórula contém cerca de 30 células e começa a absorver fluido. Vários processos parecem estar envolvidos. Primeiro, ao longo da diferenciação do trofoblasto ele se agrupa em um epitélio no qual as células adjacentes estão fortemente aderidasumas às outras. Essa adesão resulta da deposição de **E-CADERINA** nas superfícies laterais das células, uma molécula de adesão celular dependente de cálcio. Também

depende da formação de junções intercelulares, especificamente **junções de oclusão**, **junções comunicantes**, **junções de adesão e desmossomas**. Segundo, as células do trofoblasto em formação expressam uma ATPase transmembrânica de sódio/potássio polarizada basalmente (uma bomba de troca iônica dependente de energia), permitindo que elas transportem e regulem a troca dos metabólitos entre o exterior da mórula (*i. e.*, o ambiente materno do oviduto) e o interior da mórula (*i. e.*, em direção à massa celular interna). A ATPase de sódio/potássio bombeia sódio para o interior da mórula, e a água segue através da osmose, tornando-se o fluido blastocístico. Quando a pressão hidrostática do fluido aumenta, forma-se, dentro da mórula, uma grande cavidade denominada **cavidade blastocística (blastocèle)** ([Fig. 1-16](#)). As células do embrioblasto (massa celular interna) formam então uma massa compacta em um dos lados dessa cavidade, e o trofoblasto se organiza em um delgado epitélio simples. O embrião é então denominado **blastocisto**. O lado do blastocisto que contém a massa celular interna é denominado **polo embrionário** do blastocisto e o lado oposto é denominado **polo abembrionário**.

Final da primeira semana: início da implantação

O blastocisto eclode da zona pelúcida antes da implantação

A mórula alcança o útero entre o 3º e o 4º dia de desenvolvimento. Por volta do quinto dia, a ação de enzimas cria uma abertura na zona pelúcida e o blastocisto eclode espremendo-se através dela para fora ([Fig. 1-16](#)). O blastocisto está agora desprovido de seu revestimento original e pode interagir diretamente com o endométrio.

Logo após a sua chegada ao útero, o blastocisto adere firmemente ao revestimento uterino ([Fig. 1-18](#)). As células adjacentes do estroma endometrial respondem a essa presença e à progesterona secretada pelo corpo lúteo, diferenciando-se em células secretoras metabolicamente ativas denominadas **células deciduais**. Essa resposta é denominada **reação decidual** (discutida no [Cap. 6](#)). As glândulas endometriais na vizinhança também aumentam e a parede uterina local torna-se altamente vascularizada e edematosas. Sabe-se que as secreções das células deciduais e das glândulas endometriais incluem fatores de crescimento e metabólitos que sustentam o crescimento do embrião em implantação.

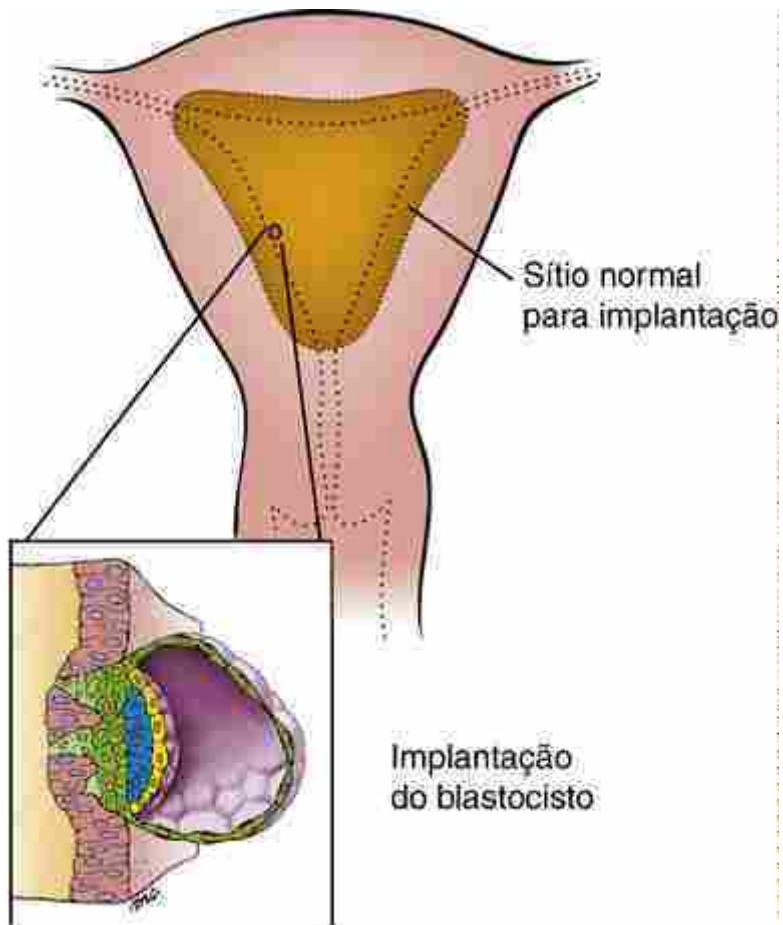


FIGURA 1-18 Implantação. Por volta de 6,5 dias após a fertilização, as células do trofoblasto no polo embrionário do blastocisto proliferam e produzem o sinciciotrofoblasto, que é capaz de invadir o revestimento uterino. A área amarela indica sítios normais de implantação na parede uterina e a imagem aumentada mostra um blastocisto em implantação.

O revestimento uterino é mantido em um estado favorável, e um dos motivos que impedem sua perda é a progesterona secretada pelo corpo lúteo. Na ausência de um embrião implantado, o corpo lúteo normalmente degenera após cerca de 13 dias. Contudo, se um embrião se implantar, células do trofoblasto produzirão o hormônio **gonadotrofina coriônica humana (hCG)**, que mantém o corpo lúteo e, assim, também o suprimento de progesterona (**reconhecimento materno da gravidez**). O corpo lúteo continua a secretar esteroides sexuais por cerca de 11 a 12 semanas do desenvolvimento embrionário, e depois disso a placenta começa a secretar grandes quantidades de progesterona e o corpo lúteo involui lentamente, tornando-se o *corpus albicans*.

A implantação em locais anormais resulta em gravidez ectópica

Ocasionalmente um blastocisto se implanta na cavidade peritoneal, na superfície do ovário, dentro do oviduto ou em locais anormais no útero. O epitélio nesses locais anormais responde à implantação do blastocisto com um aumento da vascularização e outras alterações de suporte, o que faz com que o blastocisto esteja apto a sobreviver e a começar a se desenvolver. Essas **gravidezes ectópicas** geralmente ameaçam a vida da mãe, porque os vasos sanguíneos que se formam em locais anormais são propensos a sofrer rupturas como resultado do crescimento do embrião e da placenta. Tipicamente, a gravidez ectópica é revelada por sintomas de dor abdominal e/ou sangramento vaginal. Normalmente, é necessário o uso de droga (metiltrexato, que bloqueia a divisão celular) ou intervenção cirúrgica para interromper a gravidez.

Na Clínica

Contracepção

A Eficiência Reprodutiva Humana é Muito Alta

Um casal comum que não usa métodos contraceptivos e que tem relações duas vezes por semana (em tempos

aleatórios em relação à ovulação) tem mais de 50% de chance de ter um dado ovócito fertilizado. Como cerca da metade de todos os embriões sofre aborto espontâneo (como discutido anteriormente), a chance de uma relação no mês produzir uma gravidez a termo, portanto, está acima de 25%. Humanos saudáveis têm uma eficiência reprodutiva estarrecedora; não é raro um casal que não usa métodos contraceptivos produzir 10 a 20 descendentes em toda a vida reprodutiva.

Na história humana, a contracepção tem desempenhado um papel importante no planejamento familiar. Algumas das formas mais antigas são simples **barreiras contraceptivas**, e estes métodos continuam entre os mais frequentemente usados até hoje. A pesquisa contraceptiva atual foca em estratégias de desenvolvimento que interferem com muitos dos mecanismos fisiológicos discutidos anteriormente neste capítulo que são necessários para uma concepção bem-sucedida.

As Barreiras Contraceptivas Evitam que o Espermatozoide Alcance o Ovócito

Um dos dispositivos de contracepção mais antigos é o **preservativo masculino**. Originalmente feito da bexiga de animais ou do ceco de carneiros, agora é feito de látex, geralmente combinado a um espermicida químico. O preservativo masculino é colocado sobre o pênis ereto logo antes da relação. O **preservativo feminino** é uma bainha de poliuretano que é inserida para revestir completamente a vagina, assim como a área do períneo. O uso de ambas as camisinhos, feminina e masculina, pode ajudar a evitar a dispersão de **doenças sexualmente transmissíveis (DSTs)**. Outros dispositivos de barreira, como o **diafragma** e o **capuz cervical**, são inseridos na vagina para cobrir o colo e são geralmente usados em conjunto com um espermicida. Esses devem ser prescritos por um médico, para determinar o tamanho apropriado. A **esponja contraceptiva** é um disco de esponja de poliuretano impregnado com espermicida que também bloqueia o colo. Sua vantagem sobre o diafragma e o capuz cervical é que a esponja não precisa ser prescrita individualmente por um médico, porque seu tamanho é apropriado para todos.

Pílulas Anticoncepcionais Previnem a Ovulação

O conhecimento do controle endócrino da ovulação levou à introdução da pílula anticoncepcional (“a Pílula”) no início dos anos 1960. Essas pílulas iniciais liberavam uma dose diária de estrogênio, que inibia a ovulação por meio da inibição da secreção dos hormônios gonadotróficos FSH e LH da pituitária. Nas pílulas modernas, a dosagem de estrogênio foi reduzida e o análogo da progesterona, a **progестина**, foi adicionada. As doses de estrogênio e progesterona geralmente são variadas durante um ciclo de 21 dias. Embora a função normal da progesterona seja manter a gravidez através de seu efeito no endométrio, ela também interfere na liberação de FSH e LH, logo, evitando a ovulação. Além disso, evita que o muco cervical entre na fase mediana do ciclo, momento no qual ele se torna mais fino e diluído (o que permite que o espermatozoide passe por ele mais facilmente), evita que o endométrio se espesse (preparando-se para a implantação) e pode também interferir no transporte do ovócito através do oviduto ou com a capacitação do espermatozoide.

Fontes Injetadas ou Implantadas de Progesterona Liberam uma Dose Antiovulatória Crônica

Uma **formulação** de acetato de medroxiprogesterona (Depo-Provera[®]) pode ser injetada intramuscularmente e irá liberar níveis antiovulatórios do hormônio por 2 a 3 meses. Alternativamente, têm sido desenvolvidos bastões ou cápsulas (Norplant[®] ou Implanon[®]) que são implantados subdermicamente e liberam uma forma sintética de progesterona (progестина) por um período de 1 a 5 anos. Outra alternativa é o adesivo hormonal (Ortho Evra[®]), que pode permanecer no lugar por 1 semana, liberando tanto progesterona quanto estrogênio transdermicamente. Outros dispositivos atuam liberando o hormônio no trato reprodutivo feminino, em vez da corrente sanguínea. **Dispositivos intrauterinos** que contêm progesterona (DIUs) emitят níveis baixos de progesterona por um período de 1 a 4 anos. **Anéis vaginais** são inseridos e removidos pelas usuárias e, quando colocados ao redor do colo, liberam progesterona continuamente por 3 meses.

DIUs sem Medicamentos Podem Interferir na Concepção através de Efeitos no Espermatozoide e no Ovócito

O mecanismo pelo qual os DIUs sem medicamentos em forma de alça ou em T evitam a concepção quando inseridos no útero não está claro. Originalmente, acreditava-se que eles agiam irritando o endométrio, o que resultaria em uma reação inflamatória que evitaria a implantação do conceito. Pelo fato de algumas pessoas acreditarem que evitar a implantação do embrião seja um aborto (enquanto outros acreditam que um aborto envolve a remoção de um embrião que já esteja implantado), este mecanismo de ação potencial cria preocupações éticas para algumas pessoas. Agora, sabe-se que os DIUs atuam principalmente pela inibição da migração do espermatozoide, transporte do ovócito e fertilização, em vez de impedir a implantação.

O uso do DIU decaiu vertiginosamente na última parte do século 20 por causa do Dalkon Shield, um DIU que causou um grande número de infecções pélvicas e algumas mortes. Foi removido do mercado em meados dos anos 1970, depois de ter sido associado a problemas de infecções em uma geração de mulheres. Contudo, o uso do DIU está aumentando no século 21.

O Composto RU-486 Antiprogestina é um Abortivo

O RU-486 (mifepristona) tem uma atividade antiprogestônica potente (sua afinidade pelos receptores de progesterona é cinco vezes maior do que a da progesterona endógena) e pode estimular também a síntese de prostaglandinas. Quando tomado até 8 semanas após a última menstruação, uma dose adequada de RU-486 irá iniciar a menstruação. Se um conceito estiver presente, ele será descartado juntamente à decídua do endométrio. Um estudo francês em larga escala, no qual o RU-486 foi administrado junto a um análogo de prostaglandina, alcançou taxa de eficiência de 96%.

O Plano B ou Pílula do Dia Seguinte não é um Abortivo como é Frequentemente Considerado

O **Plano B**, também denominado **pílula do dia seguinte**, contém a progestina levonogesterol, um hormônio sintético usado nas pílulas anticoncepcionais por mais de 40 anos. Atualmente, nos Estados Unidos, ele pode ser obtido em todo o país (*i. e.*, sem prescrição) por mulheres a partir de 17 anos. Ao contrário do RU-486, o Plano B não causará um aborto espontâneo. Ao invés disso, ele parece evitar a ovulação de um ovócito ou a sua fertilização, dependendo de onde a mulher esteja no seu ciclo quando houver o ocorrido. Como o Plano B não interrompe uma gravidez após a implantação ter ocorrido, ele é mais eficaz se usado logo após a relação sem proteção.

A Esterilização é Usada por Cerca de um Terço dos Casais Americanos

A esterilização do parceiro masculino (**vasectomia**) ou da parceira feminina (**ligadura dos ovidutos**) é um método efetivo de contracepção e é geralmente escolhido por pessoas que não querem mais filhos. Contudo, ambos os métodos envolvem cirurgia e nenhum dos dois é seguramente reversível. Recentemente, uma opção não cirúrgica foi desenvolvida para mulheres. Nesse procedimento, denominado Essure, um dispositivo em espiral é inserido pela cérvix uterina e colocado dentro de cada oviduto usando anestesia local. O dispositivo irrita o oviduto pelos próximos 3 meses, causando uma cicatriz ao redor do dispositivo, criando um tampão que bloqueia a passagem do espermatozoide. Assim como a ligadura, o processo de bloqueio pode ser considerado permanente.

O Quão Efetiva é a Contracepção?

A esterilização e o uso de contraceptivos hormonais (como a pílula) têm uma probabilidade anual de gravidez que vai de 1% a 5%, enquanto a contracepção por barreira é menos efetiva: o uso do preservativo masculino tem uma probabilidade anual de gravidez de cerca de 15% – equivalente à da tabelinha (planejamento familiar natural), método no qual o casal pratica a abstinência nos dias antes, durante e após o tempo esperado da ovulação; e o uso do diafragma tem uma probabilidade anual de gravidez de cerca de 25% – equivalente à prática do método de retirada (interrupção do coito).

Em 2020, cerca de 16% da população mundial, ou cerca de 1,2 bilhão de pessoas, entrarão em seus períodos reprodutivos, o que aumentará a necessidade do desenvolvimento de métodos contraceptivos melhores. Embora novas abordagens venham sendo testadas, regulamentações rígidas do governo e preocupações sobre a responsabilidade civil e rentabilidade (especialmente porque a maior demanda por produtos ocorrerá em países pobres) vêm impedindo a maioria das companhias de se empenhar em desenvolver novos produtos contraceptivos. A pesquisa de contraceptivos teve seu apogeu nos anos 1950 e 1960, o que resultou em um grande avanço, o desenvolvimento das pílulas anticoncepcionais. Contudo, avanços similares não ocorreram desde então e as alternativas de contraceptivos continuam muito limitadas.

Abordagens Contraceptivas para Homens

Quando a pílula anticoncepcional foi introduzida, os homens tinham somente duas escolhas de contracepção: preservativos e vasectomia. Cinquenta anos mais tarde, essas ainda são as únicas escolhas. O sucesso com uma pílula anticoncepcional masculina foi alcançado nos anos 1950 com uma droga denominada WIN 18,446. Quando testada em prisioneiros, ela pareceu ser eficaz em bloquear o desenvolvimento do espermatozoide sem efeitos colaterais significantes, mas quando mudaram para os estudos clínicos, os homens que a tomavam ficaram doentes, exibindo visão embaçada, vômito, dores de cabeça e suor. Quais foram as causas desses efeitos? Intereração com o álcool, que foi usado pela população do estudo clínico, mas foi proibido nos prisioneiros.

Apesar de muitos obstáculos, os estudos de novos métodos contraceptivos lentamente avançam. Por exemplo, recentemente estudos em um modelo animal mostraram sucesso no desenvolvimento de um composto, denominado JQI, que torna o macho do camundongo infértil sem afetar seu nível de testosterona ou outros níveis hormonais. Além disso, a parada da administração do composto permite que a fertilidade retorne rapidamente. O JQI bloqueia a função da BRDT, uma proteína essencial para o desenvolvimento do espermatozoide. O JQI é um dos vários compostos que está sendo considerado para reaproveitamento de droga. Originalmente desenvolvido como um agente cancerígeno para alvejar uma proteína relacionada à BRDT (denominada BRD4), o JQI mostrou não ter efeitos colaterais significantes e um novo potencial para seu uso está sendo explorado. Antes de os estudos clínicos começarem em homens saudáveis, será necessário desenvolver uma versão mais específica do composto para atuar exclusivamente nos testículos.

Adicionalmente ao desenvolvimento de uma pílula anticoncepcional masculina para bloquear o

desenvolvimento do espermatozoide, outras estratégias para o desenvolvimento de contraceptivos masculinos estão sendo exploradas, com base nos avanços do entendimento da fisiologia reprodutiva humana. Isso inclui o bloqueio dos canais deferentes com tampões que podem ser removidos mais tarde, se desejado (cirurgicamente ou por dissolução); interferência na contração muscular dos ductos deferentes pela obstrução do tubo, resultando em um “orgasmo seco”; uso de uma roupa íntima especial para aumentar a temperatura dos testículos, a fim de inibir a produção dos espermatozoides; e inibição da sua motilidade para evitar sua chegada ao ovócito após a ejaculação.

Tecnologia de reprodução assistida

Cerca de um em seis casais tem dificuldade para engravidar por conta própria. Em cerca de 30% dos casos a mulher é infértil, em cerca de 30% os homens são inférteis, e em aproximadamente 30% tanto o homem quanto a mulher são inférteis. Nos outros 10% dos casos não se sabe se o homem ou a mulher (ou ambos) são inférteis. Estima-se que cerca de 90% dos casais inférteis possam conceber com intervenção médica. Uma variedade de opções médicas está disponível para ajudar os casais a conceber, incluindo inseminação artificial (AI) e terapias hormonais, que são os procedimentos mais comuns. Técnicas *in vitro* também podem ser usadas para ajudar na reprodução. Essas técnicas são conhecidas como **tecnologia de reprodução assistida (TRA)** e consistem na **fertilização *in vitro* (FIV)** e **transferência do embrião, injeção intracitoplasmática do espermatozoide (ICSI)**, **transferência intratubária de gameta (GIFT)** e **transferência intratubária de zigoto (ZIFT)**. Técnicas aprimoradas de cultura de tecidos, incluindo o uso de meios de cultura definidos, tornaram possível manter gametas humanos e embriões em estágio de clivagem fora do corpo. Gametas e embriões podem também ser congelados com sucesso (**criopreservados**) e armazenados para uso posterior, adicionando opções para a reprodução assistida.

Os Ovócitos Podem Ser Fertilizados *In Vitro* e Então Implantados no Útero

O procedimento de **fertilização *in vitro* (FIV)** e **transferência do embrião** é amplamente utilizado nos casos em que a obstrução da tuba uterina (uma consequência comum da doença inflamatória pélvica (PID), que é uma complicação grave de doenças sexualmente transmissíveis, como a gonorreia) impede tanto a chegada do esperma à ampola do oviduto quanto a passagem do ovócito fertilizado para o útero. Na FIV o ovário da mulher é induzido a **superovular** (desenvolver múltiplos folículos maduros) pela administração de uma combinação apropriada de hormônios, geralmente gonadotrofina menopausal humana (hMG) ou FSH, algumas vezes combinados com citrato de clomifeno – uma droga que bloqueia a habilidade das células hipotalâmicas de detectar estrogênio no sangue. Na presença do citrato de clomifeno, as células hipotalâmicas respondem à deficiência perceptível de estrogênio sinalizando para a pituitária liberar altos níveis de FSH, o que estimula o crescimento dos folículos e sua secreção de estrogênio. Uma vez que os níveis de estrogênio aumentam suficientemente, a glândula pituitária rapidamente libera LH, disparando a maturação dos ovócitos. Algumas vezes, para assegurar que a maturação dos ovócitos ocorra, a hCG é também administrada quando os folículos atingem um crescimento ótimo (determinado por exame de ultrassom dos ovários e por medições da concentração plasmática de estradiol).

Os ovócitos em maturação são então coletados dos folículos, geralmente utilizando-se uma agulha guiada por ultrassonografia inserida pela vagina (aspiração transvaginal guiada por ultrassom). Uma vez coletados, os ovócitos amadurecem em meio de cultura até a segunda metáfase meiótica e são então fertilizados com espermatozoides previamente coletados e capacitados (se forem obtidos do parceiro da mulher, eles são coletados 2 horas antes da coleta do ovócito; se forem obtidos de doadores de espermatozoides, eles são provenientes de alíquotas congeladas previamente coletadas). Os zigotos resultantes se desenvolvem em cultura por cerca de 48 horas e são inseridos (geralmente um ou dois) na cavidade uterina. A FIV aumentou nosso entendimento sobre os estágios primários do desenvolvimento humano, já que os embriões podem ser facilmente observados enquanto se desenvolvem *in vitro* ([Fig. 1-19](#)).

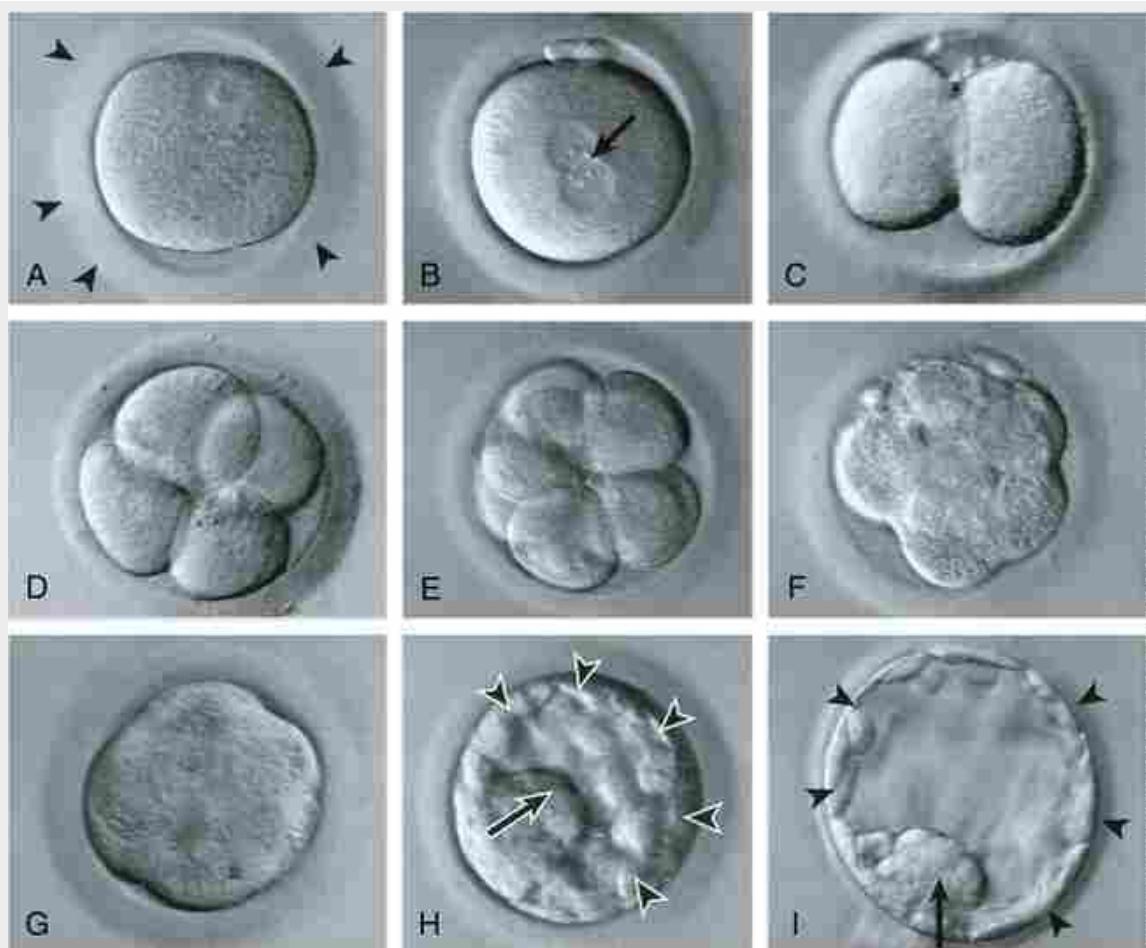


FIGURA 1-19 Desenvolvimento humano *in vitro*. A, Ovócito secundário ovulado antes da introdução do espermatozoide e da fertilização. O ovócito contendo sua vesícula germinal é envolto pela zona pelúcida (*cabeça de seta*). B, Logo após a fertilização *in vitro* (FIV), formam-se os pró-núcleos masculino e feminino (*seta*). C, Estágio de duas células. D, Estágio de quatro células. E, Estágio de oito células. F, Mórula iniciando a compactação. G, Mórula compactada. H, Blastocisto inicial, com trofoblasto (*cabeças de setas*) e massa celular interna (*seta*). A eclosão da zona pelúcida não ocorreu. I, Blastocisto ecloido, com trofoblasto (*cabeças de seta*) e massa celular interna (*seta*).

Antes que o embrião seja inserido na cavidade uterina, a **eclosão assistida** pode ser realizada nos casos em que a zona pelúcida é mais rígida do que o normal e, consequentemente, torna mais difícil a eclosão do embrião. A zona pelúcida (“concha”) pode ser mais rígida em mulheres de mais de 40 anos ou em mulheres mais jovens que possuem escassez de ovócitos. A eclosão assistida consiste em fazer um pequeno rasgo na zona pelúcida usando uma solução de *tyrode* ácida, ablação por *laser* ou por meios mecânicos.

O primeiro caso bem-sucedido de FIV ocorreu em 1978, com o nascimento de Louise Brown, o primeiro bebê de “proveta” do mundo. Na época de seu 20º aniversário, 300.000 crianças FIV haviam nascido no mundo todo. Em 2005, esse número aumentou para mais de 1 milhão. Na média, a FIV resulta no nascimento de um bebê vivo em cerca de 30% a 35% das tentativas (*i. e.*, nascidos vivos por ovócito coletado; logo, para ter 300.000 crianças FIV foram necessárias 1 milhão de concepções FIV). A taxa de sucesso da FIV é extraordinária, considerando que, como discutido anteriormente, a taxa de gravidez bem-sucedida de um casal normal saudável que pratica relações sem proteção é de cerca de 25% por ciclo mensal.

Com a FIV, o diagnóstico de condições genéticas na pré-implantação (**diagnóstico genético pré-implantação, DGP**) pode ser realizado utilizando-se o primeiro ou o segundo corpo polar ou os blastômeros. Estes podem ser removidos durante a FIV (Fig. 1-20), provavelmente sem danos ao desenvolvimento posterior, e podem ser analisados quanto a aneuploidia ou translocações, com a análise cariotípica padrão ou FISH, e para mutações, com a técnica de **reação em cadeia de polimerase (PCR)**. A PCR pode ser usada para amplificar o DNA de uma única célula, produzindo muitas cópias para análise da sequência (os ovócitos e embriões são armazenados até que o diagnóstico seja feito). O diagnóstico do corpo polar, diferentemente do diagnóstico dos blastômeros, fornece informações sobre as contribuições maternas para o zigoto, mas não sobre as condições paternas, já que os corpos polares contêm apenas genes maternos (*i. e.*, eles são formados por divisões meióticas do ovócito). Em consequência disso, eles são usados apenas quando a mãe apresenta risco de transmitir uma mutação causadora de

doença. Se a mutação é encontrada no corpo polar, supõe-se que o ovócito não contenha a mutação (se o raciocínio para essa suposição não estiver claro, reveja a meiose). O PGD oferece maior vantagem, já que pode ser utilizado na seleção dos embriões não afetados que serão implantados, evitando a possibilidade posterior da interrupção seletiva de uma gravidez afetada seguindo o diagnóstico pré-natal.

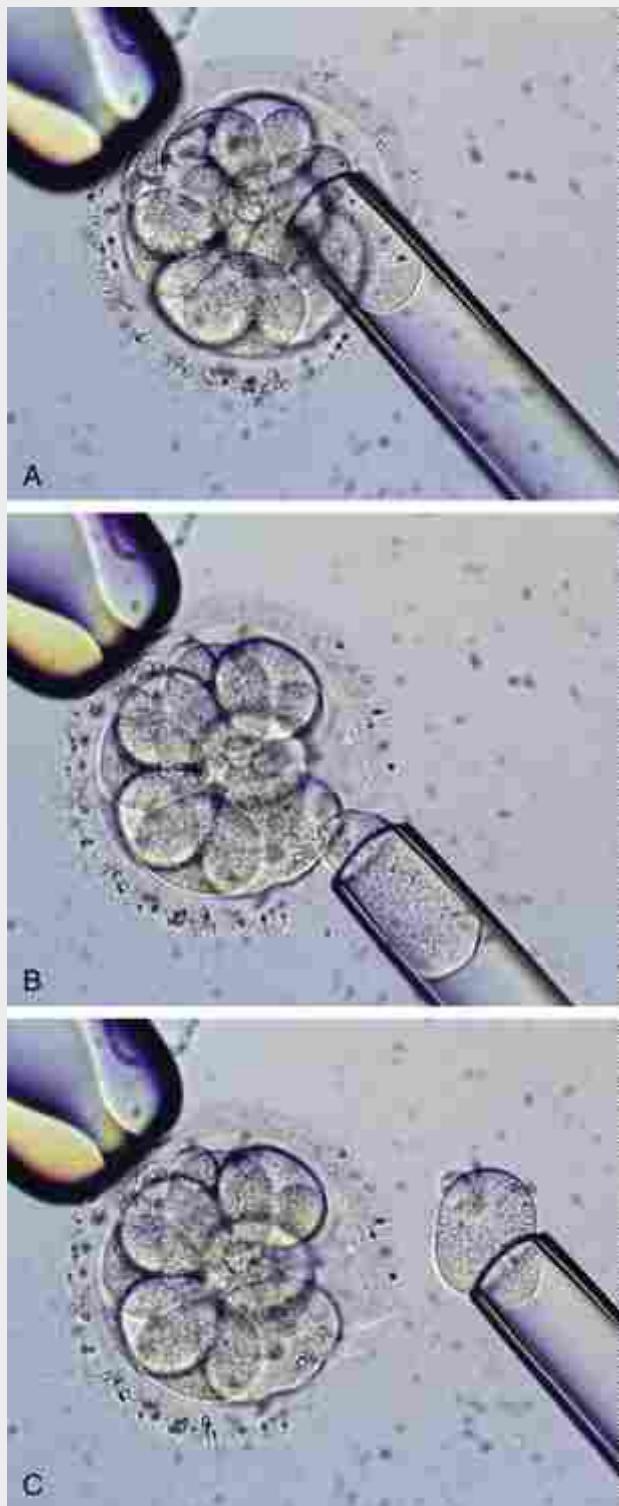


FIGURA 1-20 Mórula humana sofrendo uma biópsia de blastômero. A sequência temporal é mostrada em ordem do topo para o final (A-C). A mórula é segura com a sucção da pipeta, e um buraco é feito na zona pelúcida. Uma micropipeta é usada para aspirar e remover um blastômero selecionado.

Em casos nos quais o espermatozoide do parceiro é incapaz de penetrar na zona pelúcida, uma técnica denominada **injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI)** pode ser usada. Nesse procedimento, um único espermatozoide é selecionado ao microscópio, aspirado para dentro de uma agulha e injetado no citoplasma

do ovócito (Fig. 1-21). Em um estudo recente, observou-se que crianças nascidas após a ICSI eram duas vezes mais suscetíveis a ter as principais anomalias congênitas que crianças concebidas naturalmente. Outros riscos para essas crianças incluem complementos de cromossomas não balanceados (a ICSI pode danificar o fuso meiótico, levando potencialmente à aneuploidia) e infertilidade masculina. Homens com fibrose cística (FC), uma doença autossômica recessiva que afeta a respiração e a digestão, têm também ausência congênita de vasos deferentes e são, portanto, inférteis. Utilizando-se aspirações microcirúrgicas dos espermatozoides do epidídimos (MESA), os espermatozoides podem ser removidos do epidídimos do homem com FC para o uso na FIV. No entanto, esses espermatozoides são incapazes de fertilizar um ovócito porque eles ainda não estão completamente maduros, um processo que é completado durante sua passagem através do epidídimo e do ducto deferente. Para superar esse problema, a ICSI pode ser utilizada. As crianças nascidas de pais com FC, utilizando a MESA e a ICSI, são carreadoras normais de FC (para ter FC, o indivíduo deve herdar uma mutação em ambos os cromossomas, materno e paterno). Como a ausência do ducto deferente está associada a uma forma branda de FC que, ao contrário, é assintomática, e os testes para mutação da FC detectam somente cerca de 87% das mutações, recomenda-se que ambos os pais sejam geneticamente testados para mutações da FC e aconselhados de modo apropriado antes de usarem a ICSI nos casos em que o ducto deferente esteja congenitamente ausente.

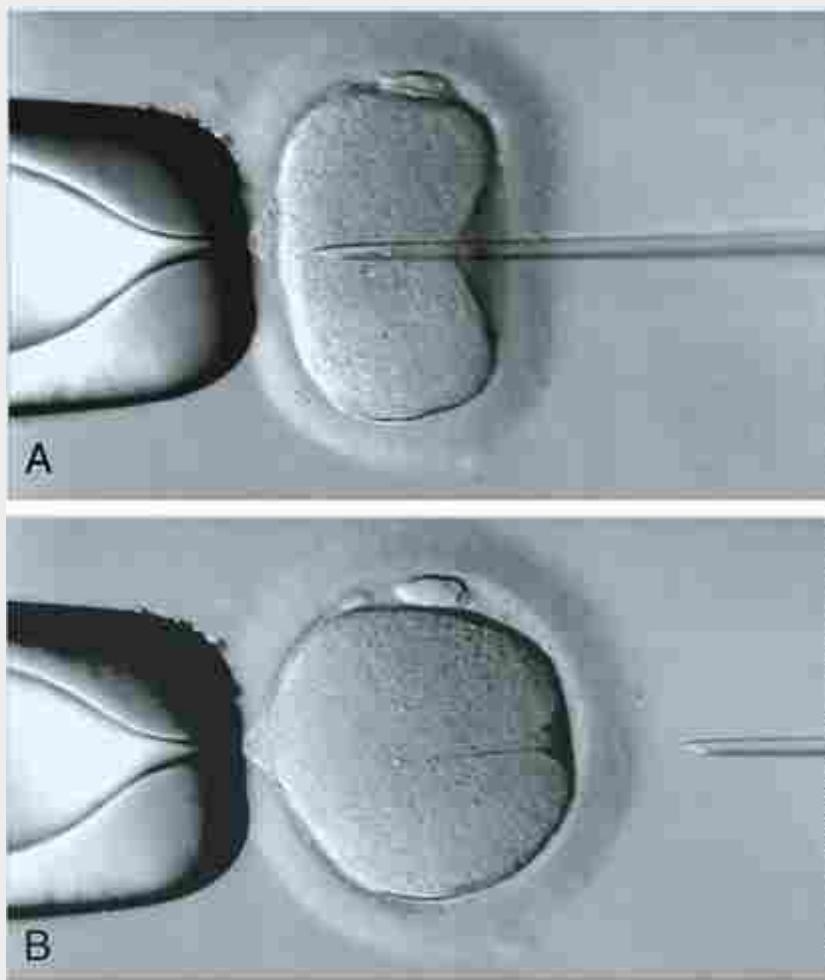


FIGURA 1-21 Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). A, Enquanto o ovócito é mantido preso pela sucção, uma micropipeta contendo um único espermatozoide é usada para penetrar a zona pelúcida e o ovócito. B, Após a injeção do espermatozoide por pressão, a micropipeta é retirada, deixando um caminho no citoplasma que logo desaparece.

Os Gametas ou os Zигotos Podem Ser Introduzidos Diretamente na Ampola do Oviduto

Se o oviduto da mulher for normal e o casal for infértil por causa de uma deficiência inata na motilidade espermatógena ou por alguma outra razão, é geralmente utilizada a técnica denominada **transferência intratubária de gametas (GIFT)**. Os ovócitos são coletados como descrito anteriormente e são então colocados em um cateter no laparoscópio, junto com espermatozoides pré-capacitados. Os ovócitos e espermatozoides são introduzidos juntos diretamente na ampola do oviduto, onde a fertilização ocorre. O desenvolvimento posterior

ocorre pelos processos normais. Em uma técnica alternativa, a **transferência intratubária do zigoto (ZIFT)**, os ovócitos são fertilizados *in vitro* e somente zigotos pró-nucleares fertilizados são introduzidos na ampola.

TRA em Perspectiva

Em 1998, as seguintes estatísticas foram relatadas: nos Estados Unidos, 60.000 nascimentos por ano resultaram de IA, 15.000 resultaram de FIV e pelo menos 1.000 resultaram de “barriga de aluguel” (um casal combina com outra pessoa para implantar um embrião gerado por FIV em sua cavidade uterina e carregá-lo até o nascimento). Com cerca de 4 milhões de nascimentos totais nos Estados Unidos por ano, o uso da TRA (FIV e FIV com barriga de aluguel) é, portanto, responsável por cerca de 0,4% de todos os nascimentos nos Estados Unidos. Um casal infértil pode escolher permanecer sem filhos, passar por terapias médicas, incluindo a TRA, ou adotar uma criança. Também foi relatado em 1998 que somente 30.000 crianças saudáveis estavam disponíveis para adoção nos Estados Unidos. A TRA, portanto, forneceu novas oportunidades para casais que optaram por não ficar sem filhos. A TRA não é livre de riscos: 37% dos nascimentos por TRA são múltiplos, correspondendo a 2% na população em geral (riscos associados aos nascimentos múltiplos são discutidos no [Cap. 6](#)). A TRA aumenta os riscos relacionados à gravidez para as mulheres, incluindo pré-eclâmpsia, diabetes melito, sangramentos e anemia, assim como um possível risco de câncer ovariano, devido aos estímulos hormonais. Além disso, os defeitos de nascimento associados à TRA ocorrem a uma taxa 1,4 a 2 vezes maior do que a taxa global de 3% a 4% dos nascimentos em geral.

Células-tronco de Ovócitos e Espermatozoides

Recentemente, ovócitos e espermatozoides funcionais foram desenvolvidos *in vitro* a partir de células-tronco derivadas dos testículos de camundongos, ovários ou pele (*i. e.*, células-tronco pluripotentes induzidas, iPSCs, discutidas no [Cap. 5](#)) ou por células-tronco embrionárias de camundongo (discutidas no [Cap. 5](#)). Por exemplo, em 2012, camundongos viáveis foram produzidos usando-se ovócitos produzidos a partir de células-tronco. Embora isso ainda não tenha sido feito em humanos, esses resultados sugerem a excitante possibilidade de novos tratamentos para infertilidade humana.

Embriologia na Prática

Embrião com três progenitores

Você é um especialista em fertilidade e está prestando apoio a um casal e discutindo sobre novas opções reprodutivas tendo em vista o histórico médico da esposa. Ela tem um histórico familiar de doença mitocondrial e ela mesma é afetada por uma fraqueza muscular compatível com uma forma lenta e progressiva de MELAS (episódios de encefalomiotria mitocondrial, acidose lática e derrame).

Ela foi diagnosticada aos 16 anos, após o começo da fraqueza dos membros e intolerância aos exercícios. Ela tinha uma irmã mais velha, que faleceu aos 13 anos de idade de complicações após múltiplos derrames, e um irmão mais velho, que teve fraqueza e perda de audição. Ela foi a última a descobrir que compartilha com esses dois irmãos afetados uma mutação no gene MTTL1. O MTTL codifica o RNAt mitocondrial UUA/UUG para leucina, necessário para a síntese da proteína mitocondrial.

Essa mutação foi encontrada em cultura de fibroblastos da pele dos pacientes, mas estava ausente nos seus leucócitos, indicando “heteroplasmia” (uma mistura de mitocôndria com genes MTTL mutantes e normais), e isso ajudou a explicar seus sintomas atenuados.

O casal decidiu não ter filhos após aconselhamento pré-concepção no qual souberam que 100% da sua prole herdaría a mutação na mitocôndria (todas as nossas mitocôndrias são herdadas da mãe via citoplasma do ovócito) e poderiam ter algum grau de sintomas de MELAS.

A visita de hoje foi solicitada porque eles leram, em um *website*, sobre um grupo de suporte de doença mitocondrial a partir de um método experimental de fertilidade com “três progenitores”, que permitiria que eles tivessem filhos que seriam geneticamente deles, mas sem a doença mitocondrial.

Você descreve a eles o processo em que o núcleo de um embrião fertilizado pelo casal poderia ser transferido para um ovo enucleado de uma doadora saudável, excluindo a mutação mitocondrial MTTL do processo.

A comprovação da concepção para esse tipo de transferência nuclear foi mostrada, mas, infelizmente, você tem que informar que esse tratamento está ainda em fase de experimentação e é inviável. Eles estão entusiasmados acerca da pesquisa, e você está apto a encaminhá-los aos clínicos engajados no desenvolvimento dessa técnica.

Leituras sugeridas

- Bruc, A. W., Zernicka-Goetz, M. Developmental control of the early mammalian embryo: competition among heterogeneous cells that biases cell fate. *Curr Opin Genet Dev.* 2010; 20:485–491.
- Gkountela, S., Li, Z., Vincent, J. J., et al. The ontogeny of cKIT(+) human primordial germ cells proves to be a resource for human germ line reprogramming, imprint erasure and in vitro differentiation. *Nat Cell Biol.* 2012; 15:113–122.
- Handyside, A. Let parents decide. *Nature.* 2010; 464:978–979.
- Laird, D. J. Humans put their eggs in more than one basket. *Nat Cell Biol.* 2012; 15:13–15.
- Pearson, H. Making babies: the next 30 years. *Nature.* 2008; 454:260–262.
- Richardson, B. E., Lehmann, R. Mechanisms guiding primordial germ cell migration: strategies from different organisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11:37–49.
- Rossant, J., Tam, P. P. Blastocyst lineage formation, early embryonic asymmetries and axis patterning in the mouse. *Development.* 2009; 136:701–713.
- Saitou, M. Germ cell specification in mice. *Curr Opin Genet Dev.* 2009; 19:386–395.
- Wassarman, P. M. Development. The sperm's sweet tooth. *Science.* 2011; 333:1708–1709.

CAPÍTULO 2

Segunda Semana: Tornando-se Bilaminar e Completamente Implantado

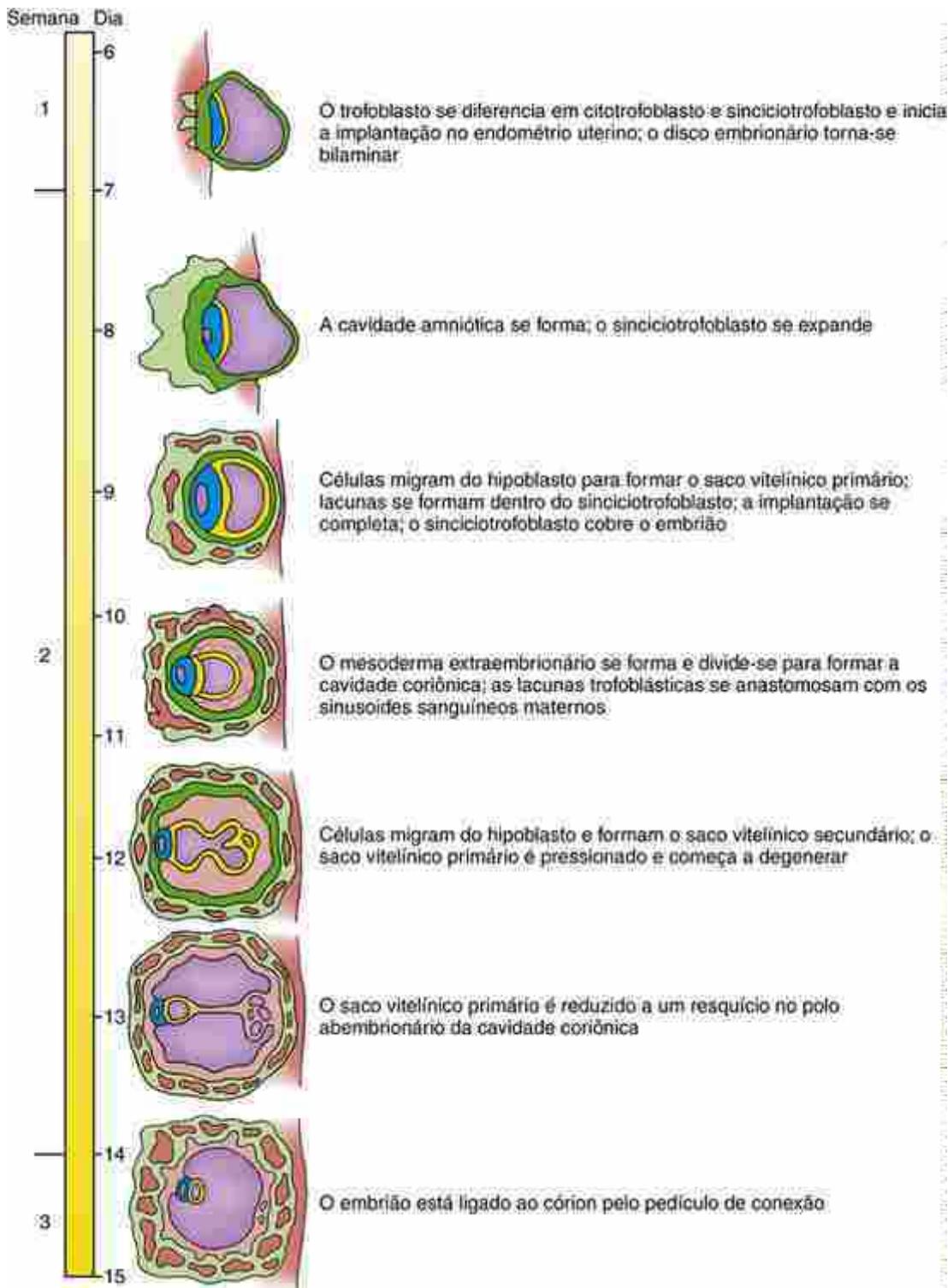
Resumo

Como discutido no capítulo anterior, a mórula — formada pela clivagem do zigoto — transforma-se em um blastocisto durante a primeira semana, consistindo em uma massa celular interna, ou embrioblasto, e um trofoblasto. No começo da segunda semana, o embrioblasto divide-se em duas camadas: o **epiblasto** e o **hipoblasto**, ou **endoderma primitivo**. Uma cavidade, denominada **cavidade amniótica**, desenvolve-se no polo embrionário do blastocisto, entre o epiblasto e o trofoblasto sobrejacente. Esta cavidade é rapidamente rodeada por uma fina camada de células derivadas do epiblasto. Forma-se, então, o revestimento do **âmnio**, uma das quatro membranas extraembrionárias. Os epiblastos e hipoblastos remanescentes constituem agora um **disco embrionário bilaminar**, ou **blastoderma bilaminar**, localizado entre a cavidade amniótica (dorsalmente) e a cavidade blastocística (ventralmente). As células do disco embrionário desenvolvem-se no **próprio embrião** e também contribuem para as **membranas extraembrionárias**. Durante a segunda semana, o hipoblasto aparentemente gera duas ondas migratórias de células endodérmicas para dentro da cavidade blastocística (blastocoel). A primeira onda forma o **saco vitelínico primário** (ou a **membrana exocelômica** ou **membrana de Heuser**), e a segunda onda transforma o saco vitelínico primário em saco vitelínico secundário.

Na metade da segunda semana, a superfície interna do trofoblasto e a superfície externa do âmnio e do saco vitelínico são revestidas por um novo tecido, o **mesoderma extraembrionário**. Uma nova cavidade — o **celoma extraembrionário** ou **cavidade coriônica** — desenvolve-se com o mesoderma extraembrionário, dividindo-se em duas camadas. Com a formação e divisão do mesoderma extraembrionário, ambos, o âmnio e o saco vitelínico (agora denominado saco vitelínico *definitivo*), tornam-se estruturas de camadas duplas: o âmnio, consistindo em ectoderma no lado interno e mesoderma no lado externo; e o saco vitelínico, consistindo em endoderma no lado interno e mesoderma no lado externo. Além disso, a parede mais externa do blastocisto é agora denominada córion; assim como o âmnio e o saco vitelínico, ele também apresenta uma camada de mesoderma.

Entretanto, a implantação continua. O trofoblasto se diferencia em duas camadas: um trofoblasto celular, denominado **citotrofoblasto**, e uma camada sincial periférica que se expande, o **sinciciotrofoblasto**. Estas camadas do trofoblasto contribuem para formar as membranas extraembrionárias, não o próprio embrião. O sinciciotrofoblasto, o citotrofoblasto e o mesoderma extraembrionário associado, junto com o útero, iniciam a formação da **placenta**. Durante este processo, o tecido fetal forma projeções, as **vilosidades coriônicas**, que se estendem para dentro dos **sinusoïdes sanguíneos** maternos.

Muitos eventos ocorrem nos dois primeiros dias da segunda semana. Então, “uma regra de dois” constitui um mnemônico fácil para lembrar os eventos da segunda semana. Durante a segunda semana, o embrioblasto divide-se em duas camadas: o epiblasto e o hipoblasto. O trofoblasto também dá origem a dois tecidos: o citotrofoblasto e o sinciciotrofoblasto. Dois sacos vitelínicos se formam: inicialmente o primário e depois o secundário. Duas novas cavidades se formam: a cavidade amniótica e a cavidade coriônica. O mesoderma extraembrionário divide-se em duas camadas que revestem a cavidade coriônica, e o âmnio, saco vitelínico e córion se tornam membranas com duas camadas.



Linha do tempo.

Segunda semana de desenvolvimento.

Caso Clínico

Um menino de 6 meses de idade é encaminhado por seu médico ao Hospital Universitário para avaliação genética devido a um **comprometimento no crescimento e desenvolvimento**: tanto seu peso por altura quanto sua altura por idade estão abaixo do terceiro percentil para a idade, como avaliado pelo gráfico da curva padrão. Sua mãe tem 23 anos e seu pai 29, e o menino é o primeiro filho do casal. A mulher engravidou 2 meses depois de parar o anticoncepcional (esponja contraceptiva), e sua gravidez transcorreu bem, sentindo-se mal pela manhã em apenas poucas semanas. Ela entrou em trabalho de parto na 39ª semana de gestação, mas por causa da má evolução do

trabalho de parto e dos ritmos cardíacos fetais anormais que foram detectados, seu filho nasceu de cesariana 23 horas depois.

No exame que foi feito no segundo mês de vida da criança, sua mãe manifestou preocupação, pois seu bebê não mamava bem e seu choro era fraco. Ele também parecia não se movimentar muito. No exame médico, o menino estava abaixo do tamanho para a sua idade e estava hipotônico (tinha músculos flácidos). Na visita seguinte, poucas semanas depois, a criança continuava mostrando pouco ganho de peso, e foi diagnosticado o comprometimento no crescimento e no desenvolvimento. Para estimular o crescimento, o pediatra recomendou complementar o aleitamento com alimentação por gavagem (alimentação por tubo) de alto valor calórico, para atingir 150% da exigência calórica para o peso esperado da criança, caso estivesse no percentil 50.

O teste genético ocorreu aos 7 meses. Ele revelou que o menino tem uma deleção do braço longo do cromossoma 15 e ele foi diagnosticado com **síndrome de Prader-Willi**. Os pais do menino foram aconselhados sobre o prognóstico de seu filho e foi dado a eles um *kit* com informações sobre o grupo de apoio local para pais de crianças com síndrome de Prader-Willi. Nos encontros com o grupo de apoio, eles observaram outras crianças de várias idades, bem como seus pais, e algumas crianças que apresentam a mesma deleção cromossomial, mas que agem de modo diferente de seu filho. Estas crianças têm uma síndrome diferente, denominada **síndrome de Angelman**. Mais tarde, por meio de pesquisa na internet, eles perceberam que ambas as síndromes, de Prader-Willi e de Angelman, resultam de anomalias no processo chamado **imprinting**, e que a diferença nas duas síndromes depende de ser o defeito herdado do pai ou da mãe.

No nono mês de idade, o menino está começando a terapia de reposição do hormônio do crescimento, o qual tem mostrado normalizar a altura e aumentar a massa muscular em crianças com síndrome de Prader-Willi.

Tornando-se completamente implantado

Como descrito no [Capítulo 1](#), o blastocisto adere à parede uterina no fim da primeira semana. O contato com o endométrio uterino induz a proliferação do trofoblasto no polo embrionário. Algumas destas células em proliferação perdem suas membranas celulares e fundem-se para formar um sincício (uma massa de citoplasma que contém numerosos núcleos dispersos) denominado **sinciciotrofoblasto** ([Fig. 2-1](#)).

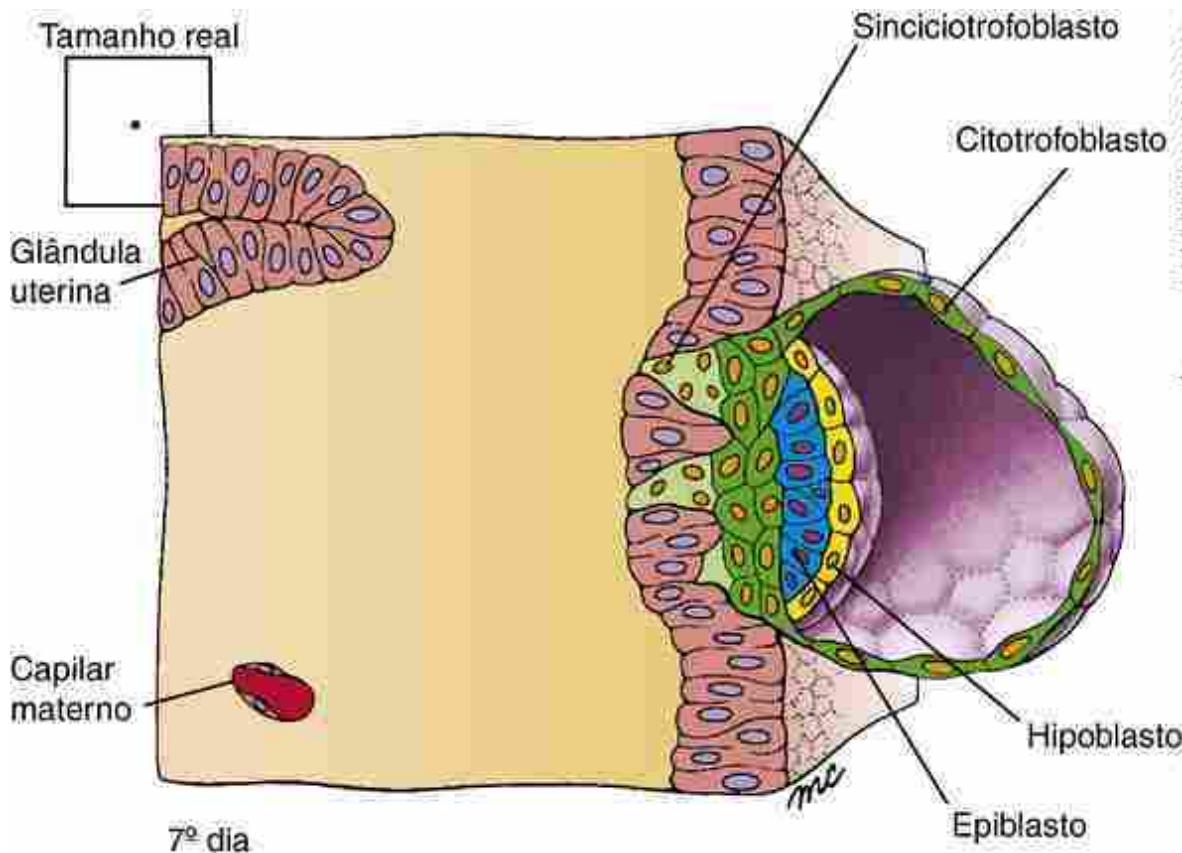
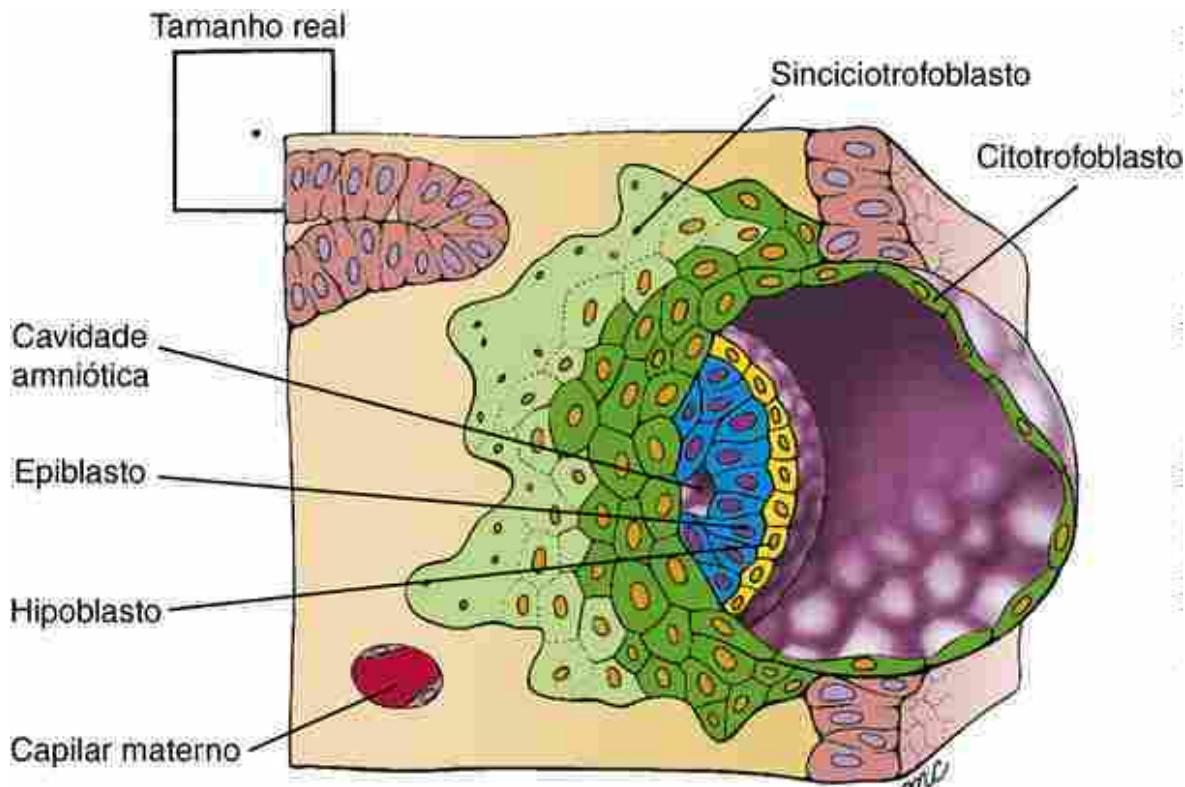


FIGURA 2-1 No sétimo dia, o blastocisto recentemente formado entra em contato com o endométrio uterino e inicia a implantação. O trofoblasto no polo embrionário do blastocisto prolifera para formar o sinciciotrofoblasto invasivo, o qual se insinua entre as células do endométrio e começa a empurrar o blastocisto para dentro da parede uterina. O disco embrionário é bilaminar, consistindo em uma camada de epiblasto e uma de hipoblasto.

Ao contrário, as células do trofoblasto que revestem a parede do blastocisto retêm suas membranas celulares e constituem o **citotrofoblasto**. O sinciciotrofoblasto aumenta de volume a partir da segunda semana, quando as células se destacam do citotrofoblasto em proliferação no polo embrionário e se fundem com o sincício (Figs. 2-2 e 2-3).



8º dia

FIGURA 2-2 No oitavo dia, a cavidade amniótica formou-se dentro do epiblasto. A implantação continua e o sinciciotrofoblasto em crescimento se expande para cobrir a maior parte do blastocisto.

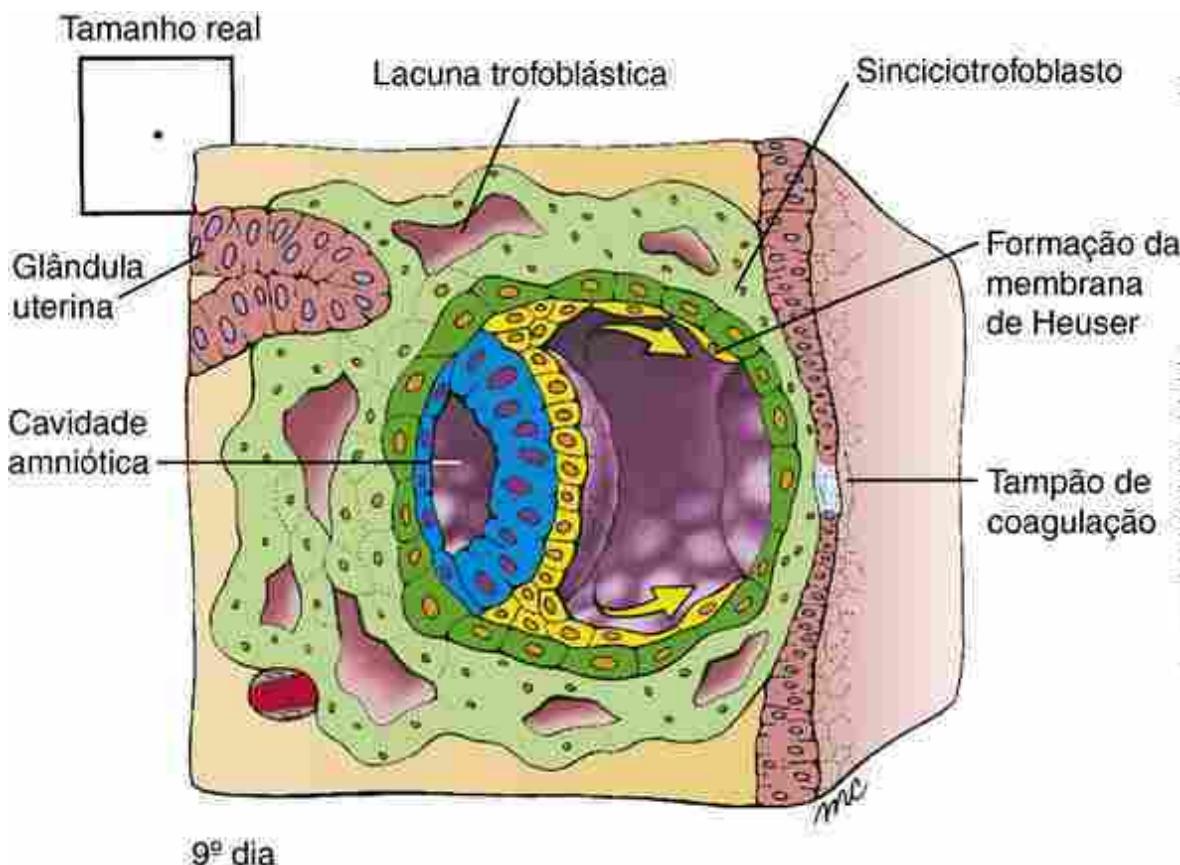


FIGURA 2-3 No nono dia, o embrião está completamente implantado no endométrio uterino. A cavidade amniótica está expandida, e as células do hipoblasto começaram a migrar para formar a membrana de Heuser. Lacunas trofoblásticas formam-se no sinciciotrofoblasto, que agora circunda completamente o embrião. O local de implantação é marcado por um tampão de coagulação temporário na superfície endometrial.

Entre o 6º e o 9º dia, o embrião encontra-se completamente implantado no endométrio. Enzimas proteolíticas, incluindo várias metaloproteases, são secretadas pelo citotrofoblasto para degradar a matriz extracelular entre as células endometriais. Processos digitiformes ativos que se estendem do sinciciotrofoblasto, então, penetram entre as células endometriais e empurram o embrião para dentro do endométrio da parede uterina (Figs. 2-1 e 2-2). Com o progresso da implantação, o sinciciotrofoblasto expandido gradualmente envolve o blastocisto. Em torno do nono dia, o sinciciotrofoblasto cobre todo o blastocisto, exceto uma pequena região no polo oposto ao embrião (Fig. 2-3). Um tampão de material acelular, denominado **tampão de coagulação**, sela a pequena cavidade onde o blastocisto se implantou, temporariamente marcando este ponto no epitélio endometrial.

No Laboratório de Pesquisa

O que regula a fase inicial de implantação: a aderência do blastocisto ao epitélio uterino?

Por volta do sétimo dia pós-fertilização, nem o blastocisto nem a superfície apical do epitélio uterino são adesivos. Assim, mudanças devem ocorrer tanto no blastocisto quanto no epitélio uterino para permitir a adesão do blastocisto e o início da implantação.

O ciclo uterino passa por estágios receptivos e não receptivos. Como abordado no Capítulo 1, a entrada no estágio receptivo, durante o qual a implantação é possível, é controlada por estrogênio e progesterona. Por um período relativamente curto, denominado **janela da implantação**, o útero é receptivo para a implantação. O **estrogênio**, agindo com o **receptor de estrogênio**, estimula o endométrio uterino a entrar em proliferação por induzir a produção de fatores de crescimento como o **fator de crescimento 1 semelhante à insulina**. Ele também **impede a morte celular programada** no epitélio uterino. A **progesterona**, por sua vez, agindo através do **receptor de progesterona**, induz a transcrição do **fator hand 2**, que bloqueia o crescimento continuado do endométrio, permitindo que a implantação ocorra.

Quando o útero entra no estágio receptivo, seu **glicocálice** apical (uma matriz de superfície polissacarídea que cobre as células epiteliais, incluindo – no caso do epitélio uterino – abundantes glicoproteínas mucinas de alto

peso molecular), diminui em quantidade e em carga negativa. Além disso, os **microvilos** apicais, normalmente abundantes, retraem para estabelecer uma superfície plana em várias áreas do epitélio, e grandes protruções apicais denominadas **pinopódios** são formadas.

O blastocisto sofre maturação a partir de um estágio não adesivo a um estágio adesivo. Embora a presença de uma zona pelúcida não adesiva antes da implantação do blastocisto certamente impedisse a sua adesão, a remoção experimental da zona poucos dias antes demonstra que o próprio blastocisto ainda está em um estágio incapaz de aderir. Quando os blastocistos amadurecem para o estágio adesivo, eles expressam **perlecan**, um **proteoglicano de heparan sulfato**, em sua superfície. Os proteoglicanos de heparan sulfato são conhecidos por apresentarem um alto grau de ligações específicas a várias proteínas de matriz extracelular e a fatores de crescimento/citocinas e, portanto, funcionam como fatores de adesão. Um achado em particular, com respeito ao papel do perlecan na adesão, é que o útero no momento da implantação aumenta dramaticamente a expressão do **fator de crescimento semelhante ao fator de crescimento epidérmico ligante de heparina (Hb-Egf)**, nos locais de implantação, provavelmente em resposta à sinalização do blastocisto. Estudos mostraram que a ligação de Hb-Egf ao blastocisto requer que o blastocisto expresse tanto o receptor de Egf quanto o proteoglicano heparan sulfato. Camundongos deficientes em perlecan não exibem defeitos na implantação, sugerindo que o perlecan tenha redundância funcional com outros proteoglicanos de heparan sulfato que podem substituir (ou são compensatoriamente aumentados) na sua ausência.

Além dos proteoglicanos heparan sulfato, outros fatores possivelmente envolvidos na adesão incluem as selectinas (um tipo de lectina – uma proteína de ligação a açúcares), integrinas $\alpha v\beta 3$ e $\alpha v\beta 5$ (glicoproteínas transmembranas envolvidas na adesão e sinalização celular; o [Capítulo 5](#) mostra mais detalhes), **metaloproteases** (enzimas que se ligam a metais como zinco e degradam proteínas) e seus inibidores, **citocinas (Lif e interleucina-11)** e um complexo de adesão denominado **trofinina-tastina-bistina**. Alguns destes últimos fatores (p. ex., metaloproteases) têm uma função na invasão do trofoblasto ao endométrio, além da possível função na adesão.

Por que o conceito não é rejeitado pela mãe?

O conceito, que expressa genes maternos e paternos, pode ser considerado um aloenxerto, que é um tecido transplantado de um membro de uma espécie a outro membro da mesma espécie (como de um humano para outro humano). Normalmente, os aloenxertos disparam uma resposta imune no hospedeiro, resultando na rejeição do enxerto. Em tal reação hospedeiro-*versus*-enxerto, peptídeos ligados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) geram aloantígenos teciduais que são reconhecidos por células T maternas. Medawar (que recebeu o prêmio Nobel em 1960) propôs três possibilidades pelas quais o conceito em desenvolvimento não é rejeitado pela mãe: células fetais e maternas são separadas fisicamente umas das outras; o conceito é antigenicamente imaturo; ou o sistema imune materno é suprimido ou torna-se tolerante ao conceito durante a gestação.

É provável que a combinação dessas possibilidades impeça a rejeição do conceito. O trofoblasto, que separa os tecidos do feto em desenvolvimento do tecido da mãe, expressa poucas moléculas MHC. Assim, os tecidos são apenas parcialmente separados e o conceito é antigenicamente imaturo. Porém, há evidências de que células T maternas são ativadas durante a gestação. Por isso, como não há uma barreira celular completamente impermeável entre o feto e a mãe para impedir a exposição de aloantígenos fetais às células T maternas (p. ex., células fetais podem ser encontradas no sangue materno durante a gestação, e as células maternas podem ser encontradas no feto) e como tecidos fetais são antigênicos, é provável que mecanismos tolerogênicos bloqueiem as respostas de células T maternas e impeçam a rejeição fetal. As condições hormonais únicas da gestação que preparam o útero para implantação e crescimento do blastocisto aparentemente também induzem a tolerância. Tal tolerância é específica para os抗ígenos fetais; por exemplo, a imunidade antiviral materna não é suprimida durante a gestação, como mostrado em mulheres HIV+ que não sofrem da doença durante a gestação.

Uma forma pela qual a tolerância aos抗ígenos paternos expressos pelo tecido fetal poderá ocorrer é por meio da perda seletiva de células imunes maternas que respondem a estes抗ígenos. Por exemplo, tem sido proposto que células T maternas ativadas são induzidas a sofrer apoptose através do sistema Fas/Fasl. As células do trofoblasto produzem Fasl, um membro do fator de necrose tumoral (Tnf) e a família de ligantes Cd40, que sinaliza através do receptor Fas (também denominado Cd95, uma proteína de membrana da família Tnf). Suportando essa possibilidade, camundongos que carecem de um Fasl funcional mostram muitos infiltrados de leucócitos na interface placenta-decidua e têm pequenas ninhadas.

Além da reação hospedeiro *versus* enxerto durante a gestação, como já descrito, uma reação enxerto *versus* hospedeiro poderá ocorrer na qual o feto induz uma reação imune contra sua mãe. Não se sabe por que não ocorre uma reação enxerto *versus* hospedeiro, mas é provável que o sistema imune da mãe interaja com o conceito para impedir a maturação do sistema imune do feto ou para evocar mecanismos tolerogênicos.

Evidências recentes fornecem uma visão para a supressão tanto das reações enxerto *versus* hospedeiro quanto

das reações hospedeiro *versus* enxerto, durante a gestação. O que se sabe agora é que as células imunes, denominadas **células T reguladoras**, são produzidas por ambos, mãe e feto, e que estas células podem atravessar a placenta, de tal modo que as células fetais residem no sangue materno e vice-versa. As células T reguladoras maternas reconhecem os抗ígenos do pai e suprimem o sistema imune da mãe para evitar a rejeição ao feto. Essas células persistem na corrente sanguínea materna por algum tempo depois do nascimento, anulando a resposta imune a outros fetos em gestações subsequentes. De modo similar, as células reguladoras maternas que atravessam a placenta vão residir em linfonodos fetais, onde induzem o desenvolvimento das células T reguladoras fetais que suprimem a resposta imune fetal aos抗ígenos maternos. Além disso, essas células maternas persistem na criança até que ela chegue à idade adulta, sugerindo que elas continuam a regular as respostas imunes após o nascimento.

O embrioblasto reorganiza-se em epiblasto e hipoblasto

Mesmo antes de ocorrer a implantação, as células do embrioblasto começam a se diferenciar em duas camadas epiteliais. No oitavo dia, o embrioblasto consiste em uma camada externa (ou superior) distinta de células cilíndricas, denominada **epiblasto**, e uma camada interna (ou inferior) de células cuboides, denominada **hipoblasto** ou **endoderma primitivo** (Figs. 2-1 e 2-2). Uma membrana basal extracelular é estabelecida entre as duas camadas quando elas se diferenciam. O embrioblasto de dupla camada resultante, denominado **disco embrionário bilaminar** ou **blastoderma bilaminar**. Com a formação do disco embrionário bilaminar, o **eixo dorsal-ventral** primitivo do embrião é definido (o epiblasto é dorsal, o hipoblasto é ventral).

No Laboratório de Pesquisa

O início da formação do endoderma

O hipoblasto, ou endoderma primitivo, é a primeira camada a se formar da massa celular interna. Estudos principalmente em *Xenopus* e peixe zebra sugerem que uma série de fatores inicia a formação do endoderma. Estes fatores incluem o fator de transcrição que contém T-box (VegT), o qual ativa nodal (um membro da família de fatores de crescimento Tgf β), que, por sua vez, induz a expressão de uma cascata de reguladores transpcionais (mixer, um fator de transcrição que contém homeobox pareado; Gata, um fator de transcrição ligante da sequência de DNA GATA do tipo *zinc finger* e Fox, um fator de transcrição *forkhead box*). Isso regula a expressão de fatores de transcrição que contêm HGM-box da família Sox que, finalmente, resulta na expressão de Sox17, um fator crítico no desenvolvimento do endoderma.

Em camundongos, a função desses genes na formação do endoderma é pouco clara. Mutantes com perda de função do homólogo VegT de camundongo (*eomes*, também conhecido como *eomesodermina*) interrompem o desenvolvimento logo no início, frustrando a análise de suas funções na formação do endoderma. Mutantes com perda de função de nodal não formam a linha e o nó primitivos (discutido no Cap. 3) — eventos críticos na gênese não apenas do endoderma, mas também do mesoderma —, tanto que a função exata de nodal na formação do endoderma de camundongo não é clara. Entretanto, o uso de alelos de nodal hipomórficos (uma mutação na qual a expressão de nodal é severamente reduzida, mas não eliminada por completo), bem como a mutação de perda de função de cripto (cripto é um cofator essencial requerido para a sinalização nodal) proporcionam mais evidências convincentes de que a sinalização nodal é necessária para a formação do endoderma. Além disso, mutações de perda de função são consistentes com uma função para ambos, Mixer e Sox17, na formação do endoderma de camundongo.

Outros estudos de perda de função em camundongo sugerem que pelo menos quatro outros fatores de transcrição são necessários para a formação e manutenção do endoderma: Gata6 (um fator de transcrição contendo *zinc finger*), Hnf4 (um membro da família de receptores vHnf1 de hormônios esteroides que funciona como um regulador transacional ativado por ligante) e Foxa2 (um fator de transcrição *forkhead* anteriormente conhecido como Hnf3 β). Existe uma hierarquia regulatória entre alguns destes genes, com os primeiros dois fatores (gata6 e vHnf1) regulando a expressão de Hnf4. O Foxa2 funciona não apenas na formação do endoderma, mas também na formação de outras linhagens, tais como notocorda e placa inferior do tubo neural (discutido no Cap. 4). Ortólogos destes genes também funcionam na formação do endoderma em outros organismos (p. ex., os genes *forkhead* em *Drosophila* e o gene Pha4 em *C. elegans* são ortólogos dos genes Hnf3; *Serpent* em *Drosophila* e *End1* e *Elt2* em *C. elegans* são ortólogos de genes Gata).

Desenvolvimento da cavidade amniótica

A primeira nova cavidade a se formar durante a segunda semana — a **cavidade amniótica** — surge no oitavo dia, quando o líquido começa a se acumular entre as células do epiblasto e o trofoblasto sobrejacente (Fig. 2-2). Uma camada de células do epiblasto se expande em direção ao polo embrionário e se diferencia em uma fina membrana que separa a nova cavidade a partir do citotrofoblasto. Esta membrana é o revestimento do **âmnio** (Fig. 2-3), uma das quatro membranas extraembrionárias (âmnio, córion, saco vitelínico e alantoide; as três primeiras são discutidas adiante e o alantoide é discutido nos capítulos posteriores). Embora a cavidade amniótica seja menor do que a cavidade blastocística, ela se expande continuamente. Durante a oitava semana, o âmnio engloba todo o embrião (discutido no Cap. 6).

Desenvolvimento do saco vitelínico e da cavidade coriônica

A proliferação de células do hipoblasto, seguida por duas sequências sucessivas de migração celular, é um indício da formação das membranas do saco vitelínico, que se estende do hipoblasto para dentro da cavidade blastocística. A primeira sequência de migração começa no oitavo dia e forma o **saco vitelínico primário** (a **membrana exocelômica**, ou **membrana de Heuser**; Figs. 2-3 e 2-4). Simultaneamente, o **mesoderma extraembrionário** se forma, preenchendo o restante da cavidade blastocística com células dispersas (Fig. 2-4). Acredita-se que o mesoderma extraembrionário primitivo origina-se, em humanos, do saco vitelínico primário/hipoblasto, ao contrário do embrião de camundongo, no qual ele surge na extremidade caudal da linha primitiva; o trofoblasto pode contribuir também com células. No 12º dia, o saco vitelínico primário é deslocado (e em seguida degenerado) pela segunda sequência de migração de células do hipoblasto, as quais formam o saco vitelínico secundário (Figs. 2-5 e 2-6). Um novo espaço — o **celoma extraembrionário** ou **cavidade coriônica** — forma-se pela divisão do mesoderma extraembrionário em duas camadas. O celoma extraembrionário separa o embrião, com seu âmnio e seu saco vitelínico, da parede externa do blastocisto, agora denominada **córion**. Com a divisão do mesoderma extraembrionário em duas camadas, o âmnio, o saco vitelínico e o córion tornam-se estruturas com duas camadas, sendo o âmnio e o córion considerados (com base na embriologia comparativa) formados de ectoderma extraembrionário e mesoderma, enquanto o saco vitelínico é considerado formado de endoderma extraembrionário e mesoderma. No 13º dia, o disco embrionário com seu âmnio dorsal e o saco vitelínico ventral estão suspensos na cavidade coriônica unicamente por um espesso pedúnculo de mesoderma extraembrionário, denominado **pedúnculo de conexão** (Fig. 2-6).

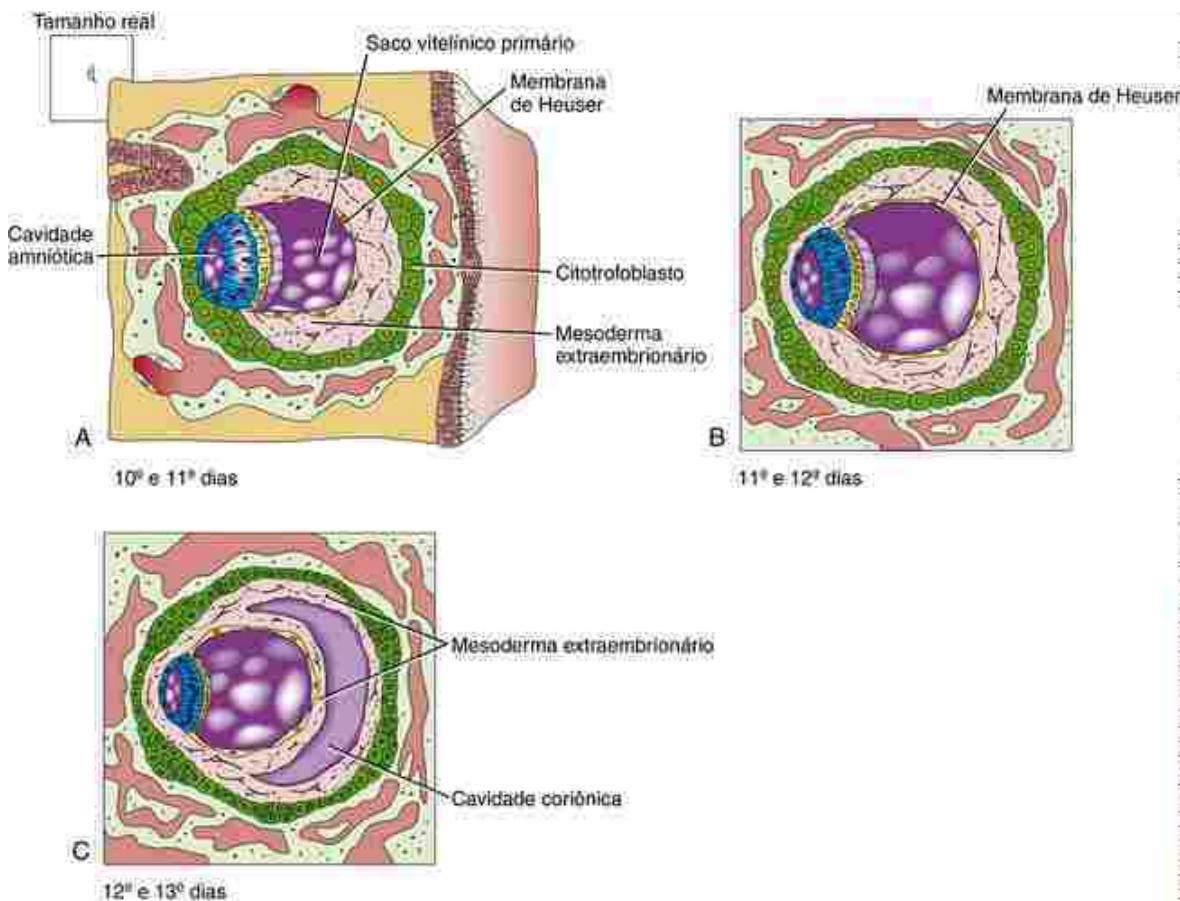


FIGURA 2-4 Mesoderma extraembrionário é formado na metade da segunda semana. *A*, No 10º e 11º dias, o espaço entre a membrana de Heuser e o citotrofoblasto torna-se repleto de células mesenquimais extraembrionárias dispersas. Ao mesmo tempo, as lacunas trofoblásticas começam a se anastomosar com capilares maternos e se tornam repletas de sangue. *B*, No 11º e 12º dias, o mesoderma extraembrionário expande-se entre o âmnio e o citotrofoblasto. *C*, No 12º e 13º dias, o mesoderma extraembrionário divide-se em duas camadas: uma cobrindo o lado externo da membrana de Heuser e a outra revestindo o interior do citotrofoblasto. O espaço entre as duas camadas é a cavidade coriônica.

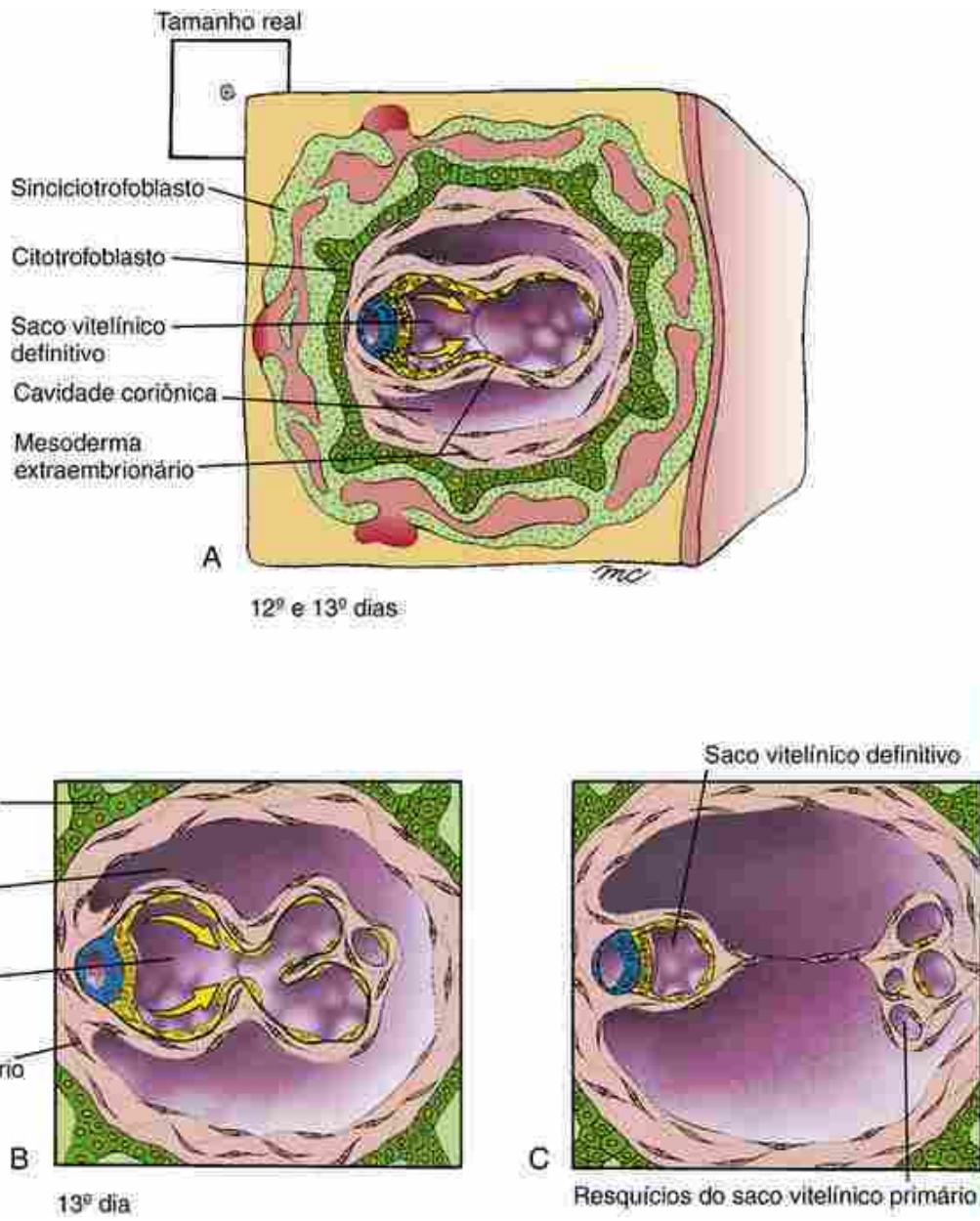


FIGURA 2-5 Formação do saco vitelínico secundário (definitivo) e degeneração do saco vitelínico primário. A, No 12º e 13º dias, uma segunda onda de migração de células do hipoblasto produz uma nova membrana que migra dentro do mesoderma extraembrionário, empurrando o saco vitelínico primário em frente a ele. Esta nova camada torna-se o revestimento endodermal do saco vitelínico secundário (definitivo). B, C, Conforme o saco vitelínico definitivo desenvolve-se no 13º dia, o saco vitelínico primário fragmenta-se e é reduzido a várias vesículas na extremidade abembriônica (oposta ao embrião) da cavidade coriônica.

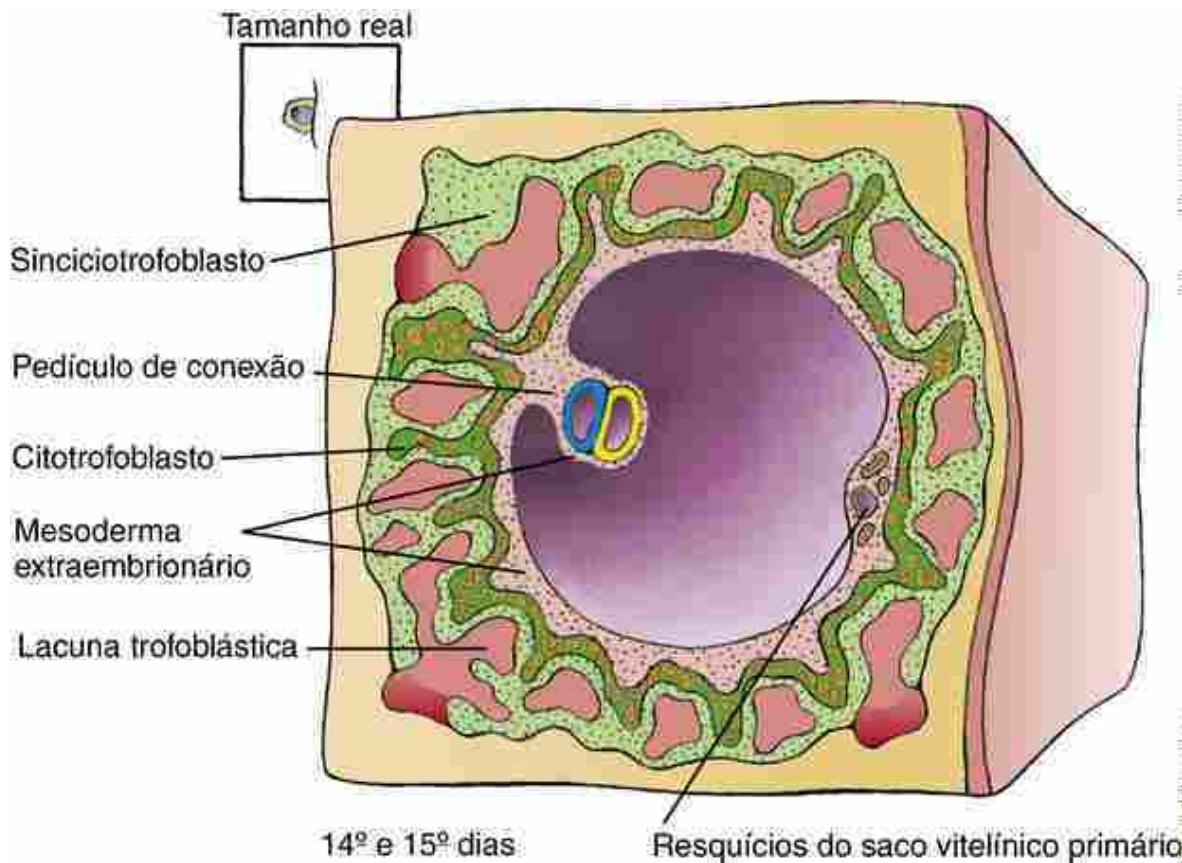


FIGURA 2-6 No final da segunda semana, o saco vitelínico definitivo perde o contato com os resquícios do saco vitelínico primário, e o disco embrionário bilaminar com seu âmnio dorsal e saco vitelínico ventral está suspenso na cavidade coriônica por um espesso pedículo de conexão.

Tradicionalmente, a *cavidade* do saco vitelínico tem sido considerada como saco vitelínico (ou, às vezes, como **cavidade exocelômica**), e seu revestimento considerado como a membrana exocelômica, ou membrana de Heuser; esta convenção é seguida neste livro. Porém, deve ser lembrado que, como o âmnio, o saco vitelínico é uma membrana extraembrionária que contém uma cavidade. Assim, o **saco vitelínico definitivo**, originado depois da formação e divisão do mesoderma extraembrionário, é uma estrutura de dupla camada que consiste internamente em endoderma derivado do hipoblasto e externamente de mesoderma (a observação de cortes de muito poucos embriões humanos realmente disponíveis para estudo neste estágio faz com que seja compreensível por que a origem do saco vitelínico é incerta; Fig. 2-7).

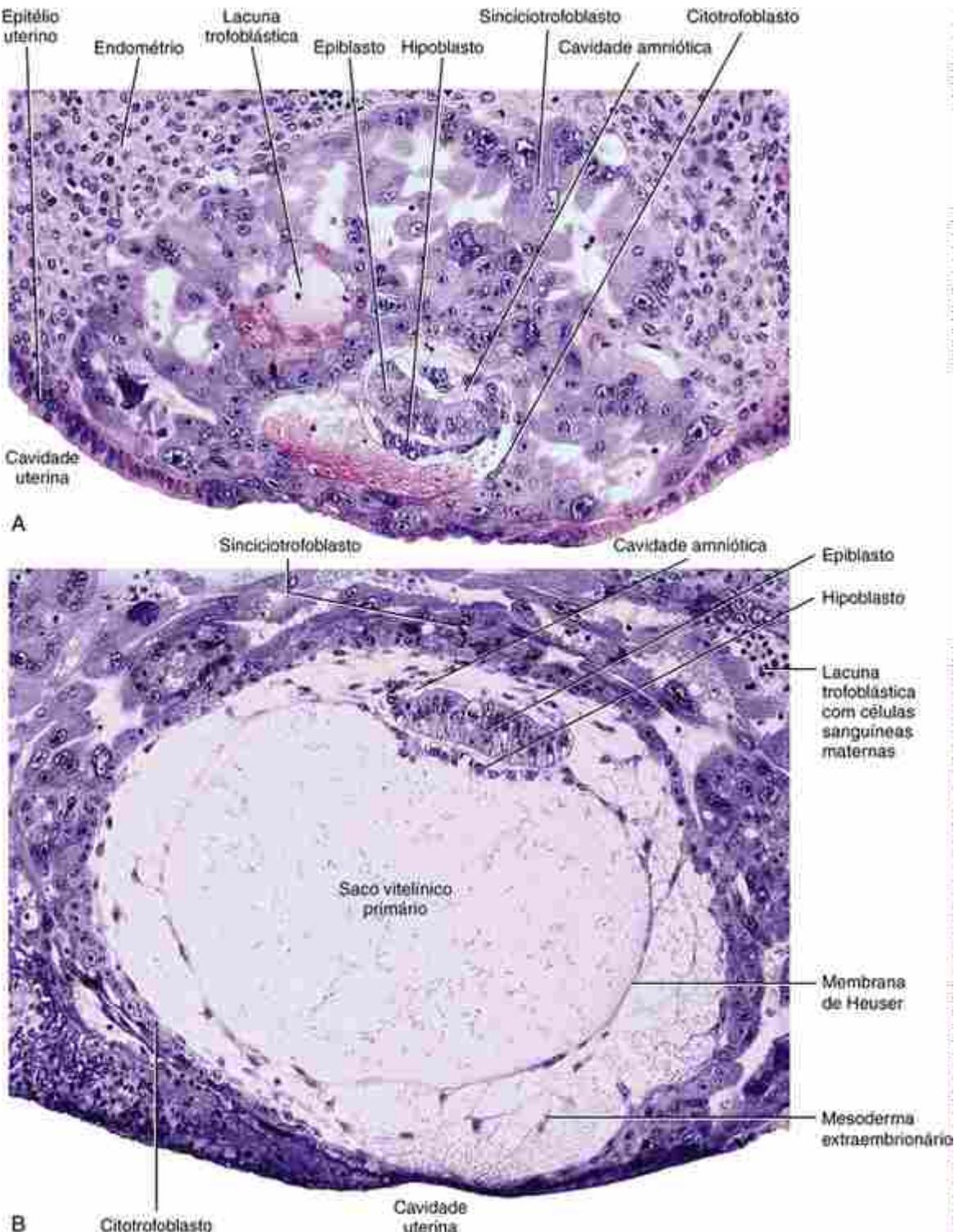


FIGURA 2-7 Secções de blastocistos humanos. A, Um embrião humano no nono dia no estágio de formação do âmnio. B, Um embrião humano no 12º dia com o saco vitelínico primário. A e B estão reproduzidos com o mesmo aumento, ilustrando o rápido crescimento que ocorre no embrião em apenas 3 dias.

O saco vitelínico definitivo permanece como a principal estrutura associada ao embrião em desenvolvimento, durante a quarta semana, e executa funções iniciais importantes. O mesoderma extraembrionário que forma a camada externa do saco vitelínico é o principal local de **hematopoiese** (formação do sangue, discutida no Cap. 13). Também, como descrito no Capítulo 1, **células germinativas primordiais** podem ser primeiros identificados na parede do saco vitelínico. Depois da quarta semana, o saco vitelínico é ultrapassado pelo rápido crescimento e desenvolvimento do disco embrionário. O saco vitelínico normalmente desaparece antes do nascimento, porém em raras ocasiões ele persiste na forma de uma anomalia do tubo digestório denominada **divertículo de Meckel** (discutida no Cap. 14).

O sistema circulatório uteroplacentário inicia o desenvolvimento durante a segunda semana

Durante a primeira semana do desenvolvimento, o embrião obtém nutrientes e elimina resíduos por simples difusão. O rápido crescimento do embrião torna necessário um método de troca mais eficiente. Esta necessidade é suprida pela **circulação uteroplacentária** — o sistema pelo qual os sanguíneos materno e fetal fluem através da **placenta**, entrando em proximidade e trocando gases e metabólitos por difusão. Este sistema começa a se formar no nono dia, como vacúolos denominados **lacunas trofoblásticas** que se abrem dentro do sinciciotrofoblasto (Fig. 2-3). Capilares maternos próximos ao sinciciotrofoblasto, então, se expandem para formar os **sinusoides maternos**, que rapidamente se anastomosam com as lacunas trofoblásticas (Figs. 2-4A e 2-8A). Entre o 11º e o 13º dia, como essas anastomoses continuam a se desenvolver, o citotrofoblasto prolifera localmente para formar extensões que crescem dentro do sinciciotrofoblasto sobrejacente (Figs. 2-5A e 2-8A). O crescimento dessas protuberâncias parece ser induzido pelo mesoderma extraembrionário subjacente recém-formado. Essas extensões do citotrofoblasto crescem para dentro das lacunas preenchidas por sangue materno, transportando com elas uma camada de sinciciotrofoblasto. Como resultado desses crescimentos são formadas as **vilosidades coriônicas tronco primárias** (Fig. 2-8 A).

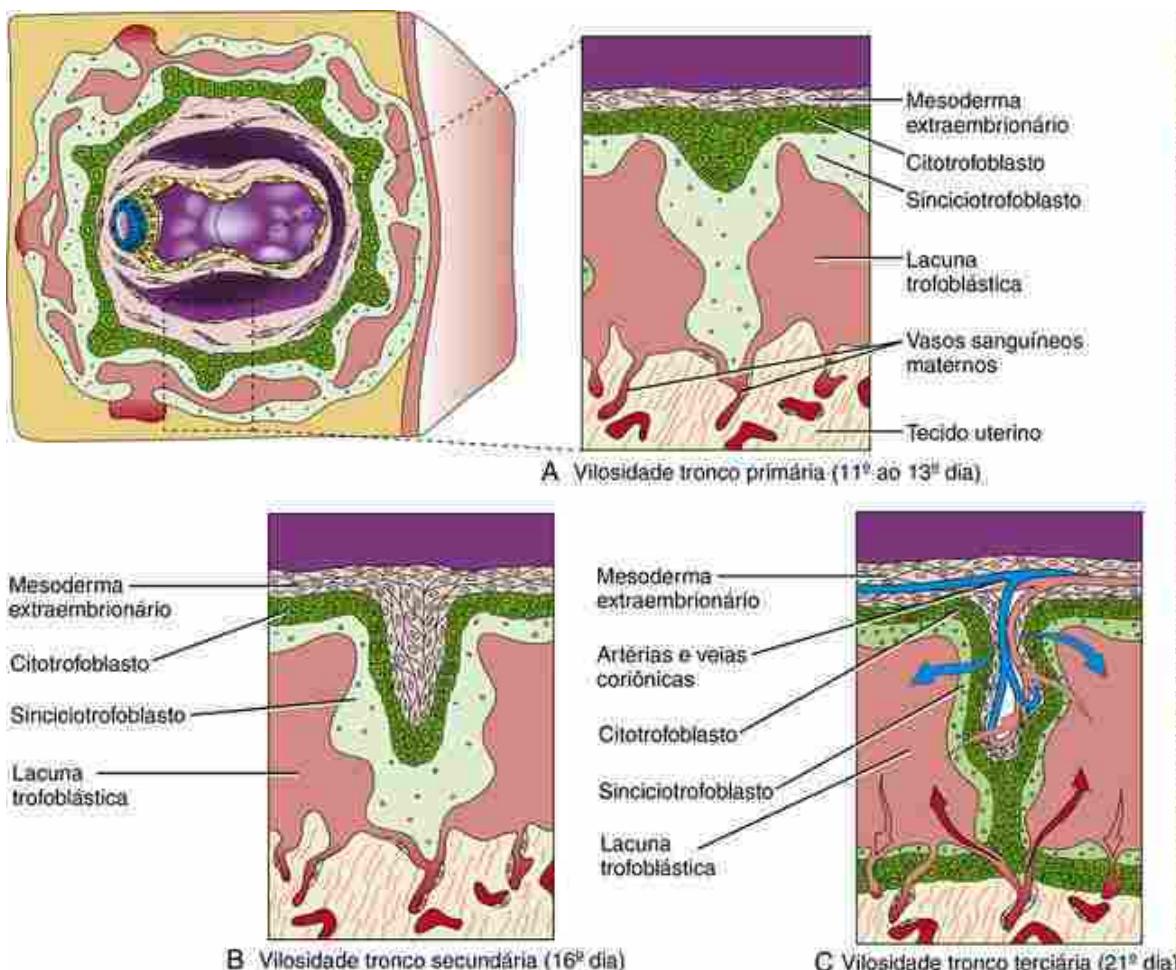


FIGURA 2-8 Formação da vilosidade coriônica. A, A vilosidade tronco primária forma-se entre o 11º e o 13º dia, com as proliferações citotrofoblásticas que se projetam em direção ao sinciciotrofoblasto. B, No 16º dia, o mesoderma extraembrionário começa a proliferar e invade o centro de cada vilosidade tronco primária, transformando-as em vilosidades troncos secundárias. C, No 21º dia, o núcleo de mesoderma diferencia-se em tecido conjuntivo e vasos sanguíneos, formando a vilosidade tronco terciária.

Apenas a partir do 16º dia, o mesoderma extraembrionário associado ao citotrofoblasto penetra no interior das vilosidades tronco primárias, transformando-as então em **vilosidades coriônicas tronco secundárias** (Fig. 2-8 B). No final da terceira semana, este mesoderma da vilosidade origina os vasos sanguíneos fetais que se conectam com os vasos em formação no próprio embrião, estabelecendo então uma circulação uteroplacentária funcional (como discutido no Cap. 12, o coração primitivo começa a bater no 22º dia). As vilosidades que contêm vasos sanguíneos diferenciados são denominadas **vilosidades coriônicas tronco terciárias** (Fig. 2-8 C). Como pode ser visto na **Figura 2-**

8 C, os gases, nutrientes e resíduos que se difundem entre o sangue materno e fetal devem atravessar quatro camadas de tecidos:

- O endotélio dos capilares das vilosidades.
- O tecido conjuntivo frouxo no centro da vilosidade (mesoderma extraembrionário).
- Uma camada de citotrofoblasto.
- Uma camada de sinciciotrofoblasto.

Como o revestimento endotelial dos sinusoides maternos não invade as lacunas trofoblásticas, a camada materna não precisa ser atravessada. A diferenciação posterior da placenta e das vilosidades tronco, durante o desenvolvimento fetal, é discutida no [Capítulo 6](#).

Na Clínica

Mola hidatiforme

Uma Mola Hidatiforme Completa é Uma Gestação sem Embrião

Em uma gestação normal, o embrioblasto origina o embrião, e o trofoblasto origina os componentes fetais da placenta. Entretanto, em aproximadamente 0,1 a 0,5% das gestações, o feto está ausente e o conceito é formado apenas por membranas placentárias. Um conceito deste tipo é denominado **mola hidatiforme completa** (Fig. 2-9). Como a vasculatura fetal que normalmente drena o líquido a partir da circulação materna está ausente, as vilosidades placentárias de uma mola completa são dilatadas e vesiculadas, lembrando cachos de uva ("hidatíde" vem do grego *hydatidos*, gotas de água). Molas completas muitas vezes abortam no início da gravidez. Se elas não abortam, os médicos podem descobri-las porque elas resultam em sangramento vaginal, especialmente entre a 6^a e a 16^a semana de gestação, e elas às vezes causam náuseas excessivas e vômito (devido à elevação da gonadotrofina coriônica humana, hCG). Como o tecido trofoblástico normal, as molas secretam hCG. Molas e resquícios de molas são diagnosticados tomando-se como base um nível anormalmente elevado de hCG plasmático.

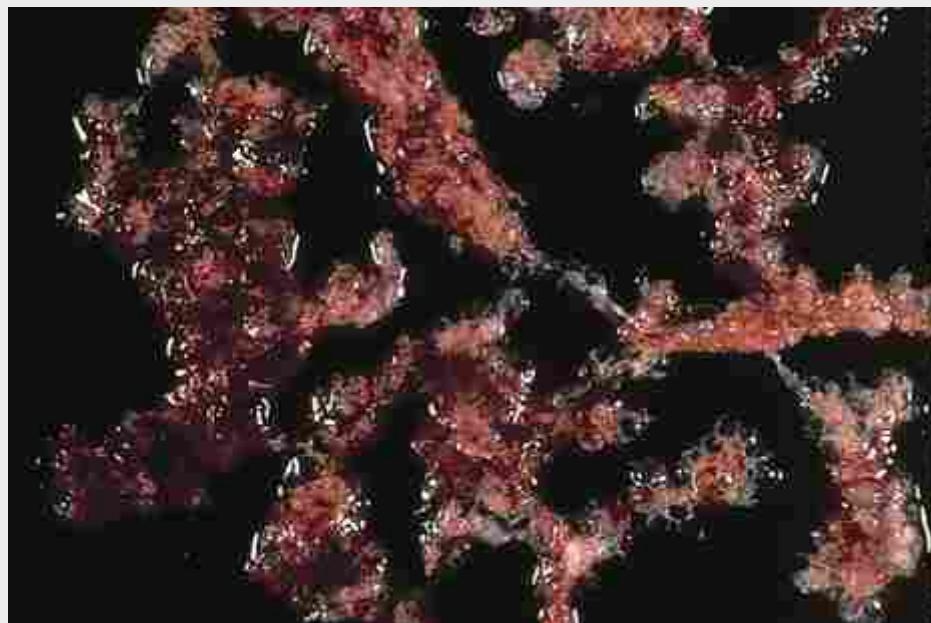


FIGURA 2-9 Esta mola hidatiforme completa foi “dissecada” para mostrar as vilosidades edemaciadas e claras, características destas estruturas.

Gestações de mola são mais comuns em mulheres nos extremos da idade reprodutiva: mulheres no início da adolescência ou na perimenopausa correm um risco maior. Também o risco de gestação de mola (incluindo coriocarcinoma, discutido adiante) é até 15 vezes maior para mulheres de descendência africana ou asiática.

A identificação definitiva da mola hidatiforme requer uma análise citogenética. A análise dos cromossomos tem mostrado que, embora as células de uma mola completa tenham um cariotípico diploide normal, todos os cromossomos são derivados do pai. Estudos recentes demonstraram que esta situação usualmente surge de uma das duas maneiras descritas a seguir (Fig. 2-10). Dois espermatozoides podem fertilizar um ovócito que carece (ou perde) seu próprio núcleo (**fertilização dispérnica**) e os dois pronúcleos masculinos podem, então, fusionar-se para formar um núcleo diploide. Alternativamente, se um único espermatozoide fertilizar um ovócito que carece

(ou perde) seu próprio núcleo (**fertilização monoespérmbica**), o pronúcleo masculino resultante poderá sofrer uma mitose inicial (duplicando seu DNA) sem citocinese (divisão de uma única célula em duas) para produzir um núcleo diploide, o qual duplica seu DNA novamente, antes que a primeira clivagem ocorra. Uma mola completa produzida por fertilização dispérmbica pode ter tanto um cariotípico 46,XX quanto 46,XY. Toda mola completa produzida por fertilização monoespérmbica é, em contraste, 46,XX, porque zigotos 46,YY carecem de genes essenciais localizados no cromossoma X e não podem se desenvolver. A pesquisa de cariotípico mostra que a maioria (90%) das molas hidatiformes completas são 46,XX, indicando que a fertilização monoespérmbica é a forma dominante.

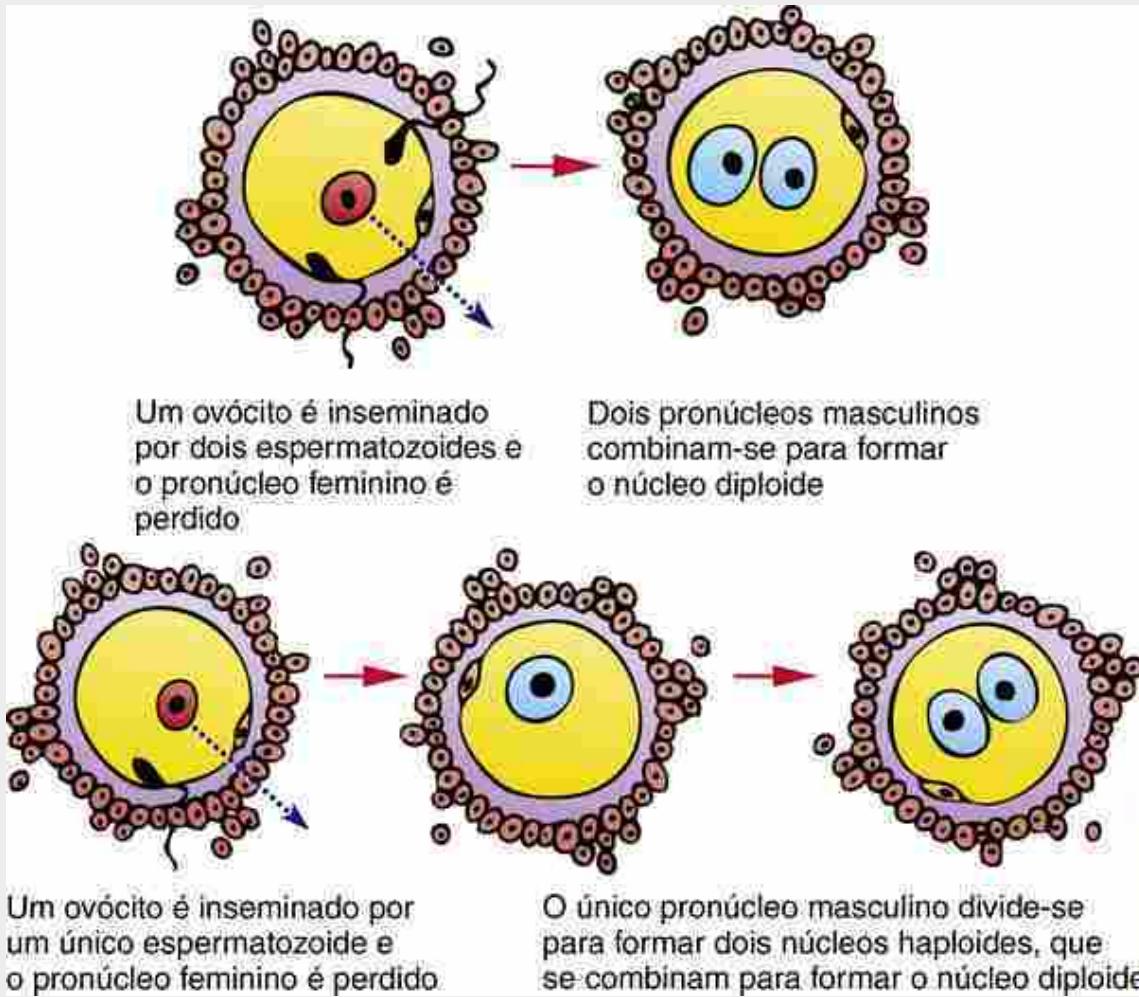


FIGURA 2-10 Formação da mola hidatiforme completa. Uma mola completa é produzida quando um ovóculo que perdeu seu pronúcleo feminino adquire dois pronúcleos masculinos. Dois mecanismos são mostrados.

Raramente molas completas podem ter cromossomas derivados de ambos, cromossomas maternos e paternos (origem biparental). Isso ocorre quando o *imprinting* de genes maternos é perdido no ovo (discutido a seguir), resultando em um equivalente funcional de dois genomas paternos. Este tipo de mola completa é recorrente e é herdado como um traço recessivo autossomal. Uma região candidata a este traço foi identificada no braço longo do cromossoma 19.

Molas Hidatiformes Parciais são Geralmente Triploides com uma Dose Dupla de Cromossomas Paternos e Mostram o Desenvolvimento Parcial do Embrião

Ao contrário da mola hidatiforme completa, alguma evidência de desenvolvimento embrionário é geralmente encontrada na **mola hidatiforme parcial**. Mesmo se nenhum resquício de embrião for encontrado até a mola ser abortada, a existência de típicos eritroblastos embrionários nucleados na vilosidade da mola e de vasos sanguíneos fetais, indica que um embrião estava presente. Em raras ocasiões nasce um feto anormal. As vilosidades edemaciadas que são características da mola completa estão presentes em apenas algumas regiões, os sintomas clínicos que indicam uma gestação de mola (discutidos anteriormente) são usualmente amenos e o desenvolvimento é mais lento do que em casos de molas completas. Em geral, abortos espontâneos não ocorrem até

o segundo trimestre (4 a 6 meses).

A análise do cariótipo indica que os conceitos deste tipo são, em geral, triploides (69, XXX; 69 XXY; ou 69 XYY), com dois conjuntos de cromossomas provenientes do pai. Estudos têm demonstrado que estas molas resultam da fertilização de um ovócito que contém um pronúcleo feminino por dois espermatozoides ou possivelmente por um único espermatozoide diploide anormal (Fig. 2-11).

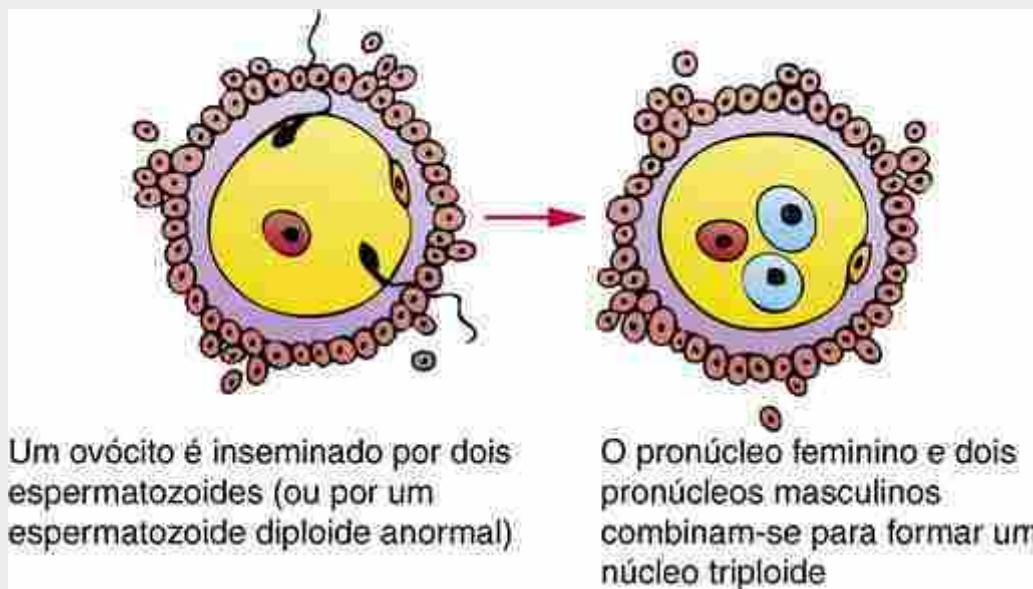


FIGURA 2-11 Uma mola hidatiforme parcial é produzida quando um ovócito normal adquire dois pronúcleos masculinos (ou um pronúcleo masculino diploide).

Molas Hidatiformes Podem dar Origem a Doença Trofoblástica Persistente ou Coriocarcinoma

O tecido trofoblástico residual remanescente no útero após o aborto espontâneo ou a remoção cirúrgica de uma mola hidatiforme pode dar origem a uma condição conhecida como **doença trofoblástica persistente**, na qual a mola remanescente cresce e forma um tumor. Tumores que surgem de molas parciais são usualmente benignos. Quando tumores originados de molas completas tornam-se malignos, eles podem crescer como uma **mola invasiva** ou como um **coriocarcinoma** metastático. Coriocarcinomas derivados de molas são raros, ocorrendo em 1 em cada 40 mil gestações. Todas as formas de mola persistente, benignas ou malignas, secretam altos níveis de hCG.

Há não muito tempo, a taxa de mortalidade para pacientes com mola invasiva girava em torno de 60%, e a mortalidade para coriocarcinoma era de, aproximadamente, 100%. Hoje, cirurgia mais quimioterapia, se necessária, têm resultado em uma taxa de cura para doença não metastática e doença metastática de baixo risco de aproximadamente 100%, enquanto a taxa de cura para doença metastática de alto risco gira em torno de 80% a 90%.

A análise citogenética de molas hidatiformes suporta a hipótese (denominada **hipótese do conflito genético**) de que um complemento genético paterno é responsável pelo desenvolvimento inicial da placenta e um complemento genético materno é responsável pelo desenvolvimento inicial do embrião. Experimentos que confirmam esta hipótese e revelam diferenças moleculares entre cromossomas paternos e maternos são discutidos na seção seguinte.

No Laboratório de Pesquisa

Imprinting genômico

Cromossomas Maternos Regulam o Desenvolvimento do Embrioblasto, e Cromossomas Paternos Regulam o Desenvolvimento do Trofoblasto

Como discutido na seção anterior, a análise citogenética da mola hidatiforme humana sugere que complementos genômicos materno e paterno desempenham diferentes funções no desenvolvimento inicial. Estas funções têm sido estudadas com ovócitos de camundongo experimentalmente manipulados para conter dois pronúcleos masculinos (androgenotes) ou dois pronúcleos femininos (ginogenotes). Ovócitos deste tipo podem ser produzidos de várias maneiras. Ovócitos fertilizados de camundongo podem ser removidos da ampola da tuba uterina no estágio pronuclear do desenvolvimento e ser mantidos por uma sucção leve na ponta de uma pipeta de vidro. O pronúcleo

feminino ou o pronúcleo masculino ligeiramente maior pode, então, ser removido com uma pipeta muito fina e substituído por um pronúcleo do tipo oposto. Outra técnica envolve a remoção do pronúcleo masculino ou feminino de um ovócito fertilizado, seguida do bloqueio da clivagem com um agente bloqueador apropriado enquanto uma única mitose ocorre, produzindo um zigoto diploide. A remoção do pronúcleo feminino de um ovócito não fertilizado e a fertilização de um ovócito anucleado com um espermatозoide diploide anormal também pode ser usada para produzir ovócitos com dois pronúcleos masculinos.

Quando um zigoto experimental contendo dois pronúcleos masculinos (que tenham entre si pelo menos um cromossoma X) é implantado dentro de um camundongo fêmea pseudográvida, ele desenvolve um trofoblasto e dá origem a uma massa de membranas placentárias semelhantes à mola hidatiforme humana. Muito raramente, forma-se um embrião que se desenvolve até um estágio comparável a aproximadamente o estágio de 3 semanas do desenvolvimento humano. Em contraste, zigotos contendo dois pronúcleos femininos desenvolvem-se pequenos, mas formam embriões identificáveis com membranas placentárias reduzidas. Estes embriões ginogênicos (ou **partenogênicos**; os dois termos referem-se ao desenvolvimento na ausência de fertilização ou na ausência de pronúcleo masculino) nunca sobrevivem a termo. É importante enfatizar que esses padrões de desenvolvimento não dependem dos cromossomas sexuais presentes no zigoto (XX ou XY), mas apenas do sexo do progenitor de quem o genoma é herdado.

Expressão Gênica Inicial e Imprinting Genômico

O que está por trás do mecanismo de expressão independente dos genomas materno e paterno durante o desenvolvimento inicial? Esta questão foi abordada pelo estudo da expressão de um oncogene marcador viral, o oncogene *Myc*, que foi introduzido em uma linhagem de **camundongos transgênicos** (camundongos cujo genoma contém uma sequência de DNA estranha, discutida no [Cap. 5](#)). Em teoria, camundongos que portam este transgene integrado devem expressar o produto do gene quando estimulados apropriadamente. Entretanto, verificou-se que o produto do gene é formado somente quando o gene tinha sido herdado do pai, mas não quando tinha sido herdado da mãe. Investigações posteriores revelaram uma importante diferença entre o DNA da linhagem das células germinativas masculinas e femininas: o DNA da linhagem germinativa feminina estava mais **metilado** (carrega mais grupos de metil) do que o DNA da linhagem germinativa masculina.

Investigações adicionais foram feitas com diversas linhagens de camundongos transgênicos carreando transgenes estranhos em vários locais do genoma. Nos casos em que estes transgenes apresentaram um grau de metilação “masculina” ou “feminina”, o padrão de metilação mostrado em células somáticas dependeu do progenitor do qual o gene foi herdado. Desse modo, o transgene apresenta o padrão feminino de metilação nas células somáticas de ambos os filhos e filhas se tiver sido herdado da mãe. Entretanto, quando um desses filhos passou o gene para sua prole, suas células somáticas apresentaram padrão de metilação masculino. A reversão análoga do padrão de metilação ocorre também quando um transgene é transmitido do avô para o neto através da filha.

Imprinting genômico é o processo pelo qual genes são “impressos”, ou seja, marcados de forma que, ao invés de serem expressos bialelicamente (p. ex., ambos os alelos maternos e paternos contribuíram para a formação do zigoto durante a fertilização), eles são expressos a partir de apenas um alelo, de forma progenitor-específica. Uma das principais formas como ocorre essa marcação é através da metilação do DNA. Além disso, a marcação exógena introduz transgenes, como discutido antes, e a metilação marca genes endógenos, particularmente vários genes envolvidos na regulação do crescimento intrauterino. Cerca de 80 genes com *imprinting* foram identificados e a maioria está agrupada. Isso permite que grupos de genes sejam impressos coordenadamente através de uma região cromossomal denominada **centro de imprinting**.

Os dois primeiros genes endógenos descobertos com *imprinting* foram *Igf2* (fator de crescimento semelhante à insulina 2) e seu receptor *Igf2r*. Por causa do *imprinting*, o alelo *Igf2* herdado do pai é expresso no embrião e no adulto, enquanto o alelo herdado da mãe é silencioso. Em contraste, o alelo *Igf2r* herdado da mãe é expresso, enquanto o alelo herdado do pai é silencioso. O *imprinting* ocorre somente em mamíferos vivíparos, ou seja, mamíferos nos quais o feto se desenvolve no útero (o *imprinting* não ocorre em mamíferos que põem ovos). *Imprinting* é a hipótese para mediar um “cabo de guerra” entre alelos paternos e maternos. Esta **hipótese do conflito genético** (ou hipótese do conflito direcionado por viviparidade) propõe que em mamíferos poliandrinos (os que têm múltiplos parceiros) há um conflito entre machos e fêmeas durante a alocação de recursos maternos para a descendência (nesta hipótese, o feto é visto como um parasita que compete com a mãe e com os futuros filhotes por recursos). Os pais fornecem o máximo de recursos para sua prole, em detrimento das mães e dos futuros filhos, que podem ser criados por outros machos. As mães fornecem recursos iguais para todos os seus filhotes. O resultado para este “cabo de guerra” é que ocorre um comprometimento na taxa de crescimento.

Em suporte à hipótese do conflito genético, mutações em camundongos com perda de função do *Igf2* (um gene paterno expresso, como discutido anteriormente) resultam na redução de 40% do crescimento, enquanto mutações no *Igf2r* resultam em uma prole maior em tamanho. Para mutantes duplos: a perda de ambos, *Igf2* e *Igf2r*, resulta na

geração de camundongos de tamanho normal.

Os locais de metilação do DNA durante o *imprinting* são frequentemente capazes de alternar bases de citosina e guanina (denominadas **ilhas CpG**; onde p indica que C e G estão unidas por uma ligação fosfodiéster). Como ilhas CpG podem ser localizadas em torno de promotores de genes, a metilação de ilhas CpG muitas vezes leva ao silenciamento ou ativação do gene. *Imprints* de metilação ocorrem durante o ciclo de vida (Fig. 2-12). No embrião, genes com *imprinting* são expressos em um padrão específico dos pais. Mas em células germinativas primordiais, os *imprintings* são apagados. Durante a gametogênese, os *imprintings* são novamente estabelecidos, de forma que a espermatogênese estabelece o padrão específico masculino (*i. e.*, o padrão do pai), enquanto o padrão específico feminino é estabelecido na ovocitogênese (*i. e.*, o padrão da mãe). Depois da fertilização, o padrão específico dos pais é mantido no novo indivíduo (exceto para as células germinativas primordiais dele ou dela, onde mais uma vez ocorre o apagamento).

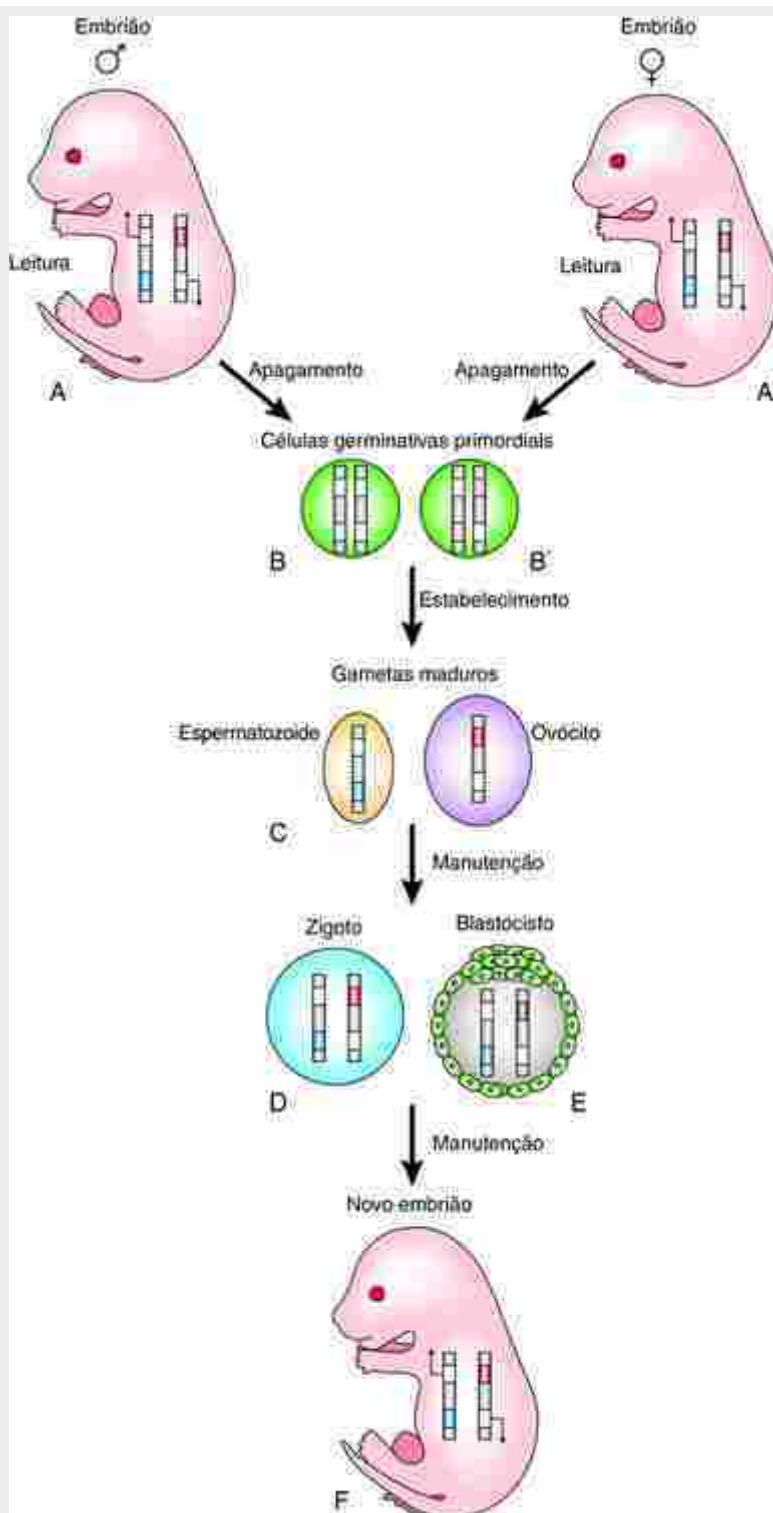


FIGURA 2-12 Três estágios (apagamento, estabelecimento e manutenção) no ciclo de vida dos *imprintings* por metilações. **A, A'**, Nos tecidos somáticos (corpo) do embrião, genes com *imprinting* são expressos a partir de um único alelo, de maneira específica do gênero do progenitor. Um par de cromossomas é ilustrado contendo dois genes com *imprinting* (o cromossoma que contém uma marca vermelha foi herdado da mãe e o marcado em azul, do pai). Neste exemplo, genes metilados, indicados por vermelho e azul, são silenciados; assim, o outro alelo de cada gene é transcrito (setas). **B, B'**, Este padrão de *imprinting* genômico é apagado nas células germinativas primordiais embrionárias. **C, D, E, F**, Da fertilização em diante no desenvolvimento, o *imprinting* é mantido.

Como ocorre o *imprinting*? A resposta é que ele envolve a **regulação epigenética** da expressão do gene, ou seja, alterações herdadas na expressão do gene que ocorrem devido a outros mecanismos que não alterações na sequência do DNA. Envolve alterações no genoma, como **metilação do DNA** (que, tipicamente, bloqueia a expressão do gene em um alelo) e **modificações de histona** (histonas são proteínas básicas que se associam ao

DNA), como acetilação, fosforilação e metilação. Tais mudanças nas histonas são mediadas pela ação de várias enzimas (p. ex., acetil transferases, diacetilases, fosforilases, metil transferases, dimetilases).

Inativação do X

Para compensar a existência de um único cromossoma X nas células masculinas (46,XY), um dos dois cromossomas X ativos em cada célula do blastocisto feminino (46,XX) é inativado (o processo de **compensação de dosagem**). A inativação é randômica em relação à fonte parental do cromossoma X no embrioblasto (e não é, assim, um exemplo de *imprinting*), mas apenas os cromossomas X derivados do pai são inativados no trofoblasto (um exemplo de *imprinting*). A inativação do cromossoma X em embriões femininos requer a expressão de um *locus* específico no cromossoma X, o *locus Xist* (transcrito gênico específico do X inativo), o qual produz um RNA maior, sem nenhuma capacidade de codificação de proteína, que permanece associado (“cobrindo”) o cromossoma. Além disso, a expressão do *Xist* leva à metilação das ilhas CpG na terminação 5' dos genes inativados deste cromossoma. O cromossoma X inativado também carece de acetilação da histona H4 e, ao final, o cromossoma se condensa em uma estrutura organizada e reconhecível denominada **corpo de Barr**. Embora este cromossoma X permaneça inativo em todas as células somáticas femininas, os cromossomas X inativados na ovogônio da linhagem germinativa feminina são reativados durante a vida fetal inicial. Então, o zigoto masculino obtém um único cromossoma X ativo proveniente da mãe, e o zigoto feminino obtém dois cromossomas X ativos, um da mãe e um do pai. Ambos os cromossomas X em cada célula do embrião feminino inicial permanecem, então, ativos até que um deles é novamente inativado no estágio de blastocisto (como discutido antes).

Na Clínica

A inativação do X afeta a herança da doença congênita

Uma consequência da inativação randômica do X em células femininas é que as fêmeas são **mosaicos genéticos**. Algumas células expressam apenas genes ligados ao X herdado da mãe e algumas células expressam apenas genes ligados ao X do pai. Então, em casos nos quais a fêmea descendente herda uma mutação *recessiva* ligada ao X de um dos pais e um alelo tipo selvagem do outro, ela não exibe sintomas da doença por causa da compensação pelas células do seu corpo que expressam o alelo selvagem. Esta pessoa é chamada de **carreadora silenciosa**; ela poderá transmitir a doença a seus filhos (que herdam o X que porta o gene mutado). Exemplos de tais doenças recessivas ligadas ao X incluem a **distrofia muscular de Duchenne** e a **síndrome de Simpson-Golabi-Behmel**. A distrofia muscular de Duchenne resulta de uma mutação no gene que codifica a DISTROFINA. Esta mutação causa distrofia progressiva e degeneração das miofibrilas do músculo esquelético cardíaco e retardamento mental leve. A síndrome de Simpson-Golabi-Behmel resulta de uma mutação no gene para GLIPICAN-3. Esta mutação causa protrusão maxilar, ponte nasal larga, mãos e dedos pequenos, defeitos cardíacos, defeitos renais e hipogonadismo.

Os descendentes que herdam a mutação *dominante* ligada ao X de um dos pais exibem alguns sintomas da doença, independentemente do sexo, porque a expressão do alelo selvagem em outras células não pode ser completamente compensada. Estas incluem doenças como a **síndrome de Goltz** (atrofia da pele e malformações esqueléticas) e **incontinentia pigmenti** (pigmentação irregular). A primeira síndrome resulta de uma mutação em PORCN (homólogo do gene *Drosophila porcupine*), enquanto a segunda é resultado de uma mutação em IKBKG (um modulador essencial da sinalização NF-KAPPAB).

Imprinting genômico afeta a herança da doença congênita

O padrão de herança de algumas doenças genéticas humanas é também dependente de **diferenças de imprinting** em autossomas masculinos e femininos. Por exemplo, deleções em uma região do cromossoma 15 humano (15q11.2-q13) resultam na **síndrome de Prader-Willi**, quando herdadas do pai, e a **síndrome de Angelman**, quando herdadas da mãe (estas síndromes são discutidas no “Caso Clínico” deste capítulo). Estas duas síndromes são caracterizadas por diferentes sintomas. Os sintomas da síndrome de Prader-Willi incluem problemas de alimentação na infância, com rápido ganho de peso nas crianças, hipogonadismo e leve retardamento mental. Os sintomas da síndrome de Angelman incluem retardamento no desenvolvimento, distúrbios da fala, do equilíbrio e comportamento alegre incomum. Muitos genes com *imprinting* estão localizados na região 15q11.2-q13 do cromossoma 15, incluindo o centro de *imprinting* (IC), que controla o *imprinting* dos genes na região 15q11.2-q13. A maioria dos casos da síndrome de Prader-Willi e da síndrome de Angelman resulta de grandes deleções na região 15q11.2-q13 do cromossoma 15. Porém, mutações específicas do IC nos cromossomas herdados paternalmente causam a síndrome de Prader-Willi, enquanto mutações do gene IC materno causam a síndrome de Angelman. Uma pequena porcentagem dos casos de síndrome de Prader-Willi resulta da disomia uniparental materna do cromossoma 15, ao passo que uma pequena porcentagem de casos da síndrome de Angelman resulta da disomia

uniparental paterna do cromossoma 15. A **disomia uniparental** é uma condição na qual ambos os cromossomas de um dado par são herdados de um dos pais.

O desenvolvimento de várias **síndromes de supercrescimento** congênitas também resulta de *imprinting* anormal de autossomos humanos. Por exemplo, translocações, duplicações ou mutações do cromossoma humano 11p15 podem levar à expressão alterada do FATOR DE CRESCIMENTO 2 SEMELHANTE À INSULINA (ILGF2) e de outros genes, causando a **síndrome de Beckwith Wiedemann**, uma síndrome caracterizada por macrossomia (corpo grande), anormalidades renais e tumores embrionários. O rompimento do *imprinting* normal pode também levar ao desenvolvimento de cânceres, incluindo o **renal (tumor de Wilms)**, do **côlon** e **carcinoma de colo**.

Embriologia na Prática

Como essas células adquirem suas posições?

Uma mãe leva seu filho de 14 anos de idade a uma clínica de dermatologia porque uma lesão pouco comum surgiu em seu couro cabeludo. Seu comentário para a enfermeira é que “parecem fragmentos de verruga no topo de sua cabeça”. A mãe relata que a área da lesão era um ponto achatado, acastanhado, presente ao nascimento, mas que se tornou mais texturizado nos últimos 6 meses.

O médico, de fato, encontrou uma lesão desprovida de pelos no vértice do couro cabeludo, com textura verrucosa (ou seja, escamosa e semelhante a verruga) e cor acastanhada. A lesão não parecia ser dolorosa ao menino. Um exame mais cuidadoso de toda a pele do menino revelou não haver outras lesões similares e nenhuma outra anormalidade na pele.

O médico informa à mãe que a lesão é benigna e é conhecida como nevo sebáceo. Descrito em 1895, o nevo sebáceo é um crescimento hamartomatoso (ou seja, semelhante a um tumor) das glândulas sebáceas. Como outras glândulas sudoríparas, as glândulas sebáceas respondem a hormônios e frequentemente tornam-se mais aparentes durante a puberdade.

A principal importância médica do nevo sebáceo relaciona-se ao risco de transformação maligna, pois estudos anteriores reportam a ocorrência em 10 a 15% das lesões. Abordagens recentes sugerem uma taxa bem menor, e a necessidade e o tempo para a realização de ressecção cirúrgica permanecem controversos.

A maioria das lesões de nevos sebáceos é causada por mutações pós-zigóticas no gene HRAS, que resulta na substituição de uma arginina por uma glicina na posição 13 da proteína (p.Gly13Arg).

Embora o nevo sebáceo possa ocorrer em qualquer parte do corpo, essas mutações mosaico aleatórias tendem, ostensivamente, a ocorrer em células que se posicionam no vértice do couro cabeludo. A explicação para essa predileção posicional é desconhecida, mas ela pode envolver a separação das células, como ocorre no blastocisto para formar diferentes grupos celulares, ou mais tarde durante a gastrulação (discutido no [Cap. 3](#)).

Leituras sugeridas

- Aplin, J. D. Developmental cell biology of human villous trophoblast: current research problems. *Int J Dev Biol.* 2010; 54:323–329.
- Augui, S., Nora, E. P., Heard, E. Regulation of X-chromosome inactivation by the X-inactivation centre. *Nat Rev Genet.* 2011; 12:429–442.
- Betz, A. G. Immunology: tolerating pregnancy. *Nature.* 2012; 490:47–48.
- Daxinger, L., Whitelaw, E. Understanding transgenerational epigenetic inheritance via the gametes in mammals. *Nat Rev Genet.* 2012; 13:153–162.
- Hewitt, S. C., Korach, K. S. Cell biology. A hand to support the implantation window. *Science.* 2011; 331:863–864.
- Leslie, M. Immunology. Fetal immune system hushes attacks on maternal cells. *Science.* 2008; 322:1450–1451.
- Li, Q., Kannan, A., DeMayo, F. J., et al. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. *Science.* 2011; 331:912–916.
- Mold, J. E., Michaelsson, J., Burt, T. D., et al. Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science.* 2008; 322:1562–1565.
- Rossant, J., Tam, P. P. Blastocyst lineage formation, early embryonic asymmetries and axis patterning in the mouse. *Development.* 2009; 136:701–713.
- Rowe, J. H., Ertelt, J. M., Xin, L., Way, S. S. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature.* 2012; 490:102–106.
- Wang, H., Dey, S. K. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet.* 2006; 7:185–199.
- Zorn, A. M., Wells, J. M. Vertebrate endoderm development and organ formation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009; 25:221–251.

CAPÍTULO 3

Terceira Semana: Tornando-se Trilaminar e Estabelecendo os Eixos do Corpo

Resumo

O principal evento da terceira semana de gestação, a **gastrulação**, começa com a formação de uma estrutura longitudinal na linha mediana, a **linha primitiva**, do epiblasto próximo à extremidade caudal do disco embrionário bilaminar. A extremidade céfala da linha primitiva expande-se e forma o **nó primitivo**; ela contém uma depressão circular denominada **fosseta primitiva**, que é contínua caudal e medianamente com uma depressão da linha primitiva denominada **sulco primitivo**. A fosseta e o sulco primitivos representam áreas de onde células deixam a linha primitiva e se movem para o interior do disco embrionário. Algumas dessas células invadem o hipoblasto, deslocando-as e substituindo-as por uma camada de **endoderma definitivo**. Outras migram bilateralmente a partir da linha primitiva, céfala ou lateralmente, entre o endoderma e o epiblasto, e juntam-se para formar o **mesoderma intraembrionário**. Após completada a gastrulação, o epiblasto é denominado **ectoderma**. Assim, durante a gastrulação são formadas as três **camadas germinativas** primárias: **ectoderma, mesoderma e endoderma**. As camadas germinativas são os blocos primários de construção para a formação dos **rudimentos dos órgãos**.

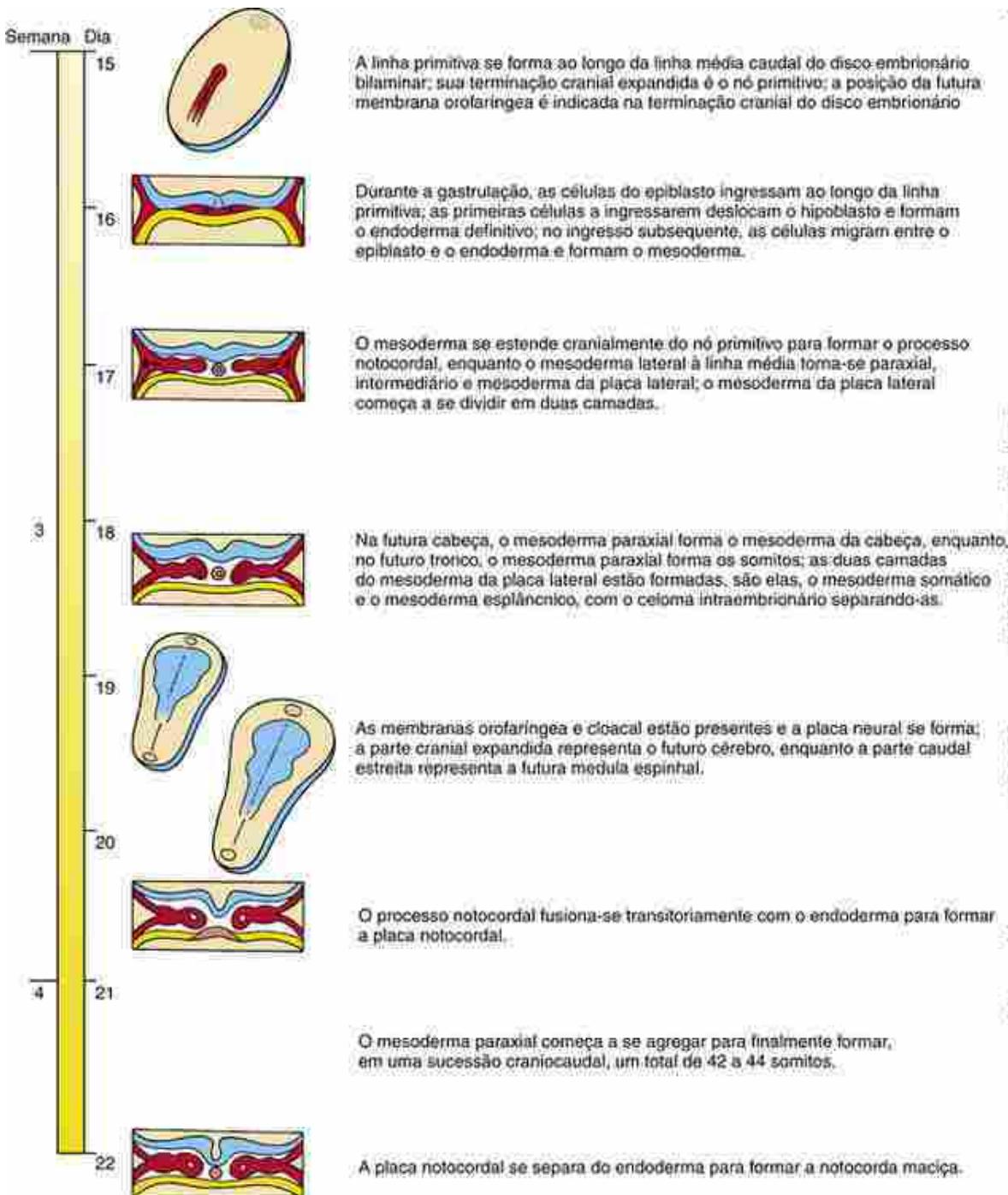
A formação da linha primitiva define também, pela primeira vez, todos os principais **eixos do corpo**. Esses são: **eixo craniocaudal (cefalocaudal ou cabeça-cauda)**, **eixo dorsoventral** (ou costas-barriga), **eixo mediolateral** e o **eixo direito-esquerdo**. Antes do disco embrionário plano dobrar-se para formar uma estrutura de corpo tridimensional do tipo tubo dentro de tubo, esses eixos permanecerão incompletamente delimitados; sua forma definitiva será mais bem compreendida após o estudo do [Capítulo 4](#).

Quando a gastrulação converte o disco embrionário bilaminar em um **disco embrionário trilaminar**, as subpopulações de células são posicionadas muito próximas entre si, proporcionando interações induktivas para criar padrões nas camadas e especificar novos tipos celulares. As primeiras células a se moverem através da linha primitiva e contribuírem com o mesoderma intraembrionário migram bilateral e cranialmente para formar o **mesoderma cardiógenico**. Um pouco mais tarde, durante o desenvolvimento, um tubo mesodérmico longitudinal de parede espessa estende-se cranialmente na linha mediana, a partir do nó primitivo. Esta estrutura, o **processo notocordal**, é o rudimento da **notocorda**. Migrando bilateralmente da linha primitiva e depois céfalicamente, logo na lateral do processo notocordal, estão as células que contribuem para a formação do **mesoderma paraxial**. Na futura região da cabeça, o mesoderma paraxial forma o **mesoderma da cabeça**. Na futura região do tronco, o mesoderma paraxial forma os **somitos**, uma série de condensações mesenquimais semelhantes a blocos em segmentos. Duas outras áreas de mesoderma intraembrionário se formam a partir da linha primitiva durante a gastrulação: o **mesoderma intermediário** e o **mesoderma da placa lateral**. O mesoderma intermediário contribui para a formação do sistema urogenital e o mesoderma da placa lateral contribui para a formação da parede do corpo e da parede do intestino (sistema gastrointestinal).

Durante a gastrulação, o principal evento induutivo ocorre no embrião: a **indução neural**. Nesse processo, o nó primitivo induz o ectoderma suprajacente a se espessar como **placa neural**, o primeiro rudimento do sistema nervoso central.

Durante o desenvolvimento subsequente, a placa neural irá se dobrar em um **tubo neural**. **Células da crista neural** se originam nas margens laterais da placa neural durante a formação do tubo neural. Também durante o desenvolvimento subsequente, o endoderma definitivo irá se dobrar e formar três subdivisões no intestino primitivo: **intestino anterior, intestino médio e intestino posterior**. O endoderma cranial da linha média, localizado logo cranialmente à extremidade da notocorda em extensão, forma uma área espessada denominada **placa precordal**. Ela contribui para a formação da **membrana orofaríngea** durante o desenvolvimento mais tardio e é um importante centro de sinalização para criar padrões na placa neural suprajacente. Com a formação das subdivisões no endoderma,

mesoderma e ectoderma no final da terceira semana, durante a gastrulação, é estabelecida a **formação do plano corporal de um tubo dentro de um tubo** e a subsequente **organogênese** – processo pelo qual os rudimentos primitivos dos órgãos são estabelecidos e são subsequentemente diferenciados para formar todos os principais sistemas de órgãos.



Linha do tempo.

Terceira semana de desenvolvimento.

Caso Clínico

Em 2004, um bebê do sexo feminino, Milagros Cerron, nasceu no Peru com uma malformação denominada **sirenomelia** (*siren* e *melos* se originam do grego e significam “membros de ninfa”). Por ser ela a única sobrevivente das três crianças nascidas com “síndrome de sereia” (a mais velha tinha 16 anos de idade em 2005), seu nascimento, o primeiro aniversário e a cirurgia no 13º mês receberam grande cobertura da imprensa.

A sirenomelia é uma condição rara que ocorre em 1 entre cada 70.000 nascimentos. A maioria dos bebês nascidos com sirenomelia morre após poucos dias do nascimento com graves defeitos em órgãos vitais. O defeito mais característico da sirenomelia é a fusão dos dois membros inferiores na linha média (Fig. 3.1). No caso de Milagros (do espanhol, “milagre”), seus membros inferiores foram fusionados das coxas aos tornozelos, com seus pés se desviando um do outro em um padrão em forma de V, lembrando a cauda de uma sereia. Na imprensa, ela é frequentemente citada como a “pequena sereia do Peru”. Além dos membros inferiores fundidos, ela nasceu com uma deformidade no rim esquerdo, um pequeno rim direito que não ascendeu e anomalias em seus tratos digestório terminal, urinário e genital. Essas anomalias causam infecções recorrentes no trato urinário.



FIGURA 3-1 Sirenomelia. Grave redução das estruturas caudais resultou na fusão dos brotos dos membros inferiores. A foto mostra Milagros Cerron com cerca de 1 ano de idade e seu médico.

Durante os 3 meses antes de sua primeira cirurgia para separar as pernas fundidas, foram inseridas bolsas com salina, com o objetivo de esticar a pele e permitir a sua cobertura quando elas fossem separadas. Ela se recuperou rapidamente e espera-se que passe por muitas outras cirurgias no curso dos próximos 15 anos para corrigir os defeitos dos órgãos digestórios, urinários e reprodutivos. Notavelmente, alguns meses após a cirurgia, ela já era capaz de correr no pátio da escola com seus colegas de turma e ter aulas de balé.

Princípios da gastrulação: formação das três camadas germinativas primárias e dos eixos do corpo

A linha primitiva forma-se no início da terceira semana e marca os três eixos do corpo

Por volta do 15º dia do desenvolvimento, forma-se um espessamento contendo um sulco na linha mediana, que se estende ao longo do plano sagital mediano do disco embrionário, que agora assume sua forma oval (Fig. 3-2). No curso do próximo dia, este espessamento, denominado **linha primitiva**, alonga-se para ocupar cerca de metade do comprimento do disco embrionário, e o sulco, denominado **sulco primitivo**, torna-se mais profundo e mais definido. A extremidade cranial da linha primitiva se expande em uma estrutura denominada **nó primitivo**. Ele contém uma depressão denominada **fosseta primitiva**, que é contínua caudalmente com o sulco primitivo.

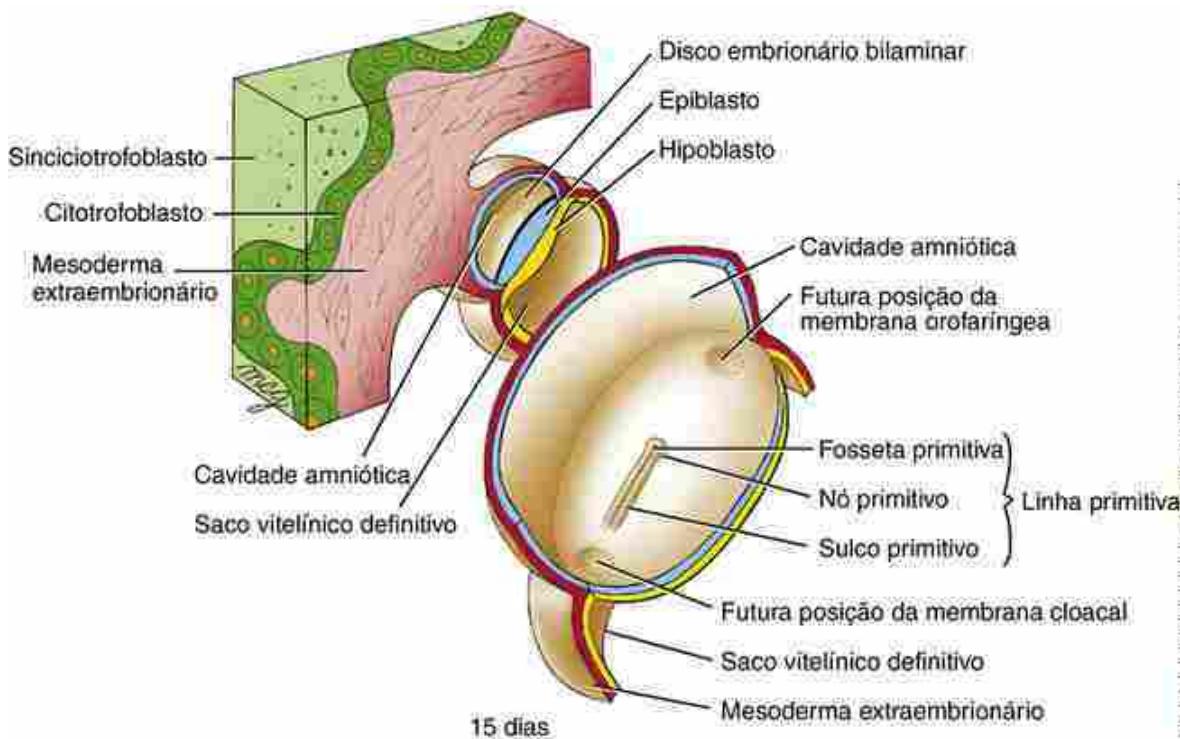


FIGURA 3-2 Vista dorsal da superfície do disco embrionário bilaminar através do âmnio seccionado e do saco vitelínico. A figura na parte superior esquerda mostra a relação do embrião com a parede da cavidade coriônica. A linha primitiva, agora com 1 dia de idade, ocupa 50% do comprimento do disco embrionário. As futuras posições das membranas orofaríngea e cloacal estão indicadas.

A formação da linha primitiva define todos os principais **eixos corporais** (Fig. 3-3). A linha primitiva se forma na linha mediana caudal do disco embrionário, definindo, assim, o **eixo craniocaudal** (ou **cefalocaudal**) e o **eixo mediolateral** (com a linha primitiva formando-se na linha mediana). Quando o epiblasto é observado olhando-se para baixo, quando se está dentro da cavidade amniótica e quando se está virado para sua terminação cranial, o que está à direita da linha primitiva representa o lado direito do embrião e o que está à esquerda representa o lado esquerdo, devido à formação da linha primitiva na linha mediana. Assim, a formação da linha primitiva também define o **eixo esquerdo-direito**. No momento da formação da linha primitiva, o futuro **eixo dorsoventral** do disco embrionário é grosseiramente equivalente ao seu eixo ectoderma-endoderma. Mais tarde, com o dobramento do corpo e a formação do plano corporal do tipo tubo dentro de tubo (discutido no Cap. 4), o eixo dorsoventral torna-se mais bem definido.

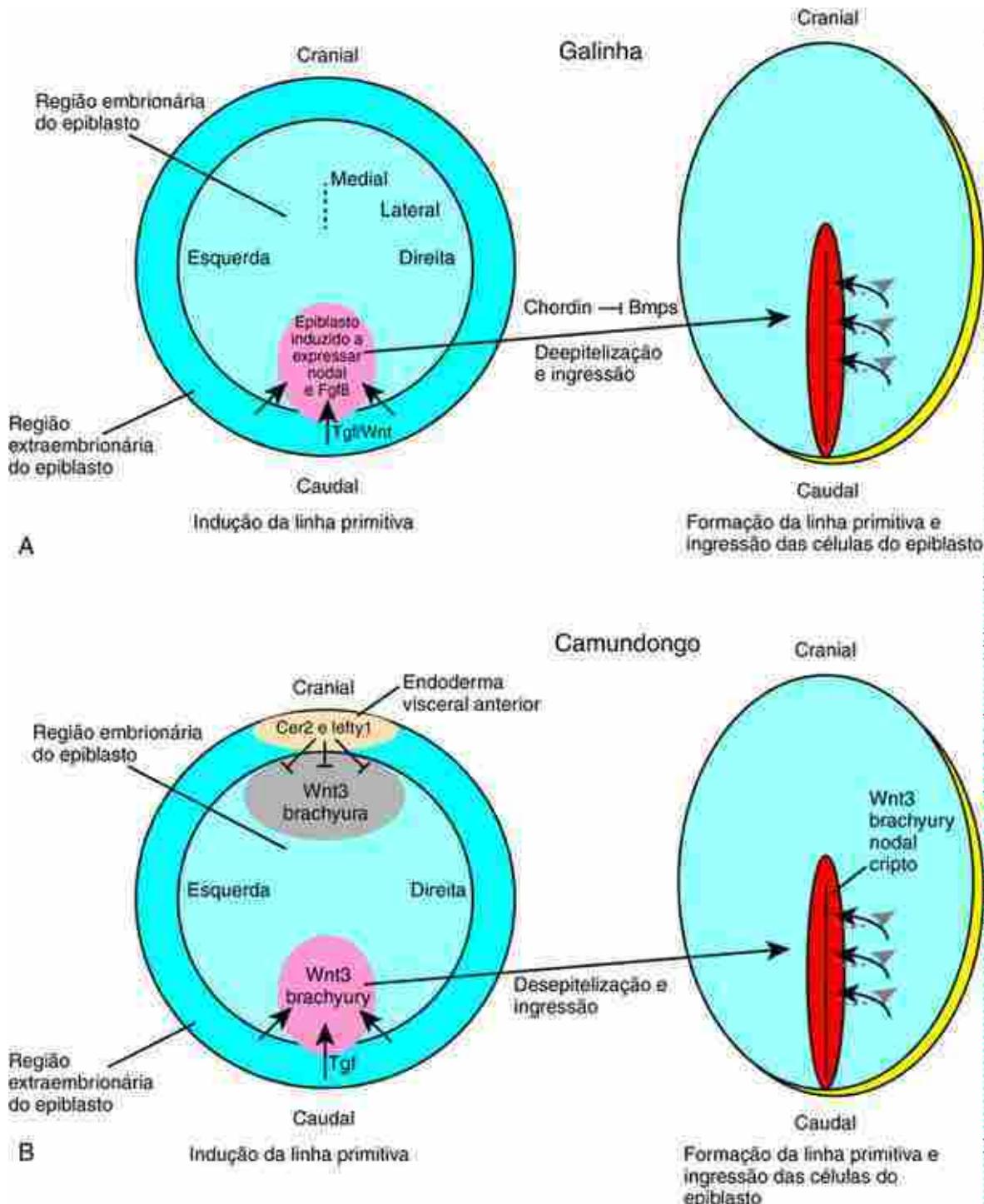


FIGURA 3-3 Indução e formação da linha primitiva e ingressão das células do epiblasto. **A**, Nossa entendimento atual baseado no modelo da galinha. O lado esquerdo da figura mostra os eixos embrionários (craniocaudal, mediolateral, e esquerdo-direito; a linha pontilhada marca a linha média ou plano médio) que são visíveis na superfície dorsal (superior ou epiblasto) do blastoderma, assim como as regiões de interações teciduais (setas retas) e os fatores de crescimento envolvidos na indução da linha primitiva. O lado direito mostra a formação da linha primitiva e as direções do movimento celular (setas curvas), com as células do epiblasto movendo-se para dentro e para longe da linha primitiva, para então formar o endoderma e o mesoderma. A inibição da sinalização por Bmp (por antagonistas como o chordin) também é necessária para a formação da linha primitiva da galinha. **B**, nosso entendimento atual baseado no modelo do camundongo. A formação da linha primitiva é inibida no blastoderma cranial (anterior) por sinais emanados do endoderma extraembrionário, conhecido como endoderma visceral anterior. As outras marcações estão como em **A**.

A formação da linha primitiva anuncia o início da **gastrulação**. Durante a gastrulação, as células do epiblasto movem-se em direção à linha primitiva, entram nela e então migram para fora dela como células individuais. O movimento das células através da linha primitiva e para o interior do embrião é denominado **ingressão**.

No Laboratório de Pesquisa

Indução da linha primitiva

Experimentos em galinha sugerem que a linha primitiva é induzida por interações celulares na extremidade caudal do disco embrionário. Embora as interações teciduais exatas sejam ainda discutidas, já está claro que os tecidos extraembrionários induzem o epiblasto adjacente a formar a linha primitiva (Fig. 3-3A), e que esse processo de indução continua com o endoderma extraembrionário (hipoblasto) migrando da região caudal para a região cranial.

Estudos sobre distúrbios da expressão (ganho de função e perda de função; discutidos no Cap. 5) em camundongo e em galinha sugerem que membros da família Tgf β e Wnt1 induzem a formação da linha primitiva. Em galinha, o Vg1 (um membro da família TGF β) em conjunto com o Wnt8a (inicialmente denominado Wnt8c) induzem o epiblasto a expressar um outro membro da família TGF β , o nodal. Por sua vez, o nodal e o Fgf8 (e outros Fgfs também) induzem as células do epiblasto a se desepitelializar e formar a linha primitiva. Finalmente, a inibição da sinalização endógena do BMP (através de seu antagonista chordin, discutido nos Caps. 4 e 5) também parece ser necessária para a formação da linha primitiva.

Em camundongo, Wnt3 e seu alvo subsequente, o brachyura (um fator de transcrição que contém T-box), são expressos nas extremidades cranial e caudal da pré-linha epiblástica. Com a progressão do desenvolvimento, o Wnt3 é hiperregulado cranialmente por sinais que se originam de uma região especializada do endoderma extraembrionário denominada **endoderma visceral anterior**, e é hiper-regulado caudalmente (observação: “anterior” no camundongo é equivalente a cranial em humanos). Finalmente, a expressão do Wnt3, do brachyura e do nodal consolidam-se na linha primitiva. A perda de função por mutações de genes expressos pelo endoderma visceral anterior (p. ex., Cer2 [Cerberus-like 2], Lefty1 – ambos inibidores da Tgf β e da sinalização Wnt) resulta na formação de linhas primitivas extras. Além disso, embriões com perda de função do nodal por mutações (ou cripto, um dos seus cofatores) falham em formar a linha primitiva. Estudos posteriores em camundongo (usando injeção de quimeras; discutida no Cap. 5) revelam que a formação da linha primitiva envolve a sinalização pelos membros da família Tgf β dos tecidos extraembrionários (como na galinha).

Bases celulares da formação da linha primitiva

Estudos em galinha revelaram a base celular da formação da linha primitiva (Fig. 3-4). Quatro processos principais estão envolvidos: **migração celular, divisão celular orientada, delaminação** progressiva do epiblasto e **extensão convergente**. Como discutido anteriormente, células do epiblasto são induzidas pela região extraembrionária caudal para a formação da linha primitiva. Quando ocorre a indução, essas células sofrem delaminação (deepitelização ou transição de epitélio para mesênquima) do epiblasto e migram cranial e medialmente. Análises de clones de células marcadas mostram que as células são deslocadas principalmente na direção cranial na medida em que se dividem, sugerindo que seu plano de divisão seja preferencialmente orientado no plano mediolateral, de modo que as células filhas são deslocadas cranialmente. Quando o endoderma extraembrionário migra cefalicamente, mais células epiblásticas cefálicas são progressivamente induzidas a sofrer delaminação ao longo da linha média, estendendo a terminação cranial da linha primitiva mais cranialmente. Ao fim, as células na região da linha em formação se alinham na linha média, causando a extensão da linha craniocaudalmente para acomodar as células que se alinham. Assim, a extensão convergente contribui para os últimos aspectos da formação e alongamento da linha primitiva.

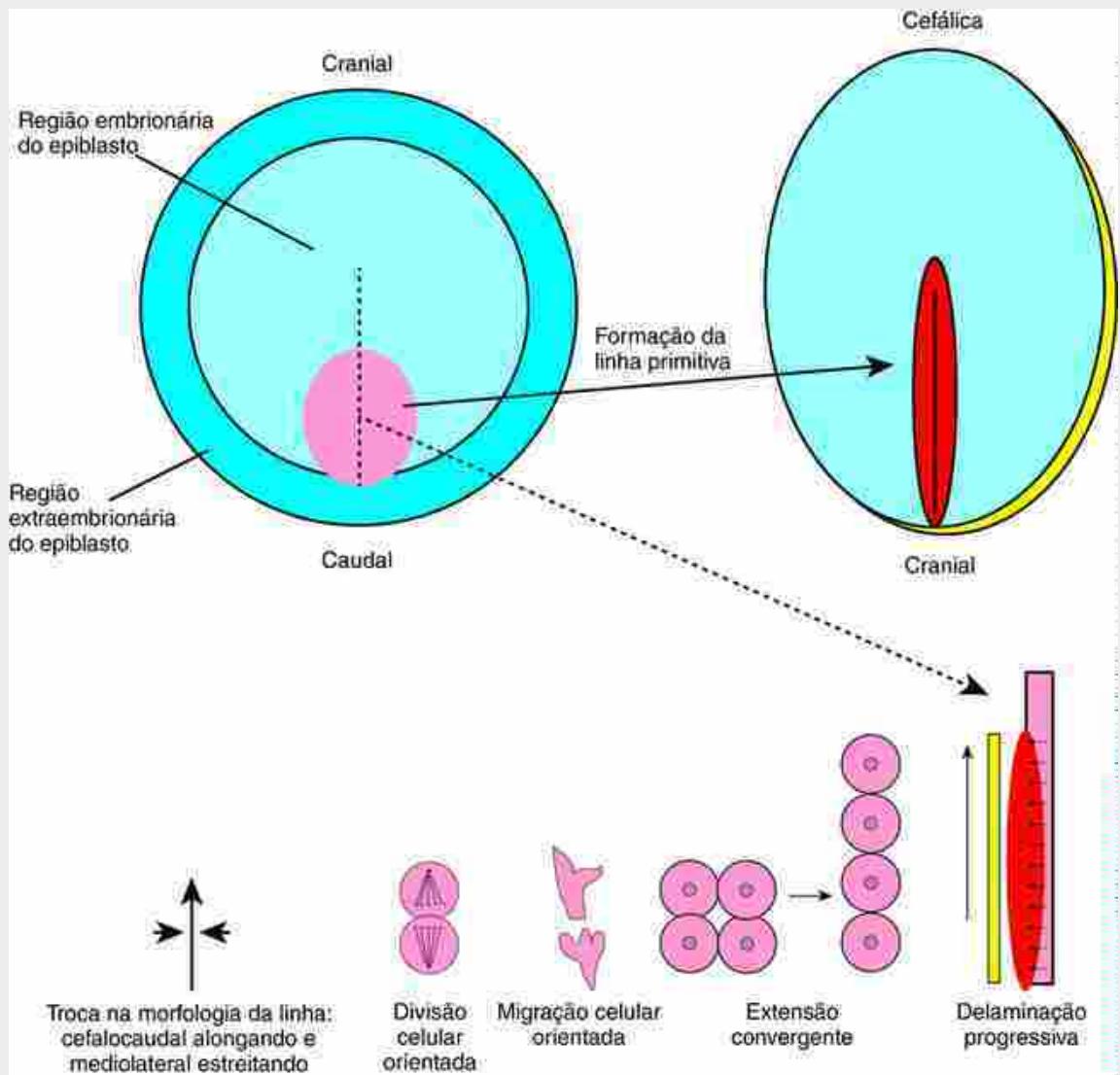


FIGURA 3-4 Comportamentos celulares conduzindo a formação da linha primitiva. Durante a formação da linha primitiva, a sua morfologia geral muda de larga (no plano mediolateral) para curta (no plano craniocaudal) para estreita e longa. Essa troca na forma geral é devida à divisão celular orientada, à migração celular orientada, à extensão convergente e à delaminação progressiva. A delaminação progressiva é observada na secção longitudinal (seta pontilhada). Quando o hipoblasto migra cranialmente (seta longa), a delaminação (*múltiplas setas pequenas*) progride da região caudal para a cranial.

Estabelecimento do eixo esquerdo-direito

Como discutido anteriormente, com a formação da linha primitiva durante a gastrulação, os eixos embrionários – craniocaudal, dorsoventral, mediolateral e esquerdo-direito – tornam-se definidos. Em embriões de camundongo, a regionalização cranial é estabelecida antes da formação da linha primitiva, como resultado da sinalização do endoderma visceral anterior (discutido na seção anterior). Ainda não se sabe se existe em humanos um centro de sinalização similar, que forneça informações precoces para a regionalização cranial. Com a formação da linha primitiva e, subsequentemente, das três camadas germinativas primárias, ocorrem interações celulares entre as três camadas e dentro das diferentes regiões dessas camadas, para padronizá-las ao longo dos planos craniocaudal e dorsoventral. Essa padronização será discutida posteriormente neste capítulo e no [Capítulo 4](#). Aqui, discutiremos um terceiro tipo de padronização, a formação do **eixo esquerdo-direito**, que se inicia próximo à época de formação do nó primitivo, na extremidade cefálica da linha primitiva.

A **assimetria bilateral**, que é oposta à **simetria espelhar** (ou **imagem espelhar**), é o termo que indica diferenças anatômicas dos lados esquerdo e direito do corpo. Por exemplo, em humanos o trato gastrointestinal sofre rotações durante o desenvolvimento, de forma que o estômago se posiciona à esquerda e o fígado à direita. O coração também se dobra, o ápice aponta para a esquerda e a base é direcionada para a direita. Além disso, o pulmão direito apresenta três lobos e o esquerdo, dois. Como a assimetria bilateral é iniciada no embrião?

Base Molecular da Assimetria Esquerda-Direita: Um Esquema Simplificado

A assimetria esquerda-direita é estabelecida durante a gastrulação, através de interações celulares centradas no nó primitivo (Fig. 3-2) – definido como a terminação cranial da linha primitiva e também como a região da linha que tem atividade organizadora (discutida mais tarde no capítulo), ou mesmo como estrutura homóloga à de modelos animais (p. ex., o escudo embrionário no peixe-zebra, o lábio dorsal do blastóporo no *Xenopus*, o nó de Hensen na galinha e o nó no camundongo). Em galinhas, uma molécula secretada, *Sonic hedgehog* (Shh), é expressa simetricamente no nó de Hensen quando ele se forma, mas logo depois a expressão do Shh torna-se restrita ao lado esquerdo. Isso é seguido pela expressão no lado esquerdo de um membro da família Tgf β , o nodal (tanto no lado esquerdo do nó quanto na placa lateral do mesoderma; discutido em divisões mesodérmicas, a seguir), e, subsequentemente, pela expressão no lado esquerdo do fator de transcrição Pitx2. Experimentos de ganho de função revelaram que Shh induz a expressão do nodal no lado esquerdo, que, por sua vez, induz a expressão do Pitx2 no mesmo lado. O Pitx2 regula a transcrição dos seus genes alvos (a maior parte desconhecidos), mudando presumivelmente os comportamentos celulares e resultando em morfogênese assimétrica, levando à assimetria bilateral.

O esquema esboçado é uma versão simplificada, pois já se sabe que muitas moléculas são expressas assimetricamente nesse período, e baseia-se, sobretudo, nos experimentos em galinha. Experimentos em camundongo revelaram que os papéis para algumas dessas moléculas são conservados (p. ex., nodal e Pitx2), mas não para outras (p. ex., Shh). Em relação ao Shh, embora sua superexpressão na galinha induza a expressão ectópica do nodal, o silenciamento do Shh no camundongo mostra que ele não é necessário para a expressão do nodal. Contudo, camundongos que não expressam Shh têm defeitos de lateralização, provavelmente porque o Shh exerce um papel no desenvolvimento do mesoderma da placa lateral nos estágios tardios. Devido a essas diferenças entre embriões de galinha e de camundongo, a discussão subsequente sobre este processo será baseada no modelo de camundongo (Fig. 3-5).

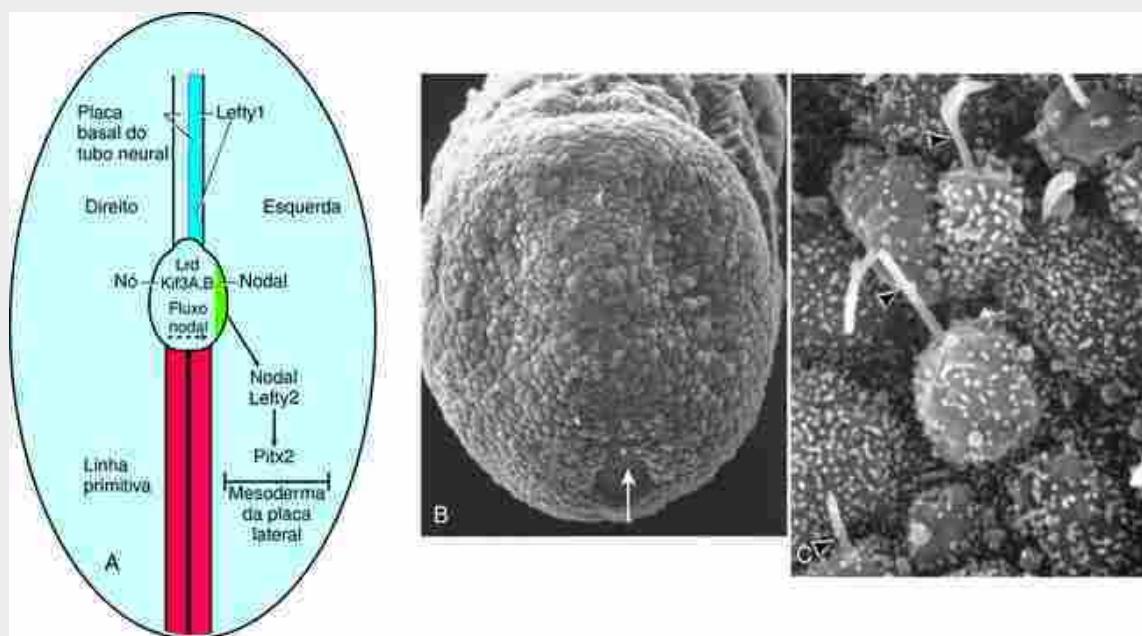


FIGURA 3-5 Cílios e fluxo nodal no nó do camundongo. A, Diagrama ilustrando um esquema simplificado dos principais genes envolvidos no estabelecimento da assimetria esquerda-direita. O blastoderma, incluindo a linha primitiva, o nó e o início da placa basal do tubo neural, é observado no lado ventral. As proteínas motoras (Lrd, Kif3A,B) expressas pelo nó regulam o movimento ciliar e o fluxo nodal para a esquerda (seta reta). Como resultado do fluxo nodal, a proteína nodal fica expressa no lado esquerdo do nó. Isso, então, resulta na expressão de Lefty2 e de Pitx2 na placa lateral do lado esquerdo. Lefty1 é expresso no lado esquerdo da placa basal do tubo neural, onde exerce a função de barreira, garantindo que a informação que especifica o lado esquerdo e o direito mantenha-se separada. B, Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de camundongo em gastrulação observada da sua superfície endodérmica. A seta marca o nó. C, Aumento dos cílios nodais (cabeças de seta).

Experimentos em camundongo revelaram que, além do nodal, que é expresso tanto no lado esquerdo do nó quanto no mesoderma da placa lateral esquerda, dois outros membros da família Tgf β altamente relacionados um com o outro têm sua expressão na lateral esquerda e exercem papéis essenciais no estabelecimento da assimetria esquerda-direita (Fig. 3-5A). Eles são apropriadamente denominados lefty1 e lefty2. Para definir o cenário do resto

da história de como a assimetria esquerda-direita é estabelecida, precisamos em primeiro lugar divagar brevemente para fornecer algum conhecimento adicional.

No raro distúrbio humano *situs inversus viscerum totalis* (inversão total das vísceras), a lateralização de todas as vísceras é revertida. Contudo, a reversão é raramente completa ou exata, e erros na morfogênese com frequência causam malformações secundárias, como **más rotações do intestino médio** (descrita no [Cap. 14](#)). Mais frequentemente, os diferentes sistemas de órgãos exibem uma discordância de lateralidade ou **heterotaxia**. Por exemplo, o dobramento em alça do coração pode ser revertido (**dextrocardia**; discutida no [Cap. 12](#)), enquanto a lobulação dos pulmões pode ser normal (três lobos à direita e dois lobos à esquerda). Há mais de 40 anos foi descoberto um camundongo mutante *iv/iv* que exibia *situs inversus* (*iv* significa vísceras invertidas). O fenótipo é herdado como uma característica monogênica autossômica recessiva e foi mapeado no cromossomo 12. Mas somente metade dos camundongos homozigotos para o alelo *iv* mutante exibe *situs inversus*; a outra metade mostra assimetria esquerda-direita normal (*situs solitus totalis*, disposição normal das vísceras). Assim, o produto do gene do *locus* selvagem parece ser um componente essencial que desvia o desenvolvimento da assimetria bilateral para a direção correta, determinando a lateralidade correta ou ***situs*** das vísceras. Se esse produto gênico estiver ausente ou defeituoso (como no camundongo *iv/iv*), o local normal ou invertido é aparentemente adotado ao acaso.

A clonagem da mutação *iv* forneceu indícios interessantes que levaram a uma melhor compreensão dos estágios iniciais do desenvolvimento esquerdo-direito. A mutação *iv* ocorre em um gene para dineína designado dineína esquerdo-direito ou *Lrd*. Dineínas são motores moleculares compostos por cadeias polipeptídicas pesadas e intermediárias. As dineínas utilizam a energia da hidrólise do ATP para movimentar carga em direção à “extremidade menos” dos microtúbulos, ou causar batimento dos cílios e flagelos quando gera o deslizamento entre microtúbulos. Portanto, há dois tipos de dineína, a citoplasmática e a axonemal. A sequência do gene *Lrd* sugere que ele codifica uma dineína axonemal, embora seja provável que as funções dos dois tipos de dineína não sejam completamente independentes uma da outra, como sugerido por mutações de perda de função em camundongos (nas quais mutações em uma única proteína motora afetam tanto a ação ciliar quanto o transporte intracelular).

Essa conexão entre a dineína e a lateralidade em camundongos foi similar a uma conexão prévia entre a dineína e a lateralidade em humanos. Pacientes com **síndrome de Kartagener** apresentam lateralidade invertida e também imobilidade dos cílios do aparelho respiratório e dos flagelos dos espermatozoides. Frequentemente eles exibem infertilidade e infecções no aparelho respiratório. Pacientes com síndrome de Kartagener têm mutações nos genes da DINEÍNA (são identificadas mutações em ambas as cadeias, pesada e intermediária), como também deficiências em seus braços de DINEÍNAS ciliares (DINEÍNAS formam projeções semelhantes a braços que se interconectam com as duplas de microtúbulos externos, como visto na ultraestrutura das eletromicrografias). A síndrome de Kartagener será discutida posteriormente nos [Capítulos 11 e 12](#).

Modelo do Fluxo Nodal

Na gastrulação de embriões de camundongos, a expressão do gene *Lrd* está restrita ao nó ([Fig. 3-5A](#)), uma importante região organizadora (discutido adiante). Cada uma das células do nó contém um único cílio, denominado **monocílio** ([Fig. 3-5B,C](#)). Os monocílios das células nodais centrais são móveis, ao contrário dos das células nodais periféricas. Os cílios centrais giram em rodopio e geram um fluxo de líquido para a esquerda através do nó (como demonstrado experimentalmente pelo deslocamento de bolinhas fluorescentes pelo nó). Com base nesse achado e na reversão experimental do fluxo em embriões cultivados, foi proposto o **modelo do fluxo nodal** para o desenvolvimento esquerdo-direito (observação: *nodal* no modelo refere-se ao nó e não pode ser confundido com o gene denominado *nodal*). De acordo com a formulação original do modelo, o movimento do líquido para a esquerda pelo nó gera uma distribuição assimétrica de um **morfógeno** desconhecido, que é uma proteína difusível que afeta o desenvolvimento do tecido com base na sua concentração. Acredita-se que o gradiente de concentração do morfógeno esquerdo-direito resultante interrompa a simetria e inicie o desenvolvimento esquerdo-direito. Várias proteínas candidatas foram propostas para serem esse morfógeno, incluindo o *nodal*, *Shh*, *Fgf8*, ácido retinoico, *Bmp* e *Gdf1* (fator 1 de crescimento e diferenciação), mas muitos candidatos foram descartados com base nos experimentos genéticos (p. ex., *Shh*, *Fgf8* e ácido retinoico). Não se sabe se o nó primitivo de humanos contém monocílios (e se contiver, se alguns são móveis), entretanto os monocílios nodais foram identificados em várias espécies.

Experimentos de perda de função em camundongos dão suporte ao modelo do fluxo nodal. Camundongos mutantes para os genes *Kif3A* ou *Kif3B* da cinesina, ambos expressos no nó nos estágios da gástrula, mas não exclusivamente como o *Lrd* ([Fig. 3-5A](#)), têm células nodais sem cílios e desenvolvimento esquerdo-direito alterado. As cinesinas são funcionalmente semelhantes às dineínas, elas geram força motora ao longo dos microtúbulos (embora em direção oposta). Esses resultados indicam que os genes *Kif3A* e *Kif3B* são necessários para a montagem dos cílios do nó e sugerem que os cílios, por sua vez, são necessários para o desenvolvimento esquerdo-direito normal. Adicionalmente, camundongos com uma mutação no gene *Lrd* têm cílios nodais imóveis. Isso mostra que

não só a presença, mas o movimento dos cílios nodais é criticamente importante para o desenvolvimento esquerdo-direito normal – novamente em conformidade com o modelo do fluxo nodal.

Atualmente, acredita-se que a assimetria esquerda-direita envolve várias etapas, começando com a ação ciliar no nó durante a gastrulação. Essas etapas incluem o estabelecimento da rotação dos cílios dentro do nó (requerendo Lrd e Kif3A, B), que, por sua vez, gera o fluxo nodal (do lado direito para o lado esquerdo), expressão de Nodal nas células do lado esquerdo do nó (essas células, assim como as células similares localizadas no lado direito do nó, contêm cílios imóveis e constituem as chamadas **células da coroa** do nó), expressão de Nodal na placa lateral esquerda (estudos recentes mostraram que o endoderma exerce um importante papel na transferência da informação esquerda-direita, provavelmente pela expressão de Nodal do nó na placa lateral esquerda) e a expressão do lefty2 e do pitx2 na placa lateral esquerda (que presumivelmente orquestra a morfogênese específica do eixo esquerda-direita; p. ex., veja no [Cap. 14](#) o mecanismo de rotação do intestino). Adicionalmente, o lefty1, que é expresso na metade esquerda do assoalho da placa sobreposta à notocorda, atua como uma barreira que evita a difusão da informação esquerda-direita através da linha média.

Adicionalmente, sabe-se que um resultado do fluxo nodal é o bloqueio da expressão de Cer2 (um antagonista nodal) no lado esquerdo do nó, mas não no lado direito, resultando em um nível mais alto da proteína nodal ativa no lado esquerdo do que no lado direito. Isso é importante, pois a proteína nodal é o “determinante do lado esquerdo” do mesoderma da placa lateral, e a sua expressão resulta na morfogênese esquerda-direita dos órgãos derivados da placa lateral. Além disso, estudos recentes mostraram que o endoderma exerce um importante papel na transferência da informação esquerda-direita do nó para a placa lateral esquerda, provavelmente através de um heterodímero Nodal-Gdf1 (fator de diferenciação de crescimento 1) que se liga ao *enhancer* responsivo de Nodal no gene nodal e induz a expressão de Nodal.

Finalmente, para a rotação ciliar resultar em um fluxo nodal direcionado, cílios móveis individuais precisam ter uma orientação particular, e todos os cílios móveis precisam ter a mesma orientação. No nó do camundongo, os cílios estão inclinados caudalmente. Como essa orientação é alcançada? Estudos recentes mostram que a via de polarização das células planas (PCP) e, em particular, a sinalização não canônica de Wnt (ambos discutidos no [Cap. 5](#)) estabelecem essa orientação. A posição do corpo basal em uma célula determina a posição do seu cílio. Dentro do nó, os corpos basais dos cílios móveis são, no início, posicionados centralmente, mas gradualmente posicionam-se caudalmente. Essa mudança é debilitada nas mutações dos genes da via de sinalização não canônica do Wnt (p. ex., os genes Dvl ou *disheveled*).

Uma Importante Variação no Modelo do Fluxo Nodal

Como originalmente formulado e discutido anteriormente, o fluxo nodal foi proposto para transportar um morfógeno para o lado esquerdo do nó. Estudos mais recentes mostraram uma variação do modelo do fluxo nodal, denominado **modelo mecanossensorial**. É proposto que os cílios móveis conduzem o fluxo do fluido nodal, que, por sua vez, ativa mecanicamente um **fluxo de cálcio** no lado esquerdo do nó, com os cílios imóveis das células em coroa atuando como antena sensorial ([Fig. 3-6](#)). Sustentando esse modelo, tanto os cílios móveis localizados centralmente quanto os cílios imóveis localizados perifericamente contêm uma proteína que atua como canal catiônico denominada policisteína 2, que é o produto do gene Pkd2 da doença renal genética policística do tipo 2. Entretanto, somente os cílios móveis expressam a proteína LRD. Imagens dos níveis de cálcio (usando um corante fluorescente e o microscópio confocal) revelaram que a sinalização assimétrica de cálcio aparece na margem esquerda do nó, coincidentemente com o início do fluxo nodal. Assim, os cílios imóveis atuam como mecanossensores para detectar o fluxo do fluido.

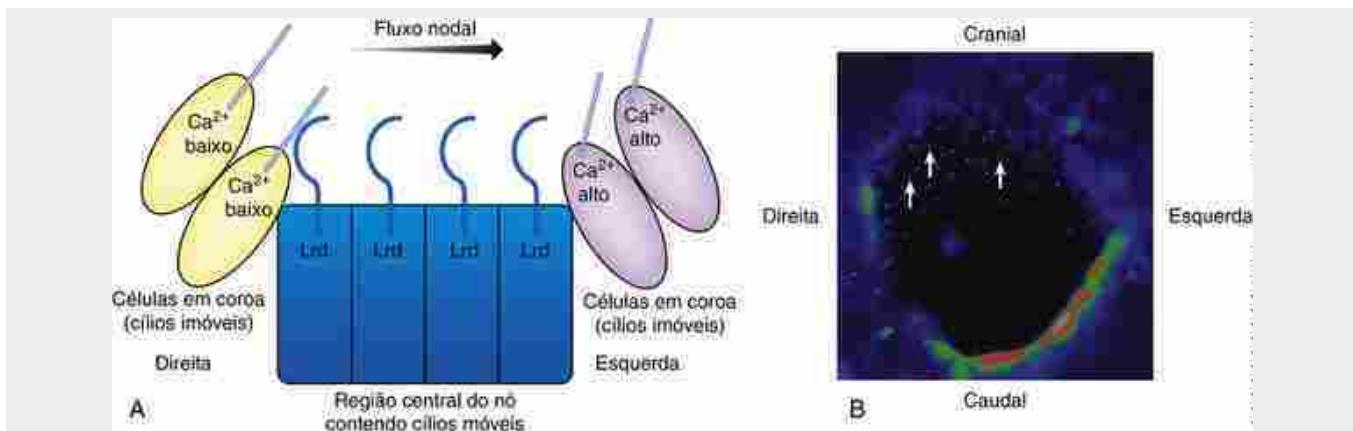


FIGURA 3-6 Modelo mecanossensorial do fluxo nodal. *A*, Modelo mostrando que o fluxo nodal, gerado por monocílios móveis nas células que expressam Lrd, estimula o fluxo de cálcio nas células do lado esquerdo (células da coroa) que contêm cílios imóveis que sentem o fluxo. *B*, Nô de camundongo visto de seu lado endodérmico mostrando a sinalização de cálcio predominantemente no lado esquerdo do nó. As setas indicam os cílios móveis que expressam Lrd fusionado a um gene reportador fluorescente.

Ordenando Genes na Hierarquia Genética

A ordem dos genes em um programa genético é frequentemente determinada pelo exame dos padrões de expressão em mutantes. Por exemplo, se o gene A ativa o gene B, o qual ativa o gene C em um programa, então a mutação do gene B poderá alterar a expressão do gene C, mas não a do gene A. Desta maneira, mostrou-se que o gene *Lrd* ocupa uma posição de alto nível na hierarquia genética do desenvolvimento esquerdo-direito. Em mutantes *Lrd* com perda de função, os padrões de expressão de nodal, *lefty1*, *lefty2* e *pitx2* são alterados, indicando que eles são posteriores ao *Lrd*. Por exemplo, a expressão de nodal em camundongos com uma mutação *Lrd* com perda de função ocorre ao acaso. Um quarto desses embriões mutantes mostra expressão nodal normal somente no lado esquerdo, um quarto mostra expressão inversa somente à direita, um quarto mostra expressão em ambos os lados e um quarto não mostra expressão em nenhum lado.

Na Clínica

Ciliopatias

A função ciliar no embrião não é somente estabelecer a assimetria esquerda-direita. Os cílios também atuam em vários sistemas orgânicos em desenvolvimento, como a traqueia, o rim, o sistema olfatório, a retina, os testículos e o oviduto. Defeitos na estrutura e na função dos cílios que resultam em doenças denominam-se **ciliopatias**. Várias ciliopatias ocorrem em humanos, incluindo algumas formas de doença policística renal, síndrome de Meckel, síndrome de Bardet-Biedl e a síndrome de Joubert. Muitas das ciliopatias resultam em *situs inversus* ou heterotaxia (discutida anteriormente neste capítulo).

Formação do endoderma definitivo

No 16º dia, os epiblastos nas laterais da linha primitiva começam a se mover para dentro dela e a sofrer uma transformação **epitélio-mesenquimal (EMT)**. Um **epitélio** consiste em folhas com células de formato regular (frequentemente cuboidais) intimamente interconectadas entre si por suas superfícies laterais; um **mesênquima** consiste em células com formatos muito mais irregulares (frequentemente estreladas) e frouxamente conectadas. Com frequência, durante a EMT, as células do epiblasto alongam-se e assumem uma forma de frasco ou garrafa (Fig. 3-7), desprendendo-se de suas vizinhas à medida que estendem processos denominados **pseudopódios** (como também processos mais finos, denominados **filopódios**, e mais achatados, denominados **lamelipódios**), os quais permitem a sua migração através da linha primitiva no espaço entre o epiblasto e o hipoblasto (ou dentro do próprio hipoblasto). Esse movimento coletivo de células pela linha primitiva e para o interior do embrião, para formar as três camadas germinativas primárias, constitui a **gastrulação**. As primeiras células ingressantes do epiblasto invadem o hipoblasto e deslocam suas células, substituindo completamente os hipoblastos por uma nova camada de células, o **endoderma definitivo** (Fig. 3-7A). O endoderma definitivo origina o futuro revestimento do tubo digestivo e de seus derivados.

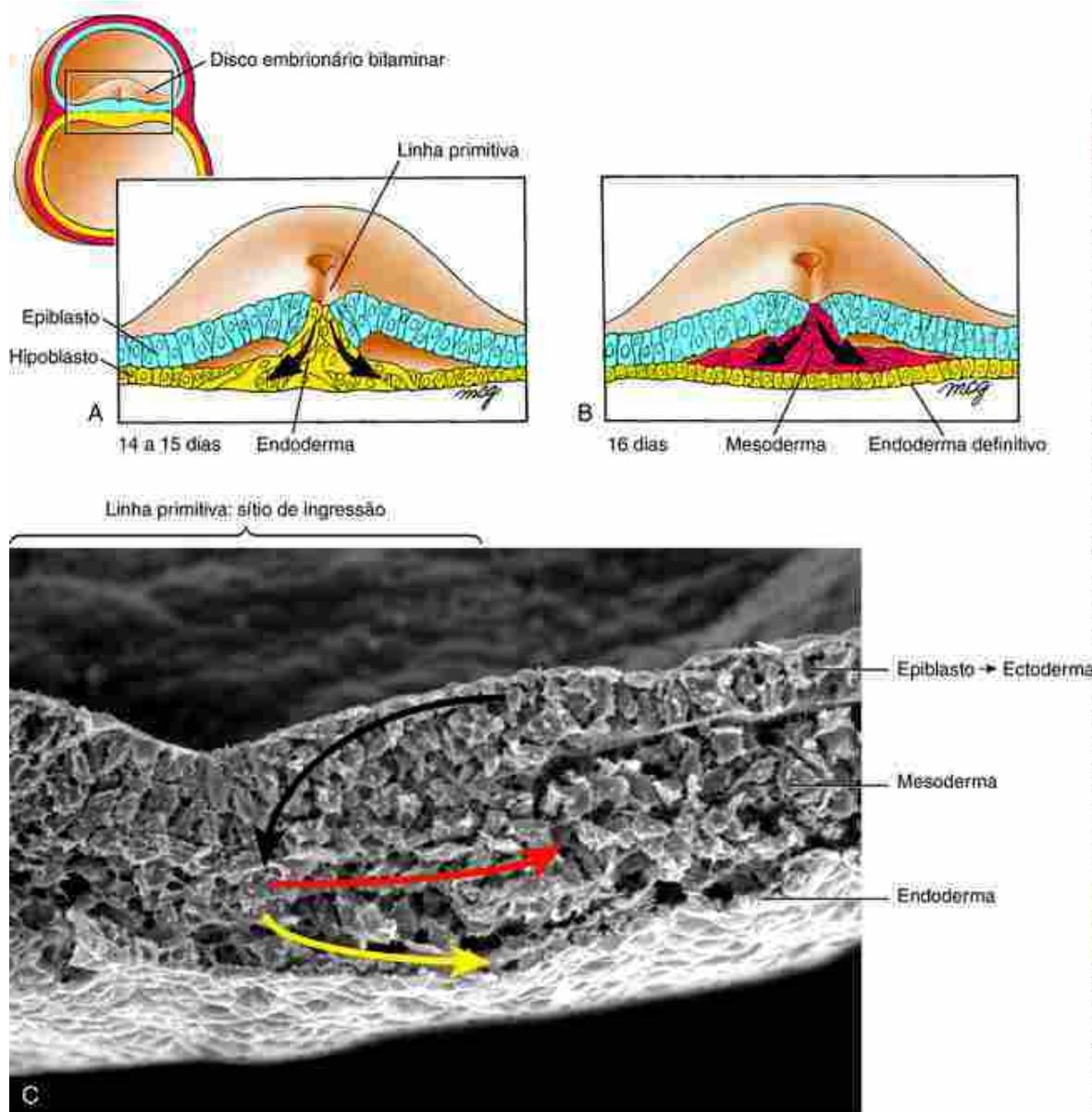


FIGURA 3-7 Discos embrionários cortados transversalmente na região da linha primitiva mostrando a ingressão das células do epiblasto durante a gastrulação. *A*, Nos 14º e 15º dias, as células do epiblasto que estão ingressando deslocam o hipoblasto e formam o endoderma definitivo. *B*, As células do epiblasto que ingressam no 16º dia migram entre as camadas do endoderma e do epiblasto para formar o mesoderma intraembrionário. *C*, Micrografia eletrônica de varredura de um corte transversal da linha primitiva de galinha. As setas indicam as direções dos movimentos celulares durante a ingestão do epiblasto através da linha. Quando as células do epiblasto migram para dentro do hipoblasto, formam o endoderma, e quando migram para dentro da camada média, formam o mesoderma. Após ser completada a ingestão em um determinado nível craniocaudal, o epiblasto forma o ectoderma.

Formação do mesoderma intraembrionário

Iniciando no 16º dia, algumas células do epiblasto migram através da linha primitiva, estendem-se pelo espaço entre o epiblasto e o endoderma definitivo nascente e formam uma terceira camada germinativa, o **mesoderma intraembrionário** (Figs. 3-7B,C e 3-8). Essas células migram bilateralmente a partir da linha primitiva e formam inicialmente uma camada de células frouxas entre o epiblasto e o endoderma. Logo depois, a camada se reorganiza para formar as quatro subdivisões principais do mesoderma intraembrionário: o **mesoderma cardiógenico**, o **mesoderma paraxial**, o **mesoderma intermediário** (também denominado **nefrótomo**) e o **mesoderma da placa lateral**. Além disso, uma quinta população de células mesodérmicas migra cranialmente a partir do nó primitivo para formar um tubo de paredes espessas na linha média, denominado **processo notocordal**.

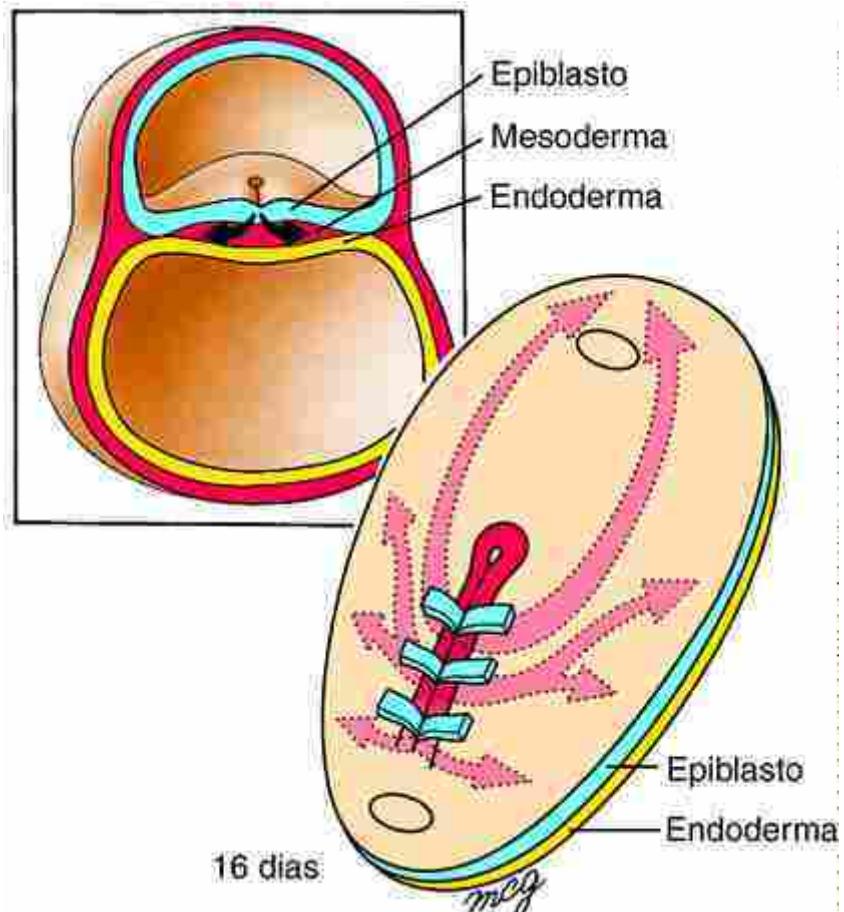


FIGURA 3-8 Vias de migração do mesoderma durante a gastrulação. As células do nó primitivo migram cranialmente pela linha média para formar o processo notocordal (não mostrado, porque ocorre mais tarde). As células que penetram mais caudalmente pela linha primitiva migram para formar o mesoderma alinhado em ambos os lados da linha média. As células que migram mais cranialmente formam o mesoderma cardiológico, o qual se move mais cranialmente ao futuro local da membrana orofaríngea (estrutura oval craniana). As células que migram em plano mais lateral formam o mesoderma paraxial, o intermediário e o mesoderma da placa lateral.

Durante a 3^a semana do desenvolvimento, duas tênues depressões se formam no ectoderma, uma na extremidade cranial do embrião, sobrejacente à placa precordial, e outra na extremidade caudal, atrás da linha primitiva. No final da terceira semana, o ectoderma nessas áreas fusiona-se intimamente com o endoderma subjacente, excluindo o mesoderma e formando membranas bilaminares. A membrana cefálica é denominada **membrana orofaríngea** e a membrana caudal é a **membrana cloacal**. Posteriormente, as membranas orofaríngea e cloacal passam a ser as extremidades cegas do tubo intestinal. A membrana orofaríngea se rompe na quarta semana para formar a abertura da cavidade oral, enquanto a membrana cloacal se desintegra mais tarde, na sétima semana, para formar as aberturas do ânus e dos tratos urinário e genital (discutido nos [Caps. 14 a 16](#)).

Formação do ectoderma

Uma vez completada a formação do endoderma definitivo e do mesoderma intraembrionário, as células do epiblasto não mais se movem nem ingressam pela linha primitiva. Agora, o epiblasto remanescente constitui o **ectoderma**, que rapidamente se diferencia em **placa neural** na região central do disco embrionário e em **ectoderma cutâneo** na região periférica. Entretanto, o embrião desenvolve-se em uma sequência craniocaudal, de forma que epiblastos não estarão mais presentes cranialmente quando houver epiblasto na região caudal movendo-se para a linha primitiva e sofrendo ingressão ([Fig. 3-9](#)). Finalmente, o processo de gastrulação se completa. Nesse momento, a formação das três camadas germinativas definitivas do **disco embrionário trilaminar** – ectoderma, mesoderma e endoderma definitivo – estará completa em todo o disco. Assim, todas as três camadas germinativas derivam do epiblasto durante a gastrulação (observação: alguns livros-texto denominam o epiblasto como ectoderma primitivo, mas, pelo fato de o epiblasto originar o mesoderma, o endoderma e o ectoderma, o termo epiblasto é mais apropriado).

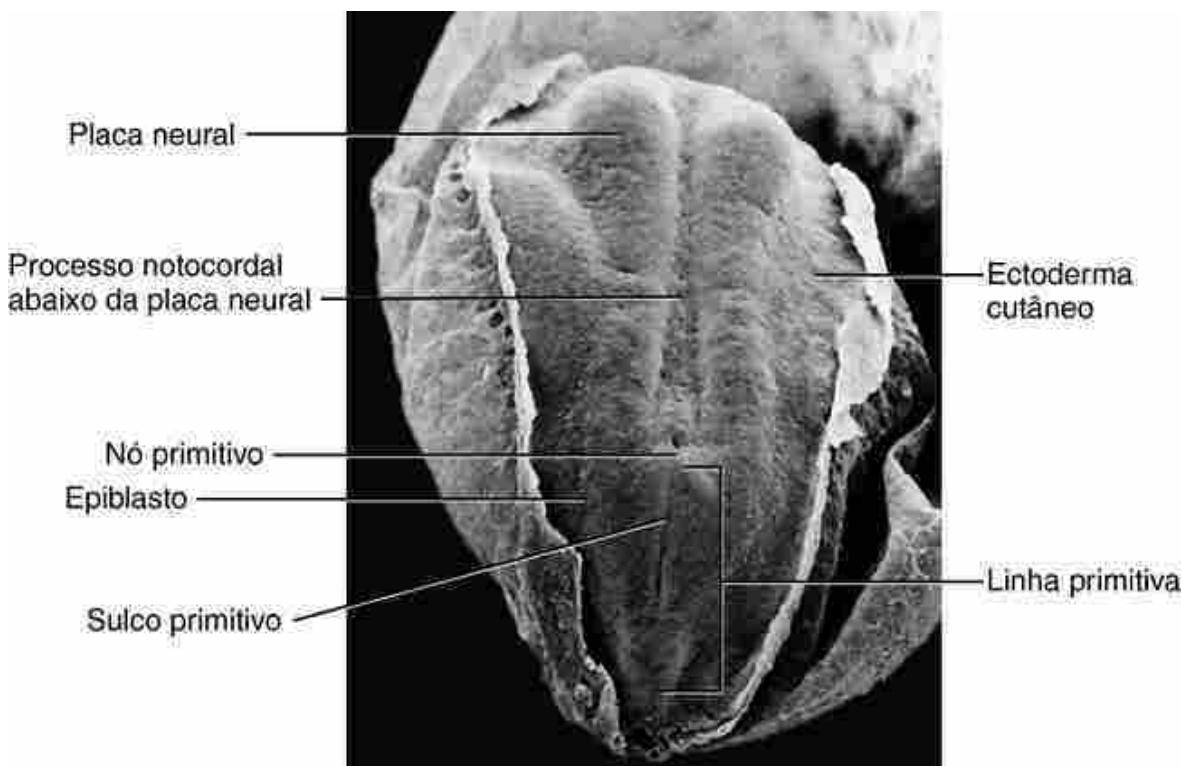


FIGURA 3-9 Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de macaco, comparável ao 19º dia do embrião humano, mostrando o ectoderma cutâneo de um disco embrionário trilaminar (extremidade cranial em cima). Embora a placa neural e o ectoderma cutâneo estejam bem formados nos dois terços craniais do embrião, ainda estão presentes caudalmente uma linha primitiva em regressão e o epiblasto na margem.

As mudanças morfogenéticas (*i.e.*, eventos que geram forma) acontecem em cada uma dessas camadas germinativas para formar rudimentos dos órgãos primitivos. Assim, frequentemente fala-se de derivados do ectoderma, do mesoderma e do endoderma. Na realidade, poucos rudimentos de órgãos formam-se a partir de uma única camada germinativa; frequentemente duas ou mais camadas colaboram (p. ex., o tubo intestinal é derivado do endoderma e do mesoderma). A formação dos rudimentos dos órgãos durante a formação do plano corporal em forma de tubo dentro de tubo (Cap. 4) é seguida pela transformação desses rudimentos de órgãos em sistemas de órgãos, que é o processo da **organogênese**. A organogênese é o principal tópico dos outros capítulos deste livro.

No Laboratório de Pesquisa

Base celular da gastrulação

As bases celulares da gastrulação têm sido estudadas em uma grande variedade de modelos animais. Durante a gastrulação, as células executam quatro tipos de movimentos coordenados, denominados **movimentos morfogenéticos**: **epibolia** (extensão de uma camada epitelial), **embolia** (internalização), **convergência** (movimento em direção à linha média) e **extensão** (alongamento no plano craniocaudal). Os dois últimos movimentos ocorrem conjunta e coordenadamente um com o outro e são denominados **extensão convergente**. Portanto, a extensão convergente envolve um rearranjo celular para aproximar as células da região da linha mediolateral e, concomitantemente, aumenta sua extensão craniocaudal. Os movimentos morfogenéticos são produzidos por uma combinação de **mudanças no comportamento celular**. Essas mudanças ocorrem na **forma**, no **tamanho**, na **posição** e no **número das células**. Essas mudanças estão frequentemente associadas às mudanças na **adesão célula-célula** e **célula-matriz extracelular**.

As mudanças na forma da célula envolvem achatamento (de cilíndricas ou cúbicas para pavimentosas), alongamento ou encurtamento (de cuboidal para cilíndrica ou de cilíndrica para cuboidal) e formato de cunha (de cilíndrica para cuneiforme). As mudanças no tamanho celular envolvem aumento (**crescimento**) ou diminuição do volume celular. As mudanças na posição celular envolvem deslocamento ativo (**migração**) ou passivo das células de uma região do embrião para outra. As mudanças no número envolvem aumento (**mitose**) ou diminuição (**apoptose**, também denominada **morte celular programada**) delas.

Tanto a epibolia quanto a embolia estão envolvidas na gastrulação humana, já que as células se movem em direção para dentro e através da linha primitiva. A epibolia envolve a extensão de uma camada de células,

geralmente na superfície de um embrião. As células do epiblasto sofrem epibolia para migrarem em direção e para dentro da linha primitiva. A embolia envolve o movimento das células para o interior de um embrião e é também denominada **internalização**. Ela pode envolver o movimento individual de células ou de uma camada de células. O movimento de células através da linha primitiva e no seu interior envolve um tipo de embolia denominado **ingressão** – que é a internalização de células individuais em processo de transformação epitélio-mesenquimal (EMT).

A EMT envolve modificações tanto na **adesão célula-célula** quanto na **forma da célula**, sendo esta última mediada por mudanças no **citoesqueleto**. Durante a EMT, as células do epiblasto no interior da linha primitiva substituem suas atividades adesivas predominantes de célula-célula para célula-substrato (membranas basais e matriz extracelular). Um gene responsável pela repressão das características epiteliais nas células mesenquimais da linha é o Snail, um fator de transcrição *zinc-finger*. Sob a sua influência, cessa a expressão de determinadas moléculas de adesão célula-célula, como a E-caderina, enquanto é induzida a expressão de proteínas do citoesqueleto, como a vimentina. Além disso, o citoesqueleto é alterado pela expressão de membros da família *Rho* de *GTPases*, como *RhoA* e *Rac1*. Eles são necessários para regular a organização da actina e o desenvolvimento dos lamelipódios das células em gastrulação na linha primitiva. Quando as *GTPases* são perturbadas, as células se acumulam e morrem no espaço entre o epiblasto e o hipoblasto. De maneira similar, as mutações com perda de funções de uma variedade de moléculas de adesão e do citoesqueleto perturbam a EMT. Essas incluem a N-caderina, uma molécula de adesão intercelular, e a β -catenina, um componente citoplasmático do complexo de adesão caderina/catenina, como também a afadina, uma proteína de ligação ao filamento de actina. Além de mudanças na adesão e no citoesqueleto, o sinalizador *Fgf* tem um importante papel na EMT. Nas mutações com perda de funções do receptor 1 do fator de crescimento de fibroblastos (*Fgf1*), as células em involução perdem sua capacidade de ingressar, e, como consequência, se acumulam na linha primitiva.

Estabelecimento das subdivisões mediolaterais do mesoderma

Antes de discutir a formação do mesoderma e suas subdivisões mediolaterais, é importante compreender duas áreas que se estabelecem no início do desenvolvimento do embrião e que exercem influências indutivas: o **centro de Nieuwkoop** e o **organizador** (frequentemente chamado de organizador de Spemann-Mangold). O centro de Nieuwkoop é um centro organizador que se forma no início do desenvolvimento e que induz o organizador. O organizador, por sua vez, emite sinais para criar padrões que subdividem o mesoderma mediolateral recém-formado. Esses dois centros de sinalização foram inicialmente descobertos em anfíbios, mas existem centros homólogos em todos os embriões de vertebrados. O centro de Nieuwkoop não tem uma estrutura distinguível, ele é definido pela localização no embrião no início do desenvolvimento e por sua capacidade de induzir o organizador. Com a caracterização molecular do centro de Nieuwkoop, os padrões de expressão gênicos são usados para identificá-lo. Em contraste com o centro de Nieuwkoop, o organizador é estruturalmente distingível; ele é o lábio dorsal do blastóporo nos anfíbios, o escudo em peixes, o nó de Hensen em galinhas, o nó em camundongos e o nó primitivo em humanos. Ele pode também ser definido por sua posição no embrião inicial, por sua capacidade de induzir e padronizar um eixo embrionário (discutido posteriormente neste capítulo) e pelos seus padrões de expressão de genes.

Como já discutido anteriormente neste capítulo, após mover-se entre o ectoderma e o endoderma, o mesoderma rapidamente separa-se em várias subdivisões mediolaterais. Como são estabelecidas essas subdivisões? Experimentos feitos inicialmente em embriões de anfíbios sugerem que gradientes de fatores de crescimento secretados (*i.e.*, **morfógenos**) induzem as subdivisões do mesoderma. Por ser o embrião de anfíbio mais esférico do que achulado no início do desenvolvimento, a formação das subdivisões mediolaterais do mesoderma é frequentemente referida como padronização dorsoventral, sendo a notocorda a maior parte da subdivisão dorsal do mesoderma e a placa de mesoderma lateral a maior parte ventral ([Fig. 3-10](#)). Assim, para compreender a padronização mediolateral das subdivisões do mesoderma em embriões humanos, deve-se entender que o mesoderma dorsal dos anfíbios é equivalente ao mesoderma mediano dos humanos e que o mesoderma ventral dos anfíbios é equivalente ao mesoderma lateral dos humanos. Com a formação das dobras do corpo e o estabelecimento do plano corporal tridimensional de um tubo dentro de um tubo (discutido no [Cap. 4](#)), o mesoderma que era originalmente mais mediano em humanos (notocorda) torna-se o mesoderma mais dorsal, e o mesoderma que era originalmente lateral em humanos (mesoderma da placa lateral) torna-se o mesoderma mais ventral.

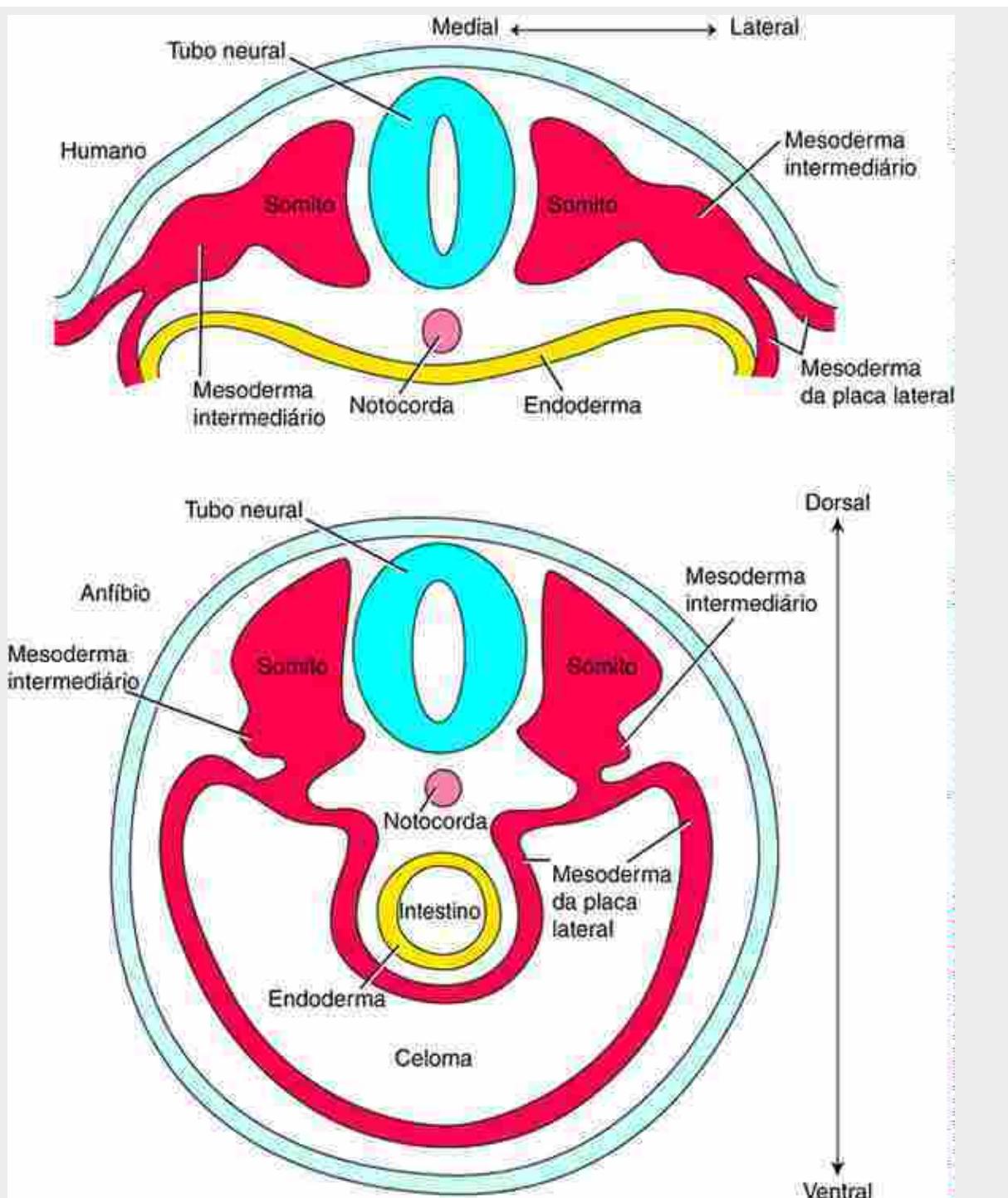


FIGURA 3-10 Esquemas dos cortes transversais mostrando que o eixo mediolateral das subdivisões do mesoderma (notocorda, somitos e mesoderma intermediário) de um embrião humano inicialmente achatado (disco embrionário) é equivalente às mesmas subdivisões do eixo dorsoventral do mesoderma dos embriões tubulares de anfíbios.

Os gradientes envolvidos na padronização mesodérmica envolvem interações sinérgicas entre fatores dorsalizantes e ventralizantes. Os **fatores de dorsalização** incluem produtos proteicos dos genes Noggin, Chordin, nodal, Follistain e Cerberus, enquanto Bmps e Wnts atuam como **fatores de ventralização**. Os fatores de dorsalização são secretados pelo organizador (nó primitivo) e seus derivados (a notocorda e a placa do assoalho do tubo neural), e eles atuam antagonizando a sinalização Bmp e/ou Wnt. Assim, cada subdivisão mesodérmica é padronizada pelos níveis específicos de sinalização de Bmp e Wnt que ocorrem nessa subdivisão, de acordo com sua posição em relação ao organizador. Na presença de baixos níveis de sinalização de Bmp e Wnt forma-se a notocorda, mas na presença de altos níveis formam-se o mesoderma da placa lateral. A quantidade de sinalização de Bmp e Wnt nos somitos é menor do que a existente no mesoderma da placa lateral, mas é aumentada em relação ao que ocorre na notocorda. Como exemplo, a superexpressão de Bmps ou de Wnt ventraliza o mesoderma e suprime

a formação da notocorda, enquanto a superexpressão de antagonistas de Bmp ou de Wnt (p. ex., Cerberus) induzem a formação de notocordas ectópicas.

Experimentos com perda de função gênica em camundongos identificaram fatores de transcrição envolvidos na especificação do mesoderma intraembrionário. Por exemplo, com a perda de função do Foxa2 (um fator de transcrição *forkhead* previamente conhecido como Hnf3 β), o nó não é mantido como uma estrutura distinta e, subsequentemente, não se forma a notocorda. Entretanto, a perda de função do *Tbx6* (um fator de transcrição gênico contendo *T-box*, muito similar ao gene *T-box* brachyura, o prototípico desta subfamília gênica) impede a formação do mesoderma paraxial (*i.e.*, somitos). Assim, além dos gradientes de fatores difusíveis que controlam a especificação do mesoderma intraembrionário, são necessárias as expressões de fatores de transcrição para a diferenciação e a manutenção do destino celular.

Especificidades da gastrulação: a movimentação de células para novos locais e a formação dos rudimentos dos órgãos com interações indutivas

O destino das células do epiblasto depende do seu local de origem

Mapas de destino e estudos de linhagens celulares em modelos animais revelaram os locais de origem das células do epiblasto que formam as várias subdivisões do ectoderma, endoderma e mesoderma. No mapeamento de destino, grupos de células são marcados por uma de várias maneiras (frequentemente com corantes fluorescentes) e são, então, seguidos por algum tempo. Nos estudos de linhagem celular, são marcadas células isoladas e menos grupos de células (frequentemente por métodos genéticos com genes informantes), e seus descendentes são, então, seguidos ao longo do tempo. Ambas as técnicas tornam possível a construção de **mapas do destino esperado** (Fig. 3-11) – esquemas que mostram os locais dos grupos de células precursoras antes do início da gastrulação. Os mapas do destino esperado mostram que as células de diferentes camadas germinativas e de diferentes subdivisões dentro das camadas germinativas são parcialmente segregadas umas das outras no epiblasto e na linha primitiva, embora haja geralmente sobreposição entre grupos de células adjacentes. Os mapas do destino esperado revelam somente quais grupos de células de uma determinada região do epiblasto (ou linha primitiva) formam-se durante o desenvolvimento normal. Eles não revelam se essas células estão comprometidas com um destino em particular ou se são ainda **pluripotentes** – isto é, providos da capacidade intrínseca de se desenvolver em qualquer tipo celular do organismo. Experimentos mostraram que a maioria das células do epiblasto e da linha primitiva são realmente pluripotentes e seus destinos são especificados por interações celulares que ocorrem durante sua migração ou logo após sua chegada ao destino final. Assim, durante a gastrulação, o **potencial esperado** de um grupo de células do epiblasto, que é o que elas são capazes de formar em um estágio particular do desenvolvimento, é tipicamente maior do que o seu **destino esperado**, que é o que elas são destinadas a formar durante o desenvolvimento normal, conforme seu local de origem.

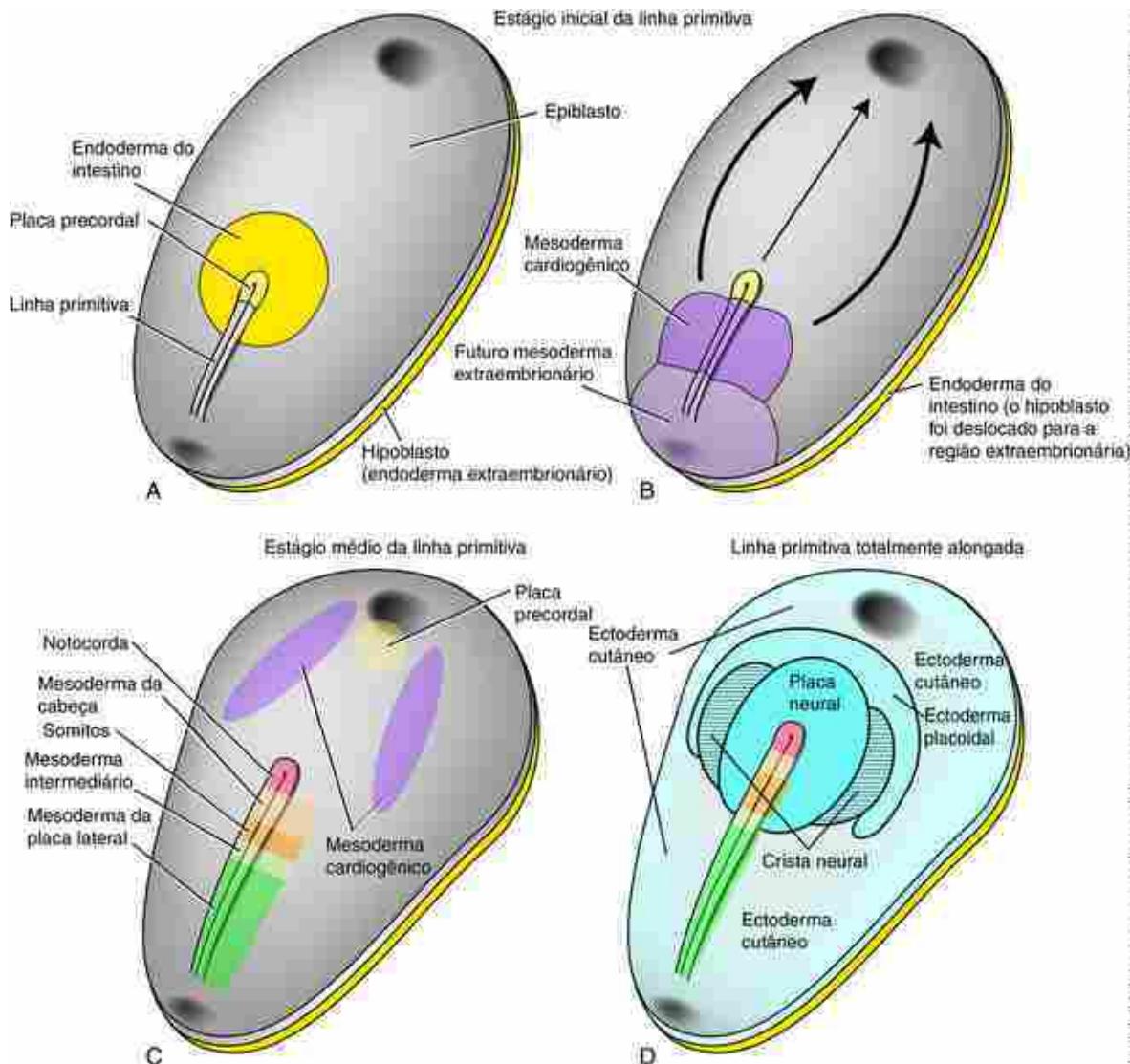


FIGURA 3-11 Mapas do destino esperado para o epiblasto (com base em dados obtidos em embriões de galinha e de camundongo) mostrando as regiões do epiblasto que entram na linha primitiva e formam as principais subdivisões do disco embrionário trilaminar. A, Estágio inicial de linha primitiva. Nesse estágio o blastoderma consiste em um epiblasto em cima e um hipoblasto abaixo. É mostrada, no epiblasto, a localização do futuro endoderma do intestino, e, na terminação cranial da linha primitiva, é mostrada a futura placa precordial. A estrutura oval na terminação cranial do epiblasto indica a localização da futura membrana orofaríngea; a estrutura caudal oval indica a futura membrana cloacal. B, Estágio inicial da linha primitiva mostrando as localizações do futuro mesoderma cardiogênico e do futuro mesoderma extraembryônário no epiblasto e na linha primitiva. As setas curvas indicam as direções da migração do mesoderma cardiogênico. A seta estreita indica a direção da migração da placa precordial. Nesse estágio, o endoderma do intestino ingressou e substituiu o hipoblasto na camada abaixo do epiblasto. C, Estágio médio da linha primitiva mostrando as localizações do futuro mesoderma no epiblasto e na linha primitiva. Entre elas estão incluídas a futura notocorda, o mesoderma da cabeça, os somitos, o mesoderma intermediário e o mesoderma da placa lateral. Observe que a placa precordial e o mesoderma cardiogênico ingressaram e repousam abaixo do epiblasto. D, Estágio da linha primitiva totalmente alongada mostrando as localizações da placa neural, do ectoderma cutâneo, das células da crista neural e do ectoderma placoidal após as células na metade cranial do disco embrionário terem completado sua ingressão para dentro da linha primitiva. Nesse estágio algum epiblasto ainda permanece caudalmente, onde as células se movimentam e ingressam pela linha primitiva.

A gastrulação envolve uma série de movimentos altamente coreografados que ocorrem ao longo do tempo (Fig. 3-11). Começando no início do estágio de linha primitiva (Fig. 3.11A), a região do epiblasto do **futuro endoderma (definitivo)** do **intestino** move-se da circunjacência da metade cranial da linha primitiva para dentro da linha primitiva. Ele então migra para o hipoblasto e desloca essa camada para formar o **endoderma definitivo**. Esse processo de formação do endoderma ocorre até o final do estágio totalmente alongado da linha primitiva. Ainda no estágio inicial da linha primitiva, a **futura placa precordial** na extremidade cefálica da linha primitiva ingressa na linha média cranial para formar a **placa precordial**. A placa precordial é uma das estruturas mais mal compreendidas da embriologia humana. Experimentos em galinhas e em camundongos fornecem fortes evidências de que a placa precordial origina-se

na extremidade cranial da linha e intercala-se na camada endodérmica, onde forma um espessamento. A placa precordial (alguns livros se referem a ela como placa *procordal*) contribui para a formação da **membrana orofaríngea**, uma membrana formada por duas camadas (ectoderma e endoderma) que se rompe para formar a abertura da **boca**. Além disso, ela forma um importante centro de sinalização envolvido na padronização da extremidade cranial do tubo neural (futuro prosencéfalo, discutido no [Capítulo 4](#)). Finalmente, evidências em modelos animais sugerem que parte da placa precordial sofre uma **transformação epitélio-mesenquimal** para formar as células mesenquimais da cabeça a partir das células que foram para a linha média cranial, abaixo do prosencéfalo, logo cranialmente à notocorda. Por formar tanto os derivados do mesoderma (parte do mesênquima da cabeça) quanto do endoderma (parte da membrana orofaríngea), a placa precordial é frequentemente considerada uma estrutura **mesendodérmica**.

A formação do mesoderma também começa durante o estágio inicial de linha primitiva ([Fig. 3-11B](#)). O **futuro mesoderma cardiogênico** move-se do epiblasto para a porção mediana da linha primitiva e então migra cefalicamente para formar o **mesoderma cardiogênico**, que flanqueia a membrana orofaríngea. O **futuro mesoderma extraembrionário** move-se do epiblasto para a extremidade caudal da linha primitiva para contribuir com a formação do **mesoderma extraembrionário** do âmnio, do saco vitelino e do alantoide (discutidos no [Cap. 6](#)).

No estágio intermediário da linha primitiva ([Fig. 3.11C](#)), a **futura notocorda** migra cranialmente na linha média para formar o **processo notocordal**. Mais caudalmente e em uma sucessão craniocaudal, o **futuro mesoderma da cabeça** no epiblasto migra para e através da linha primitiva e forma o **mesoderma da cabeça**; os **futuros somitos** no epiblasto migram para e através da linha primitiva para formar os **somitos**; o **futuro mesoderma intermediário** migra para e através da linha primitiva para formar o **mesoderma intermediário**; e a **futura placa de mesoderma lateral** migra para e através da linha primitiva para formar a **placa de mesoderma lateral**. Coletivamente, o futuro mesoderma da cabeça e os futuros somitos constituem o **mesoderma paraxial**.

No estágio de linha primitiva completamente alongada, quando a linha primitiva já alcançou seu comprimento máximo e ainda não iniciou sua regressão ([Fig. 3-11D](#)), o movimento das células do epiblasto para a linha primitiva já se completou, exceto na região adjacente à extremidade caudal da linha primitiva. Assim, a maior parte do epiblasto consiste agora em **ectoderma**. A **futura placa neural** está localizada cranial e lateralmente à extremidade cranial da linha primitiva. As **futuras células da crista neural**, uma população migratória de células ectodérmicas (discutidas no [Cap. 4](#)), flanqueiam as faces laterais da placa neural. O **futuro ectoderma placoidal**, uma área em forma de ferradura que forma os placoides sensoriais (discutido nos [Caps. 4 e 18](#)), localiza-se perifericamente às bordas craniolaterais da placa neural, e o **futuro ectoderma cutâneo** constitui as áreas remanescentes do ectoderma. Nesse estágio, somente a placa neural e o ectoderma cutâneo podem ser distinguidos um do outro quando o ectoderma é observado por microscopia eletrônica de varredura ([Fig. 3-9](#)).

A notocorda é formada em múltiplas etapas

A formação da notocorda começa com uma extensão cranial na linha média a partir do nó primitivo, sob a forma de um tubo oco, o **processo notocordal**. Esse tubo cresce em comprimento na medida em que as células do nó primitivo são adicionadas à sua extremidade proximal, concomitantemente com a regressão da linha primitiva ([Fig. 3-12](#)).

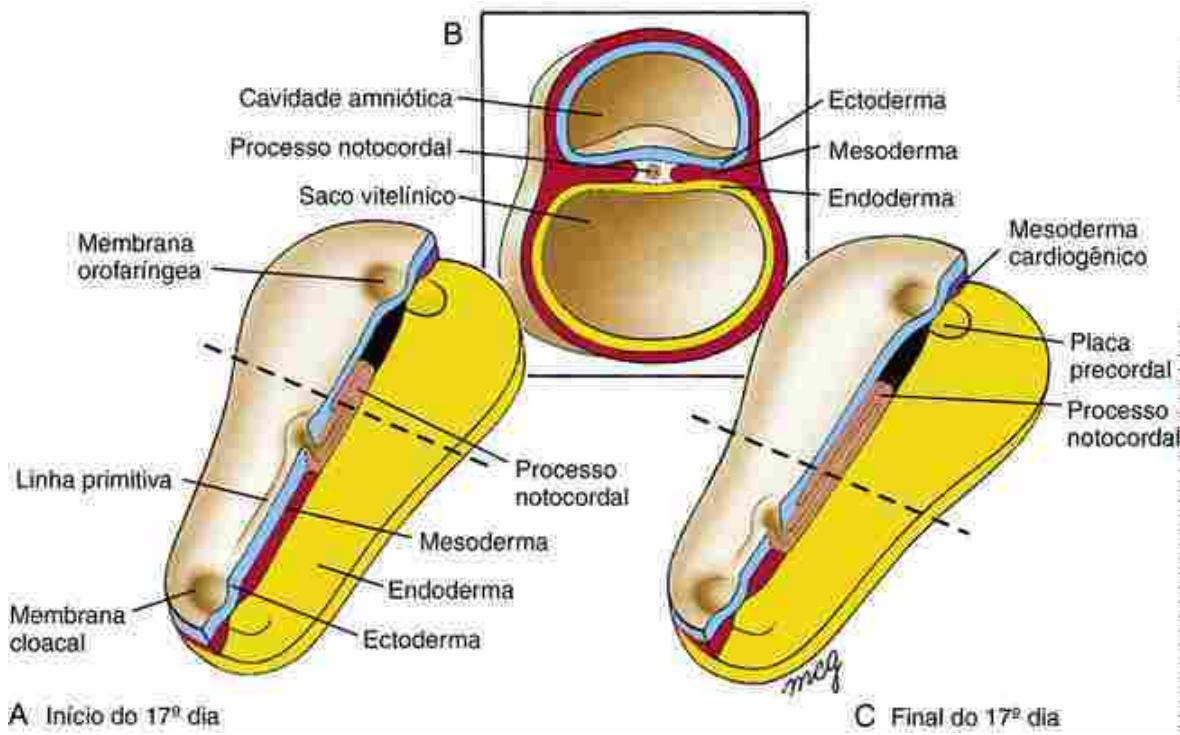


FIGURA 3-12 Formação do processo notocordal. A, C, Estágios do processo notocordal oco crescendo cranialmente a partir do nó primitivo (dissecado no plano mediossagital). Observe as mudanças no comprimento relativo do processo notocordal e da linha primitiva durante o crescimento do embrião. Observe também a fusão entre ectoderma e endoderma nas membranas orofaríngea e cloacal. B, Corte transversal do disco embrionário no local indicado pelas linhas pontilhadas.

Quando o processo notocordal está completamente formado, por volta do 20º dia, acredita-se que várias transformações morfogenéticas ocorram para convertê-lo de um tubo oco para uma placa achatada e, finalmente, para um cordão sólido (resumido na Fig. 3-13C). Primeiro, o assoalho ventral do tubo se funde com o endoderma subjacente e as duas camadas se rompem, formando a **placa notocordal** achatada (Fig. 3-13A,B). No nível da fosseta primitiva, a cavidade do saco vitelínico agora se comunica transitoriamente com a cavidade amniótica através de uma abertura denominada **canal neuroentérico** (Fig. 3-13B). Então, a **placa notocordal** se destaca completamente do endoderma, e suas extremidades livres se fundem à medida que se dobram para cima no espaço que contém o mesoderma, entre o ectoderma e o endoderma, modificando-se e tornando-se um cordão sólido denominado **notocorda** (Fig. 3-13C). Como a notocorda deriva do nó primitivo e termina na camada mesodérmica, ela é considerada um derivado mesodérmico.

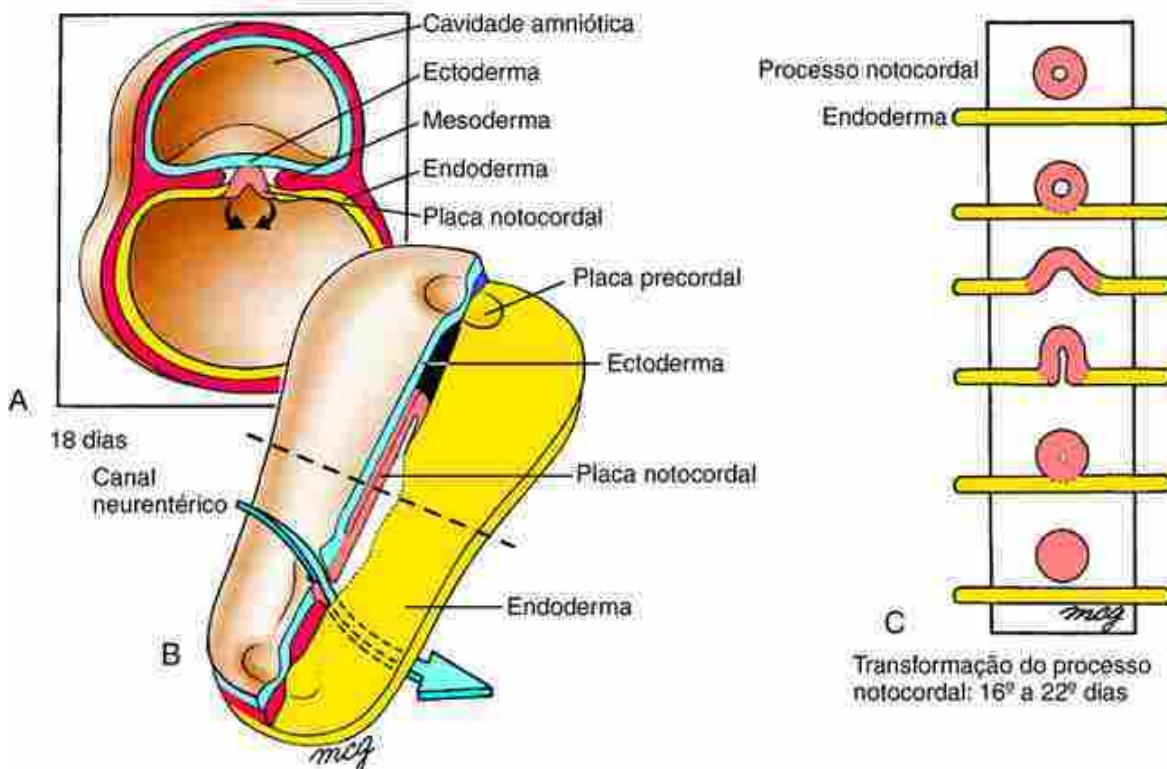


FIGURA 3-13 O evento pelo qual o processo notocordal oco é transformado em uma notocorda sólida entre o 16º e o 22º dias. **A, B**, Primeiro, a parede ventral do processo notocordal funde-se com o endoderma, deixando para trás a placa notocordal achatada fusionada ao endoderma. Como mostrado em **B**, esse evento começa na extremidade caudal do processo notocordal e prossegue cranialmente (a linha tracejada indica o local do corte em **A**). Um canal neurentérico aberto é brevemente formado entre a cavidade amniótica e a cavidade do saco vitelínico. **C**, Série de eventos pelos quais o processo notocordal torna-se a placa notocordal e então a notocorda.

Durante o desenvolvimento tardio, os rudimentos dos corpos vertebrais unem-se em torno da notocorda e é comum considerar que a notocorda forma o núcleo pulposo no centro dos discos vertebrais. Certamente isso é verdade no embrião, no feto e na criança. Entretanto, no início da infância, as células do núcleo pulposo de origem notocordal degeneram e são substituídas por células mesodérmicas adjacentes. Assim, a notocorda não contribui para a formação dos elementos ósseos da coluna vertebral. Mais que isso, a notocorda desempenha importantes papéis induidores e de padronização no início do desenvolvimento (discutido no [Cap. 4](#)) e também está envolvida na indução dos corpos vertebrais (discutida no [Cap. 8](#)).

No Laboratório de Pesquisa

Base Celular da Extensão Convergente

Além da epibolia e da embolia, discutidas anteriormente neste capítulo, a extensão convergente desempenha um importante papel na gastrulação. Mais especificamente, a formação da placa notocordal envolve extensão convergente – a aproximação coordenada de um grupo de células derivadas do nó no plano mediolateral e o concomitante alongamento no plano cefalocaudal à medida que a placa notocordal se forma. Estudos detalhados deste processo em embriões de anfíbios revelaram que a extensão convergente da notocorda é promovida pelo **intercalamento célula a célula**, ou seja, pela interdigitação mediolateral das células. Como uma metáfora, imagine quatro fileiras de carro fundindo-se em duas. Se cada fileira contiver cinco carros, quando o número de vias for diminuído pela metade cada fileira necessitará, em média, do dobro do seu comprimento para acomodar todos os 20 carros nas duas vias. Em outras palavras, deverá haver um concomitante aumento no comprimento das fileiras de carros à medida que diminui a largura ocupada pelas fileiras em processo de fusão.

Os anfíbios diferem dos pássaros e dos mamíferos porque praticamente não há crescimento no início do seu desenvolvimento, enquanto nos pássaros e nos mamíferos ocorre amplo crescimento. Estudos sobre o alongamento da notocorda em pássaros e em mamíferos revelaram que, além da extensão convergente gerada pelo **intercalamento célula a célula**, a **divisão celular orientada** também desempenha um importante papel. Assim, os planos de divisão mitótica (*i.e.*, as placas de metáfase) das células notocordais em divisão são posicionados de

modo a separar as células-filhas preferencialmente no plano craniocaudal, mais do que no plano mediolateral. Estudos de modelagem sugerem que cerca da metade da extensão convergente que ocorre na formação da notocorda em pássaros e em mamíferos é dirigida pelo intercalamento célula a célula, enquanto a outra metade é dirigida pela divisão celular orientada.

O mesoderma paraxial divide na cabeça e no tronco

O mesoderma que começa a ingressar pela porção média da linha primitiva, no estágio intermediário de sua formação, origina o mesoderma paraxial que imediatamente flanqueia a notocorda. Na futura região da cabeça, esse mesoderma, o **mesoderma da cabeça**, forma faixas de células que permanecem não segmentadas (Fig. 3-14A). O mesoderma torna-se mais disperso com o passar do tempo, preenchendo frouxamente a cabeça em desenvolvimento com o **mesênquima da cabeça**. Posteriormente, quando começar a migração das **células da crista neural** (discutido no [Cap. 4](#)), o mesênquima da cabeça torna-se suplementado com estas células. Assim, o mesênquima da cabeça é derivado tanto do mesoderma da cabeça quanto das células ectodérmicas da crista neural (e da placa precordal na parte mais cranial da linha média, como discutido anteriormente neste capítulo).

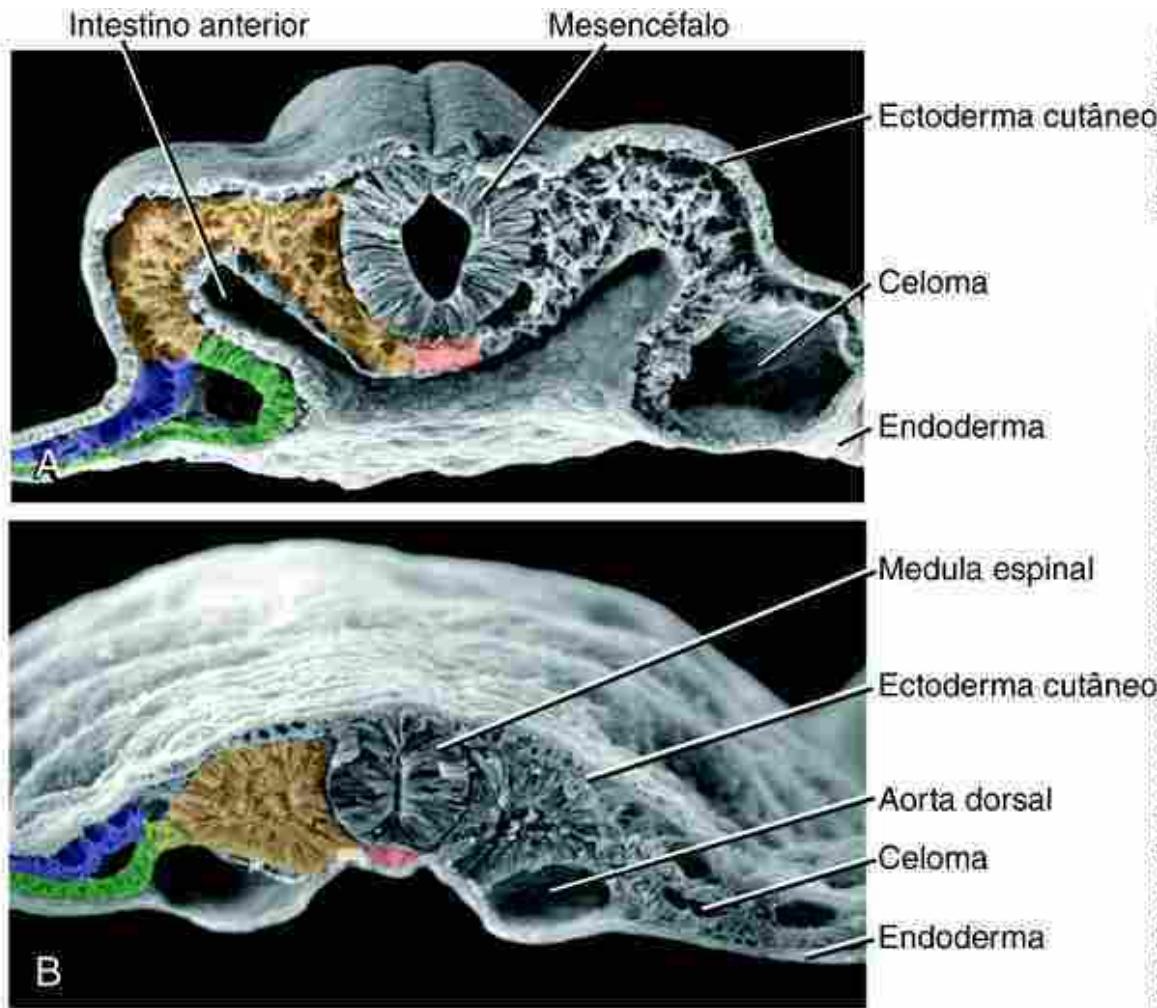


FIGURA 3-14 Micrografia eletrônica de varredura do corte transversal de embrião de galinha mostrando a cabeça (A) e o tronco (B), com o tubo neural (mesencéfalo e medula espinal, respectivamente) e as subdivisões do mesoderma (coloridas no lado esquerdo, mas sem cor no lado direito); notocorda (rosa), mesoderma paraxial (laranja), mesoderma intermediário (verde-claro) e mesoderma da placa lateral, composto de mesoderma somático (roxo) e mesoderma esplâncnico (verde-escuro). Na cabeça, a placa de mesoderma lateral (algumas vezes denominada mesoderma lateral) é equivalente ao mesoderma cardiógenico. A camada esplâncnica forma a parede do coração, e a somática forma parte do revestimento da cavidade pericárdica.

O mesoderma da cabeça dá origem aos músculos estriados da face, da mandíbula e da garganta. Como descrito no [Capítulo 17](#), esses músculos diferenciam-se dentro dos segmentos dos arcos faríngeos, os quais se desenvolvem em cada lado da faringe. Os arcos faríngeos são elementos centrais no desenvolvimento do pescoço e da face.

Na futura região do tronco, o mesoderma paraxial também forma feixes de células, mas essas faixas logo se segmentam em **somitos**, condensações de mesoderma em forma de blocos (Figs. 3-14B, 3-15 e 3-16). O primeiro par de somitos se forma próximo ao 20º dia, no limite entre a cabeça e o tronco. Os outros se formam em uma progressão cefalocaudal, com velocidade de cerca de 3 ou 4 ao dia, terminando próximo ao 30º dia. Formam-se aproximadamente 42 a 44 pares de somitos, que flanqueiam a notocorda desde a região occipital (base do crânio) até a extremidade caudal do embrião. Entretanto, vários somitos mais caudais desaparecem, e, na contagem final, são aproximadamente 37 pares.

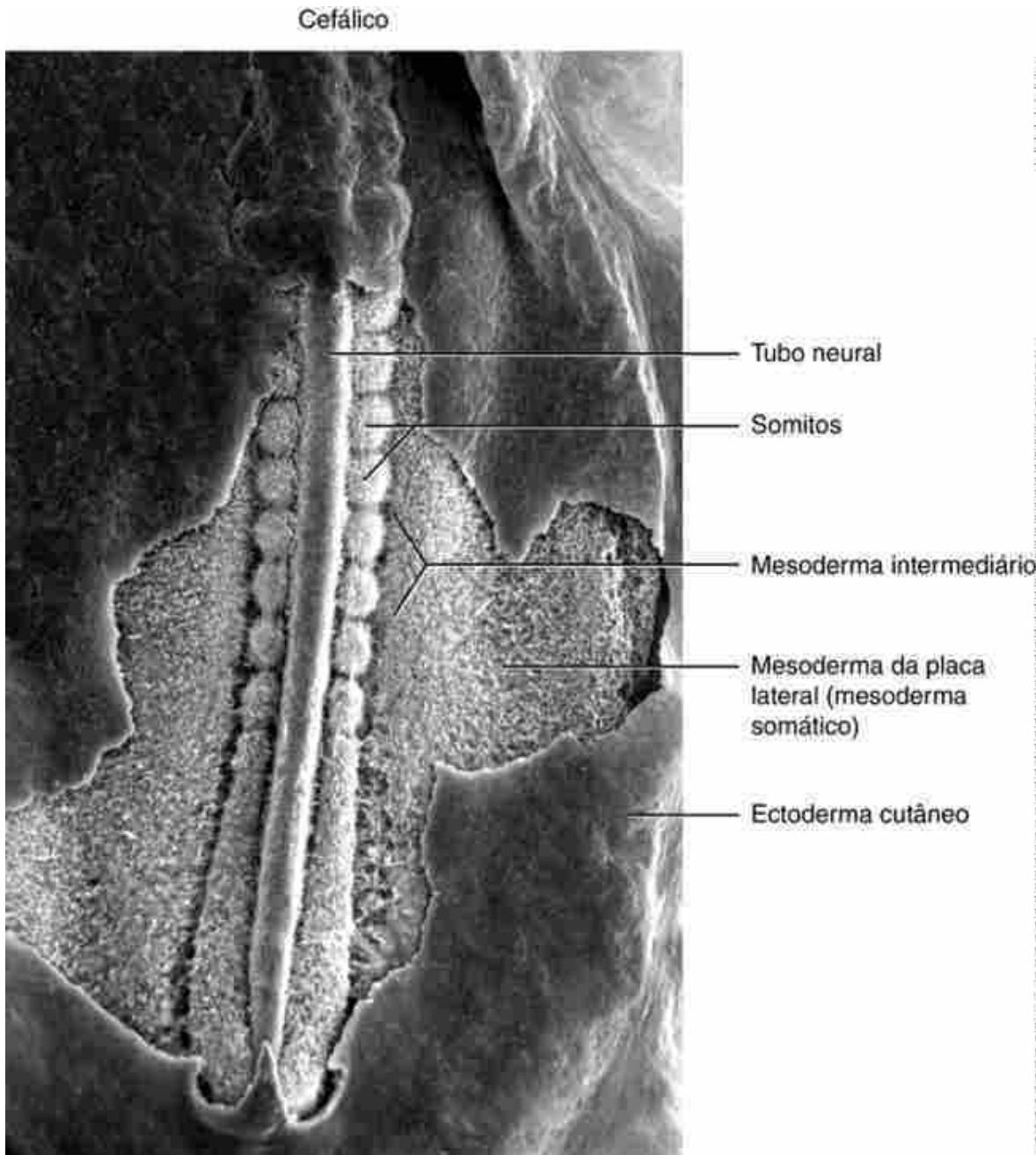


FIGURA 3-15 Micrografia eletrônica de varredura da região do tronco de um embrião de galinha com o ectoderma cutâneo parcialmente removido para mostrar o tubo neural e o mesoderma subjacentes (cranial é em direção à parte de cima). Observe os somitos e, mais caudalmente, o mesoderma paraxial, que ainda não está segmentado. Lateralmente aos somitos, o mesoderma se subdividiu em mesoderma intermediário e em mesoderma da placa lateral (o mesoderma somático é visível na camada logo abaixo do ectoderma cutâneo).

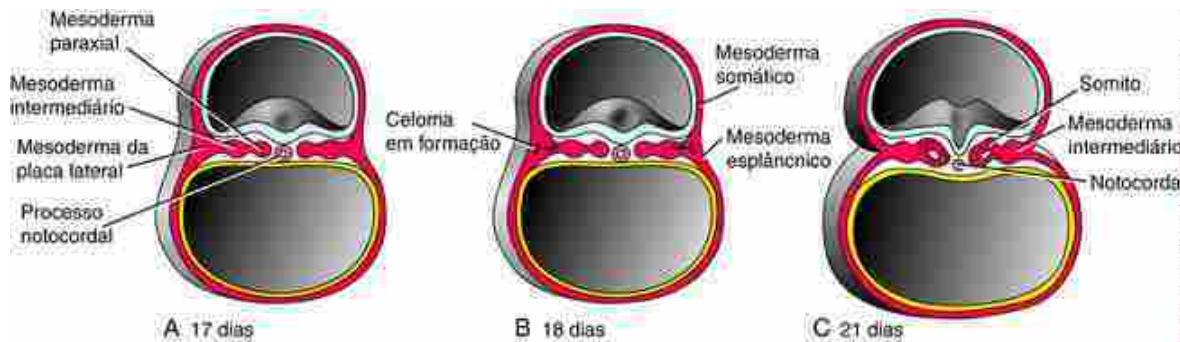


FIGURA 3-16 Cortes de embriões de 17 a 21 dias de gestação mostrando a diferenciação do mesoderma em ambos os lados da linha média. *A*, No 17^o dia, o mesoderma começou a se diferenciar em paraxial, intermediário e em placa de mesoderma lateral. *B*, No 18^o dia, a placa lateral começou a se dividir para formar o celoma intraembrionário e os mesodermas somático e esplâncnico. *C*, No 21^o dia, a notocorda, os somitos e o mesoderma intermediário estão bem formados e a divisão do mesoderma da placa lateral está completa.

Os somitos originam a maior parte do esqueleto axial, incluindo a coluna vertebral e parte do osso occipital do crânio; a musculatura voluntária do pescoço, parede do corpo e membros, e a derme do corpo. Assim, a formação e a segmentação dos somitos são de grande importância para a organização da estrutura corporal.

Os quatro primeiros pares de somitos se formam na região occipital. Esses somitos, juntos com a crista neural, contribuem para o desenvolvimento da parte occipital do crânio, dos ossos que se formam em torno do nariz, olhos e ouvido interno; dos músculos oculares extrínsecos e dos músculos da língua (discutido nos Caps. 8 e 17). Os próximos oito pares de somitos formam-se na futura região **cervical**. Os somitos mais craniais da região cervical também contribuem para a formação do osso occipital, e os outros formam as vértebras cervicais e sua musculatura associada, como também parte da derme do pescoço (discutido nos Caps. 8 e 17). Os próximos 12 pares, os **somitos torácicos**, formam as vértebras torácicas, a musculatura e os ossos da parede torácica, a derme torácica e parte da parede abdominal. Células dos somitos cervicais e torácicos invadem também os brotos dos membros superiores e formam a musculatura dos membros (discutidos nos Caps. 8 e 20).

Caudalmente aos somitos torácicos, os cinco **somitos lombares** formam a derme abdominal, os músculos abdominais e as vértebras lombares, e os cinco **somitos sacrais** formam o sacro, com sua derme e musculatura associadas. As células dos somitos lombares invadem os brotos dos membros inferiores para formarem a musculatura dos membros. Finalmente, os três somitos remanescentes, os **somitos coccígeos**, permanecem após a degeneração dos somitos mais caudais e formam o cóccix.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos moleculares da somitogênese

Os somitos se formam ritmadamente a partir do mesoderma paraxial do tronco e da cauda – frequentemente referido como **mesoderma pré-somítico** – por meio do processo de **segmentação**. A segmentação envolve a formação seriada e repetida de unidades funcionalmente equivalentes ou **segmentos**, um processo comum na maior parte do reino animal. Os invertebrados e os vertebrados parecem ter evoluído com estratégias diferentes de segmentação. Em *Drosophila*, por exemplo, todo o blastoderma segmenta-se de uma só vez, enquanto nos vertebrados a segmentação ocorre em uma onda céfalocaudal durante a somitogênese. Como uma metáfora para visualizar a diferença entre a segmentação de invertebrados e vertebrados, imagine uma máquina de cortar pão na qual o pão inteiro é cortado em “segmentos” todos ao mesmo tempo, quando comparado ao uso de uma faca de cortar pão para fatiá-lo em segmentos, começando em uma extremidade do pão e progredindo o fatiamento, fatia por fatia, até a outra extremidade.

Uma luz em nossa compreensão sobre a somitogênese veio com a descoberta de que certos genes, particularmente aqueles da via de sinalização Notch (discutido no Cap. 5), ciclam sua expressão no mesoderma pré-somítico de acordo com a somitogênese (Fig. 3-17). Mais especificamente, a expressão de membros da família Notch (como o *Lunatic fringe*) estende-se pelo mesoderma pré-somítico em uma sequência caudal-cranial, de forma cíclica e sincronizada com a formação de cada par de somito. Assim, examinando um determinado nível do mesoderma pré-somítico por hibridização *in situ*, parece que a expressão cíclica do gene liga e desliga quando cada par de somito se forma. O ciclo pode ser muito rápido, ocorrendo a cada 90 minutos na galinha e a cada 20 minutos (a 25°C) no peixe-zebra, sendo esses exatamente os tempos ocorridos para a formação de um novo par de somitos.

nesses organismos.

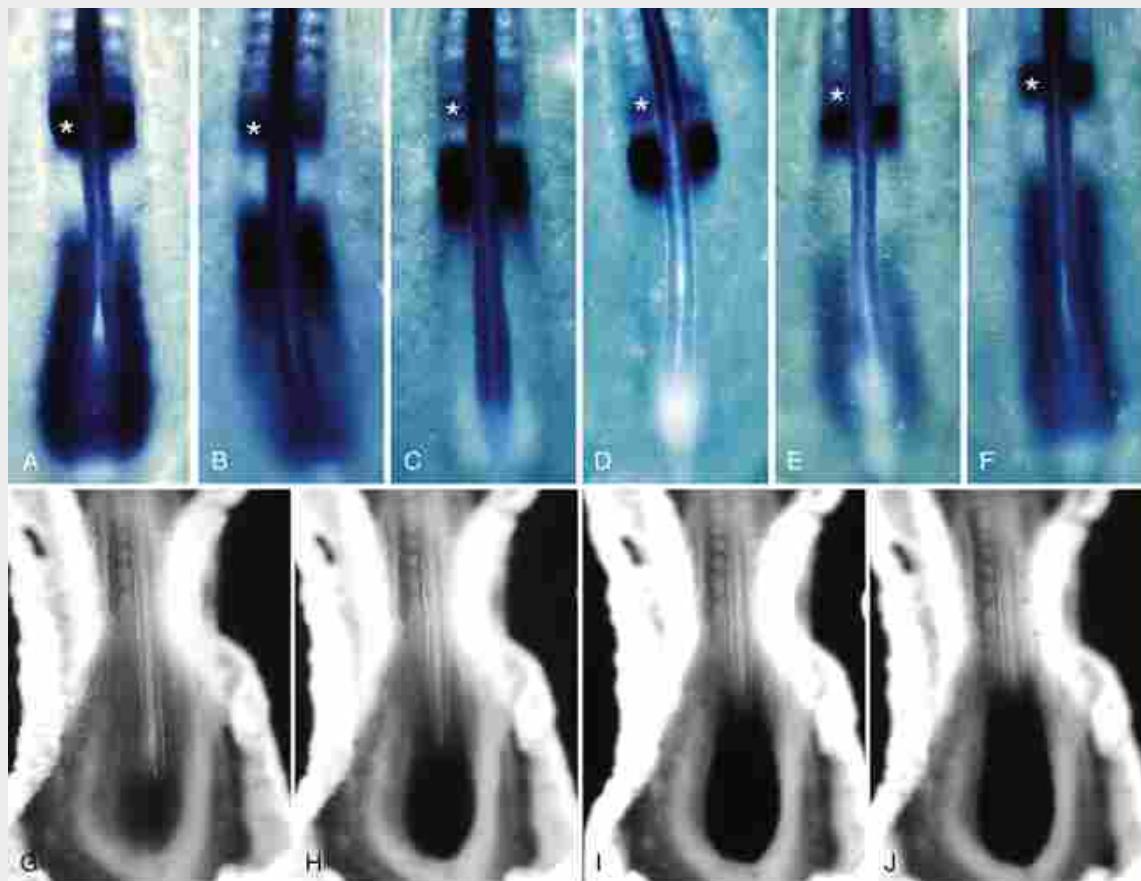


FIGURA 3-17 Expressão cíclica do gene Lunatic fringe (A-F) e do gradiente da proteína Fgf8 (G-J) durante a somitogênese da região caudal do embrião de galinha (cranial é em direção à parte de cima de cada imagem). A-F, Período do ciclo de 90 minutos para a formação de um par de somitos. Observe a onda de expressão do RNAm do Lunatic fringe movendo-se da extremidade caudal para a cranial (A-E), no mesoderma paraxial não segmentado e no último par de somitos recém-formado (F). G-J, Aumento progressivo do tempo de exposição de um anticorpo para a proteína Fgf8. Com um curto tempo de exposição ao anticorpo (G), somente são marcados o broto da cauda e a placa segmentar mais caudal, indicando uma alta concentração de proteína presente nessa região. Com exposições mais longas (H-J), as regiões mais craniais da placa segmentar tornam-se progressivamente mais marcadas, demonstrando um gradiente de concentração de caudal para cranial. O asterisco indica o nível do último par de somitos.

Alguns anos antes de os genes cílicos serem identificados no mesoderma pré-somítico, foi proposto um modelo para explicar a somitogênese. De acordo com esse modelo, denominado **modelo do relógio e da onda frontal**, a formação dos somitos envolve um oscilador, o então chamado **relógio de segmentação**, cujo sinal periódico é usado para especificar os limites dos somitos nos níveis progressivamente mais caudais, onde o sinal coincide tanto no tempo quanto no espaço com a expressão inicial e transitória de outra molécula sinalizadora (Fig. 3-18). O relógio de segmentação controla a expressão de genes cílicos, e o primeiro a ser identificado foi o gene Hairy1, um ortólogo da segmentação do gene Hairy da *Drosophila* e um membro da família Notch. Muitos outros membros da família Notch são agora conhecidos como parte do relógio de segmentação, e a sinalização Wnt também desempenha um papel importante. A oscilação promovida pelo relógio é aparentemente uma consequência da série de controles por retroalimentações entre as sinalizações do Notch e do Wnt. Assim, essa interação estabelece o ritmo do relógio e, consequentemente, o ritmo da somitogênese.

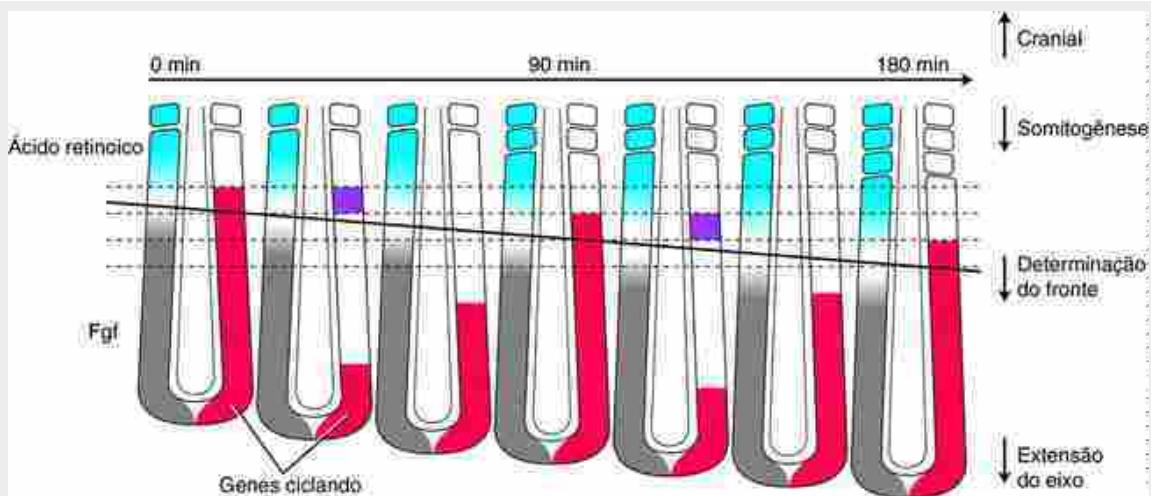


FIGURA 3-18 Base molecular do modelo do relógio e da onda frontal. Esquemas da extremidade caudal do embrião de galinha durante duas rodadas de somitogênese. Os gradientes do ácido retinoico (azul) e do Fgf8 (cinza) movem-se caudalmente na medida em que o embrião alonga-se (extensão do eixo). Na galinha, um par de somitos forma-se a cada 90 minutos e este é o comprimento do ciclo do relógio. A expressão dos genes de ciclagem (vermelho) estende-se da extremidade caudal para a cranial, e, quando a expressão desses genes estende-se cranialmente e cruza o nível limiar da sinalização de Fgf8 (processo denominado determinação de onda frontal; *linha diagonal*), os somitos são estabelecidos (indicado pela expressão dos genes Mesp; roxo).

O espaçamento dos somitos é alcançado pela onda frontal, que controla o posicionamento dos limites do somito ao longo do eixo craniocaudal. A onda frontal é gerada pelo gradiente do Fgf8, o qual é transcrito no broto da cauda quando o embrião sofre alongamento craniocaudal. Quando as células migram do broto da cauda para o mesoderma pré-somítico (discutido no Cap. 4), a transcrição de Fgf8 é interrompida. Além disso, Fgf8 decai progressivamente com o tempo, durante o alongamento cefalocaudal do mesoderma pré-somítico, de forma a estabelecer o gradiente de concentração da proteína Fgf8, que é baixa cefalicamente e alta caudalmente no mesoderma pré-somítico (Fig. 3-17). Esse gradiente é ainda mais refinado por um gradiente de ácido retinoico, que se estende caudalmente dos somitos previamente formados para o mesoderma pré-somítico. O gradiente de ácido retinoico antagoniza a sinalização de Fgf8 no mesoderma pré-somítico mais cranial e ativa os genes somíticos, como os genes Mesp (fatores de transcrição bHLH), os primeiros genes somíticos expressos. Quando a expressão dos genes cíclicos atravessa um limiar no mesoderma pré-somítico, é especificada uma região denominada **fronte da onda de determinação ou de maturação**, que é o limite caudal de um novo par de somitos. Isto é seguido por nova expressão gênica – como também por modificações na forma da célula, na posição e na adesão – e todos resultam na formação dos somitos.

O modelo do relógio e onda frontal é sustentado por vários experimentos. Por exemplo, a implantação de bolinhas cobertas com a proteína Fgf8 no mesoderma pré-somítico mais cranial dos embriões de galinha evita a ativação de seu programa de segmentação. Além disso, mutações com perda de função em genes de camundongo que ciclam resultam em anomalias de segmentação, incluindo limites somíticos alterados e malformações na coluna vertebral e nas costelas. Similarmente, mutações nos genes humanos da família de sinalizadores NOTCH resultam em defeitos na segmentação. Mais especificamente, a mutação do gene ligante DELTA-LIKE3, da via NOTCH, resulta em uma condição autossômica recessiva denominada **síndrome da disostose espondilocostal** (síndrome de Jarcho-Levin), uma condição na qual ocorre a segmentação anormal da coluna vertebral e das costelas. Ainda, a **síndrome de Alagille**, que inclui defeitos de segmentação, resulta de mutações no ligante JAGGED1, da via NOTCH ou o receptor do NOTCH, NOTCH2 (a síndrome de Alagille é também mencionada nos Caps. 5, 12 e 14).

Como um interesse à parte, o modelo de relógio e onda frontal tem sido ajustado ao longo da evolução para originar diferentes números de somitos (e, consequentemente, vértebra) em organismos distintos. Por exemplo, os modelos animais tipicamente usados no estudo da biologia do desenvolvimento geram um número relativamente pequeno de pares de somitos (peixe-zebra, 31; galinha, 55; camundongo, 65) assim como do humano (33), mas as cobras podem gerar um excesso de 300 pares de somitos e até 500 pares. Como esse número é controlado? Experimentos revelam que a placa segmentar da cobra se desenvolve mais lentamente durante a somitogênese, em comparação com embriões que fazem menos somitos. Com o maior tempo de duração da placa segmentar, mais células contribuem com os somitos. Adicionalmente, os ciclos (o seu relógio) acontecem cerca de quatro vezes mais rápido, gerando muito mais somitos. O processo que comanda ajustes no tempo do desenvolvimento dos eventos que originam mudanças morfológicas durante a evolução é denominado **heterocronia**. A troca que ocorre no número de somitos durante a evolução das cobras é um exemplo dramático desse processo.

O mesoderma intermediário e o mesoderma da placa lateral formam-se somente no tronco

Além da notocorda e do mesoderma paraxial, presentes tanto na cabeça quanto no tronco, duas outras subdivisões do mesoderma são formadas no tronco: o **mesoderma intermediário** e o **mesoderma da placa lateral** (Figs. 3-14B, 3-15 e 3-16). O mesoderma intermediário fica imediatamente lateral a cada somito, forma uma pequena condensação cilíndrica e também se segmenta. O **mesoderma intermediário** forma o sistema urinário e partes do sistema genital (discutido nos Caps. 15 e 16). Lateral ao mesoderma intermediário, o mesoderma permanece não segmentado e forma uma camada achatada – o **mesoderma da placa lateral**. Iniciando-se no 17º dia, o **mesoderma da placa lateral** divide-se em duas camadas: uma camada ventral associada ao endoderma e uma camada dorsal associada ao ectoderma (Figs. 3-14B e 3-16B,C). A camada adjacente ao endoderma origina a cobertura mesotelial dos órgãos viscerais (vísceras) e, também, parte da parede da víscera; aqui ele é denominado **mesoderma esplâncnico** (do grego *splanchnon*, víscera). A camada adjacente ao ectoderma origina o revestimento interno da parede corporal e partes dos membros; aqui, ele é denominado **mesoderma somático** (do grego *soma*, corpo). O mesoderma esplâncnico e o endoderma adjacente atuam juntos para formar algumas estruturas, por isso eles são coletivamente denominados **esplancnopleura**. De forma similar, o mesoderma somático e o ectoderma adjacente atuam juntos para formar algumas estruturas; eles são coletivamente denominados **somatopleura**.

Na Clínica

A gastrulação anormal leva à displasia caudal

A **displasia caudal**, também denominada **síndrome de regressão caudal**, **agenesia caudal** ou **agenesia sacral**, é caracterizada por graus variáveis de (1) flexão, inversão e rotação lateral das extremidades inferiores; (2) anomalias das vértebras lombares e sacrais; (3) ânus imperfurado; (4) agenesia dos rins e do trato urinário; e (5) agenesia dos órgãos genitais internos, exceto as gônadas. Em casos extremos, a deficiência no desenvolvimento caudal leva à fusão dos brotos dos membros inferiores durante o desenvolvimento inicial, resultando em um aspecto “semelhante a sereia” denominado **sirenomelia** (Fig. 3-1; ver o “Caso Clínico” deste capítulo).

Em alguns indivíduos, as malformações caudais estão associadas às anomalias mais craniais. Uma dessas associações é denominada **associação VATER**, pelo fato de incluir algumas ou todas as anomalias a seguir: defeitos vertebrais, atresia anal, fístula traqueoesofágica (discutida no Cap. 11), defeitos renais e anomalias radiais do antebraço. Uma extensão dessa associação, a **associação VACTERL**, inclui também anomalias cardiovasculares com defeitos renais e nos membros. Um grande número de outras síndromes pode estar relacionado com essas associações.

Embora as anomalias encontradas nessas associações sejam diversas, acredita-se que todas elas sejam originadas de defeitos que resultam do crescimento e migrações anormais durante a gastrulação. As estruturas mesodérmicas formadas durante a 3ª e a 4ª semana participam do desenvolvimento da maioria das estruturas envolvidas na displasia caudal e nas malformações associadas. Por exemplo, as vértebras sacrais e coccígeas são formadas por estruturas denominadas **esclerótomas**, que se desenvolvem a partir dos somitos sacrais e caudais (discutido nos Caps. 4 e 8). O mesoderma intermediário diferencia-se em rim como resposta à indução pelo crescimento para dentro do mesoderma dos brotos uretéricos (discutido no Cap. 15). O ânus imperfurado pode resultar da migração errada do mesoderma caudal na região de formação da membrana anal (discutido no Cap. 14), enquanto as fístulas traqueoesofágicas podem ser causadas por defeitos de interações entre o endoderma do rudimento do intestino anterior e o mesoderma (discutido no Cap. 11). As malformações radiais do antebraço são aparentemente resultado da migração e da diferenciação anormal do mesoderma da placa lateral (discutida no Cap. 20).

Em modelos animais, a displasia caudal pode ser induzida tanto por fatores ambientais quanto por mutações. Por exemplo, a insulina, quando injetada no ovo da galinha durante a gastrulação, provoca displasia caudal, atuando como um **teratógeno** – uma substância que causa malformação no embrião ou no feto (a **teratogênese** e teratógenos serão discutidos posteriormente nos Caps. 5 e 6). Defeitos similares são também observados em camundongos com mutações no gene brachyura, um fator de transcrição que contém T-box, expresso em toda a linha primitiva durante a gastrulação (Fig. 3-19). A análise de tais camundongos indica que a mutação interfere com a gastrulação. Ela evita a entrada de células do epiblasto na linha primitiva, fornecendo, assim, a compreensão de como as anomalias do espalhamento do mesoderma poderiam resultar em humanos com displasia caudal. Em humanos, a displasia caudal é uma manifestação comum do **diabetes materno (gestacional)** com elevados níveis de INSULINA (discutida no Cap. 6).



FIGURA 3-19 Hibridização *in situ* mostrando a localização do RNAm do Brachyury em galinha, um fator de transcrição contendo *T-box*, que é expresso por toda a linha primitiva.

Formação da placa neural

O primeiro evento no desenvolvimento do futuro sistema nervoso central é a formação, no 18º dia, de uma espessa **placa neural** no ectoderma, localizada cranialmente ao **nó primitivo** (Figs. 3-20, 3-21 e 3-22). A formação da placa neural é induzida pelo nó primitivo, o equivalente humano do **organizador**, discutido anteriormente neste capítulo. Assim, o processo de formação da placa neural é denominado **indução neural**. Como resultado da indução neural, as células ectodérmicas diferenciam-se em uma espessa placa de **células neuroepiteliais** do tipo pseudoestratificada, cilíndricas (**neuroectoderma**). A placa neural forma-se primeiro na extremidade cefálica do embrião e então diferencia-se na direção craniocaudal. Como descrito no Capítulo 4, a placa neural sofre um dobramento durante a 4ª semana para formar o tubo neural, o precursor do sistema nervoso central. As bordas laterais da placa neural também dão origem a uma importante população de células, as **células da crista neural**, que se destacam durante a formação do tubo neural e migram para dentro do embrião para formar uma variedade de estruturas. A placa neural é mais larga cranialmente e mais afilada caudalmente. A porção cranial expandida dá origem ao **cérebro**. Mesmo nesse estágio muito inicial de diferenciação, o futuro cérebro é visivelmente dividido em três regiões: **prosencéfalo**, **mesencéfalo** e **rombencéfalo** (Figs. 3-20 e 3-21). A porção caudal mais estreitada da placa neural (contínua cranialmente com o rombencéfalo) forma a **medula espinal**. Ao fim, esta seção do sistema nervoso em desenvolvimento será ladeada pelos

somitos. A notocorda localiza-se na linha média, bem abaixo da placa neural. Ela se estende cranialmente a partir do nó primitivo até próximo à futura junção entre o prosencéfalo e o mesencéfalo.

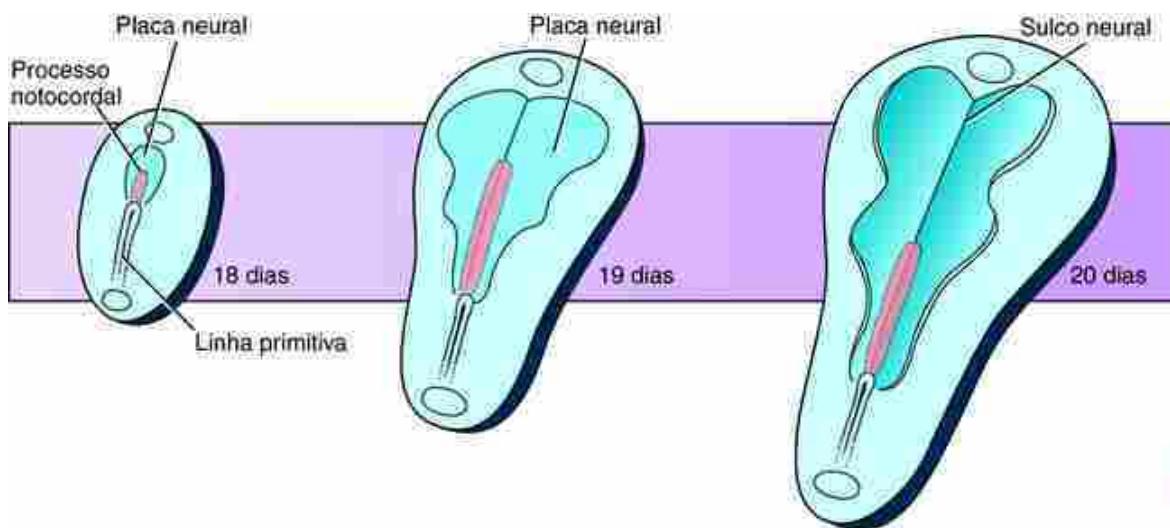


FIGURA 3-20 Sequência esquemática mostrando o crescimento da placa neural e a regressão da linha primitiva entre o 18º e o 19º dia. A linha primitiva encurta-se levemente, mas ocupa uma proporção progressivamente menor do comprimento do disco embrionário à medida que crescem a placa neural e o disco embrionário.



FIGURA 3-21 Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de macaco comparável ao embrião humano no 20º dia do desenvolvimento. A placa neural está claramente visível e as expansões que se tornarão as principais subdivisões do cérebro estão aparentes (setas). Só permanece uma pequena região da linha primitiva. A linha primitiva desaparecerá no 25º dia.

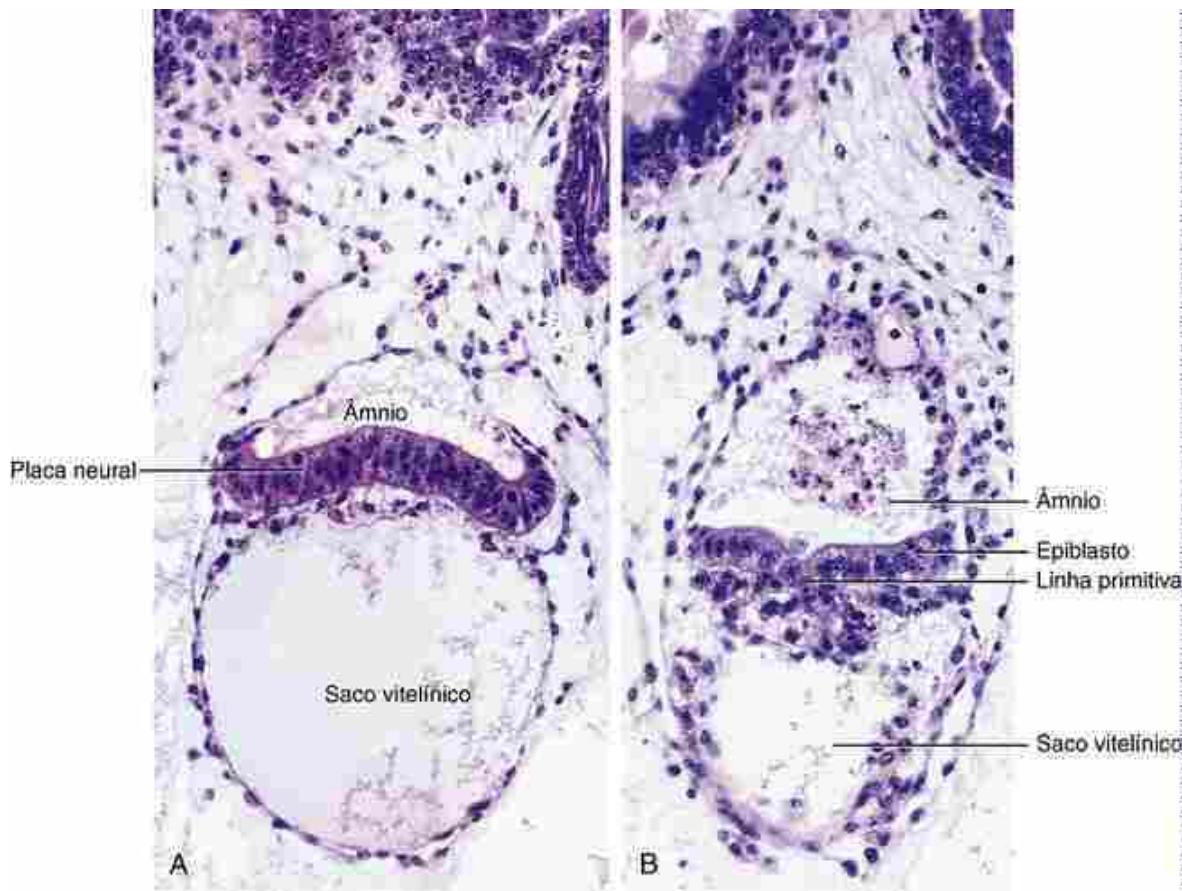


FIGURA 3-22 Cortes transversais de embriões humanos. *A*, Nível da placa neural. Observe a cavidade do saco vitelínico e a cavidade amniótica. *B*, Nível da linha primitiva. Observe que o epiblasto não está tão espesso quanto a placa neural.

No Laboratório de Pesquisa

Indução neural

Como na padronização dorsoventral do mesoderma, a indução da placa neural também envolve a secreção de antagonistas pelo **organizador** para inibir sinalizações. Recorde que o **centro de Nieuwkoop**诱导 o organizador, o qual padroniza o mesoderma no plano dorsoventral. Além disso, o organizador induz a **placa neural**. Embora a localização do **centro de Nieuwkoop** esteja bem estabelecida em anfíbios, sua localização em pássaros e em mamíferos permanece incerta. Entretanto, experimentos de perda de função de genes em camundongo sugerem que moléculas semelhantes induzem o organizador tanto nos vertebrados inferiores quanto nos superiores. Isso inclui membros das famílias Tgf β (p. ex., nodal) e Wnt.

O **organizador** tem a surpreendente capacidade de induzir secundariamente todos os eixos embrionários se for enxertado em um local ectópico de outro embrião (Fig. 3-23A). Esse fenômeno foi descoberto em 1920 por Hilde Mangold e Hans Spemann, que trabalharam com embriões de anfíbios. Mais de uma dúzia de moléculas são secretadas pelo organizador, e muitas delas, especialmente o Chordin (discutido anteriormente neste capítulo), têm a capacidade de induzir eixos secundários quando expressas ectopicamente. Além dos fatores secretados, o organizador expressa cerca de 10 fatores de transcrição. A expressão ectópica de alguns desses, como o goosecoid, também induz eixos secundários (Fig. 3-23B).



FIGURA 3-23 Experimentos sobre o papel do organizador. *A*, O blastóporo do embrião doador (*i.e.*, o organizador) enxertado em um embrião de rã hospedeiro induz a formação completa do eixo corporal secundário, resultando na formação de gêmeos conjugados. *B*, Um embrião de rã foi irradiado com luz ultravioleta para abolir a atividade do “organizador” e, então, dois blastômeros foram injetados com RNAm de goosecoid, resultando na indução de dois eixos embrionários.

O organizador induz a placa neural porque antagoniza a sinalização via Bmp. Na presença da sinalização Bmp, o ectoderma forma o **ectoderma cutâneo**, mas quando a sinalização Bmp é inibida, o ectoderma forma o **neuroectoderma**, agora na fase de **placa neural**. A sinalização Bmp é antagonizada pela secreção de antagonistas do Bmp (discutido anteriormente nesse capítulo), como o Noggin, o Chordin, o nodal, a folistatina e o Cerberus, que se ligam, todos, no Bmp, no espaço extracelular, e evitam a ligação do Bmp nos seus receptores.

Além de antagonizar a via de sinalização Bmp, o organizador induz a placa neural secretando outros fatores de crescimento, como o Fgf8 e membros da família Igf (fator de crescimento semelhante à insulina). É interessante perceber que as vias de sinalização do Fgf, Igf e Bmp convergem para um ponto durante a indução neural: a fosforilação do Smad1. As sinalizações tanto de Fgf/Igf quanto de Bmp resultam na fosforilação do Smad1, embora em locais diferentes. A fosforilação pela sinalização Fgf/Igf causa inibição da atividade do Smad1, enquanto a fosforilação pela sinalização do Bmp provoca estimulação da atividade do Smad1. Consequentemente, o efeito combinado da sinalização Fgf/Igf (inibição da atividade Smad1) e o antagonismo da sinalização Bmp (não estimulação da atividade do Smad1) resultam no baixo nível de atividade Smad1 e indução neural.

Organizadores da cabeça, tronco e cauda

Uma vez formada a linha primitiva, ela dará origem ao endoderma e ao mesoderma de três regiões distintas do corpo: cabeça, tronco e cauda. A indução neural resulta na formação da placa neural, e, como discutido no [Capítulo 4](#), a neurulação subsequente converte a placa neural em tubo neural. Este último é rapidamente regionalizado ao longo do eixo craniocaudal em prosencéfalo, mesencéfalo, rombencéfalo e medula espinal. De forma similar, o mesoderma é regionalizado ao longo do eixo craniocaudal (p. ex., mesoderma paraxial não segmentado da cabeça *versus* mesoderma paraxial segmentado do tronco). Como essa regionalização ocorre?

Nosso entendimento do padrão craniocaudal vem de uma série de experimentos em quatro modelos de vertebrados: *Xenopus* (anfíbio), peixe-zebra, galinha e camundongo. Assim, o padrão cefalocaudal do embrião é tipicamente denominado padrão anteroposterior porque o eixo craniocaudal dos embriões humanos é equivalente ao eixo anteroposterior dos modelos de embriões de vertebrados (discutido na Introdução). Em alguns modelos de embriões de vertebrados, existem **centros de organização** separados nos diferentes níveis do eixo cefalocaudal. Por exemplo, no camundongo, a cabeça é padronizada pelo **organizador da cabeça**, também conhecido como **endoderma visceral anterior (AVE)**, uma região especializada do endoderma extraembriônário (discutido anteriormente neste capítulo), enquanto o **nó** funciona como um **organizador do tronco**. No peixe-zebra, foi identificado um **organizador da cauda** separado, denominado **margem ventral**. Em outros modelos de vertebrados, esses organizadores parecem estar combinados, ao menos parcialmente, no organizador clássico. Por exemplo, na galinha, a extremidade cranial da linha primitiva contém inicialmente células que padronizam a cabeça e depois contém células que padronizam o tronco e a cauda. Assim, o organizador da galinha é uma estrutura dinâmica, na qual populações celulares nele contidas modificam-se com o tempo. Como resultado dessas modificações ocorrem mudanças nas moléculas secretadas pelo organizador, que atuam padronizando a placa neural suprajacente ao longo do eixo craniocaudal.

Independentemente de onde os sinais se originem durante a padronização craniocaudal, a comparação dos resultados dos experimentos de ganho e de perda de função em todos os quatro modelos de vertebrados (discutidos anteriormente) revela que os mecanismos de padronização da cabeça, tronco e cauda são altamente conservados entre as espécies. A formação de todos os três níveis do corpo envolve um tema comum: **sinalização combinatória**, na qual a quantidade das três moléculas sinalizadoras expressas varia em diferentes níveis. As

moléculas sinalizadoras são Wnts, Bmps e nodal.

A formação da **cabeça** requer a inibição da sinalização do Wnt e do Bmp. Assim, o organizador da cabeça, seja como um centro de sinalização separado ou como parte do próprio organizador, dependendo do organismo, secreta antagonistas da sinalização Wnt e Bmp. A perda de função desses inibidores resulta na perda de estruturas da cabeça. Por exemplo, a perda de função do Dickkopf1 de camundongos, inibidor da sinalização Wnt, que é expresso pelo AVE, resulta na perda da maior parte cefálica da cabeça (Fig. 3-24A). Além dos fatores secretados pelo AVE, são também necessários fatores de transcrição para o desenvolvimento da cabeça. Um desses é o gene com homeobox Lim-1 (Fig. 3-24B). Experimentos semelhantes sugerem que a sinalização nodal desempenha um pequeno ou, talvez, nenhum papel na padronização da cabeça.



FIGURA 3-24 Camundongos sem cabeça. *A*, A perda da função do *Dickkopf1* em camundongos, um antagonista da sinalização *Wnt* que é secretado, causa perda da maior parte da extremidade cranial da cabeça (mostrado à direita; à esquerda é mostrado o camundongo controle selvagem). *B*, De forma similar, a perda de função do gene com homeobox *Lim-1* resulta em uma perda mais dramática (mostrado à direita; à esquerda está o camundongo controle selvagem).

A formação do tronco, ao contrário da formação da cabeça, requer ambas as sinalizações, *Wnt* e *nodal*, como também a inibição da sinalização *Bmp*. De modo similar, a formação da cauda requer ambas as sinalizações, *Wnt* e *nodal*, mas, em contraste com a do tronco, a formação da cauda também requer sinalização *Bmp*.

Desenvolvimento primário do corpo versus desenvolvimento secundário

No 16º dia, a linha primitiva estende-se em cerca da metade do comprimento do embrião. Entretanto, enquanto a gastrulação acontece, a linha primitiva regrediu caudalmente, tornando-se gradativamente menor. Por volta do 22º dia, a linha primitiva representa cerca de 10% a 20% do comprimento do embrião, e, pelo 26º dia, ela parece desaparecer. Entretanto, por volta do dia 20, remanescentes da linha primitiva expandem-se e formam uma massa de mesoderma na linha média caudal denominada **broto da cauda** ou **eminência caudal**, a qual origina a maioria das estruturas caudais do corpo. A formação do broto da cauda fornece um reservatório de células que permite a extensão caudal do embrião durante a formação da cauda rudimentar e temporária. Mais especificamente, o broto da cauda contribui com células para a extremidade caudal do **tubo neural** e da **crista neural** (sacral e coccígea), como também para os **somitos** caudais. Contrariamente, a **notocorda** da cauda estende-se para essa região a partir de níveis mais craniais e menos a partir do broto da cauda. A notocorda pode ter um papel na organização e na padronização dos rudimentos dos órgãos caudais.

A gastrulação ocorre durante um período de desenvolvimento denominado **desenvolvimento primário do corpo**. Durante o desenvolvimento primário do corpo, a linha primitiva origina as três camadas germinativas, as quais subsequentemente formam os rudimentos dos órgãos. A formação da cauda rudimentar ocorre após o fim da gastrulação, durante um período de desenvolvimento denominado **desenvolvimento secundário do corpo**. Contrariamente ao desenvolvimento primário do corpo, o desenvolvimento secundário envolve a formação direta dos rudimentos dos órgãos a partir do broto da cauda, sem a formação prévia das camadas germinativas.

Embriologia na Prática

Filhotes de ovelhas e hedgehogs

A interseção de duas histórias científicas que começaram nos anos 1960 e 1970 está hoje produzindo uma promissora droga antitumor.

A primeira história começou em Idaho no final dos anos 1950, quando muitos carneiros nasceram com um único olho no meio da testa (um defeito denominado **ciclopia** devido aos ciclopes da mitologia grega). Segundo os carneiros dia e noite, pesquisadores identificaram o culpado: a planta *Veratum californicum*, também conhecida como lírio de milho, que causa ciclopia quando é comida pelas ovelhas grávidas. Após 11 anos de um estudo meticuloso, foi purificado o composto especificamente responsável, denominado "ciclopamina", mas o processo exato de como a ciclopamina causava a ciclopia permaneceu desconhecido por muitos anos.

A outra história tem origem nos anos 1970, com a descrição de um mutante de *Drosophila* que era coberto com projeções pontudas de dentes. Consequentemente, o mutante foi denominado mutante "*hedgehog*", e o gene mutante é o *hedgehog*. O gene *hedgehog*, como discutido no [Capítulo 5](#), é uma molécula de sinalização secretada. Estudos extensos sobre a via de sinalização do *hedgehog* levaram à descoberta de que as mutações em um dos ortólogos de mamíferos, denominado **sonic hedgehog** (*Shh*), resultou em **holoprosencefalia** e **ciclopia** em humanos (também discutido nos [Caps. 5, 17 e 19](#)). Essa importante descoberta ajudou a formar uma ligação entre a ciclopamina e a via do *Shh*.

A ciclopamina inibe a função da proteína **smoothed**, um ativador da via do *Shh*, que normalmente atua na divisão celular. Durante o desenvolvimento embrionário, a inibição da via do *Shh* com ciclopamina torna lenta a divisão celular nas estruturas da linha média, resultando em cérebros menores com estruturas anteriores fusionadas (holoprosencefalia) e espaço entre os olhos reduzido (hipotelorismo) ou mesmo ciclopia em casos graves. Como discutido neste capítulo, o *Shh* é expresso pela notocorda, pelo chão da placa do tubo neural e pela placa precordal – estruturas que interagem com o ectoderma para estabilizar a linha média.

Pesquisadores atuais têm aprendido a usar esse veneno da planta como um tratamento para inúmeros casos de cânceres humanos, causados pela superproliferação celular mediada pela via do *Shh*. A ciclopamina está sendo investigada como uma droga quimioterapêutica para meduloblastoma, carcinoma de célula basal, rabdomiossarcoma e cânceres de mama e próstata. Drogas como a ciclopamina, que atuam especificamente nos caminhos de sinalização nos tumores, prometem melhores tratamentos para os cânceres, com poucos efeitos colaterais, quando comparados aos diversos efeitos citotóxicos da quimioterapia tradicional.

Leituras sugeridas

- Bettencourt-Dias, M., Hildebrandt, F., Pellman, D., et al. Centrosomes and cilia in human disease. *Trends Genet.* 2011; 27:307–315.
De Robertis, E. M. Spemann's organizer and the self-regulation of embryonic fields. *Mech Dev.* 2009; 126:925–941.
Dequeant, M. L., Pourquie, O. Segmental patterning of the vertebrate embryonic axis. *Nat Rev Genet.* 2008; 9:370–382.
Fliegauf, M., Benzing, T., Omran, H. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8:880–893.

- Gibb, S., Maroto, M., Dale, J. K. The segmentation clock mechanism moves up a notch. *Trends Cell Biol.* 2010; 20:593–600.
- Goetz, S. C., Anderson, K. V. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet.* 2010; 11:331–344.
- Gomez, C., Ozbudak, E. M., Wunderlich, J., et al. Control of segment number in vertebrate embryos. *Nature.* 2008; 454:335–339.
- Hildebrandt, F., Benzing, T., Katsanis, N. Ciliopathies. *N Engl J Med.* 2011; 364:1533–1543.
- Hirokawa, N., Tanaka, Y., Okada, Y. Cilia, KIF3 molecular motor and nodal flow. *Current opinion in cell biology.* 2012; 24:31–39.
- Revenu, C., Gilmour, D. EMT 2.0: shaping epithelia through collective migration. *Curr Opin Genet Dev.* 2009; 19:338–342.
- Rogers, C. D., Moody, S. A., Casey, E. S. Neural induction and factors that stabilize a neural fate. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2009; 87:249–262.
- Rossant, J., Tam, P. P. Blastocyst lineage formation, early embryonic asymmetries and axis patterning in the mouse. *Development.* 2009; 136:701–713.
- Shiratori, H., Hamada, H. The left-right axis in the mouse: from origin to morphology. *Development.* 2006; 133:2095–2104.
- Skoglund, P., Keller, R. Integration of planar cell polarity and ECM signaling in elongation of the vertebrate body plan. *Curr Opin Cell Biol.* 2010; 22:589–596.
- Vonk, F. J., Richardson, M. K. Developmental biology: Serpens clocks tick faster. *Nature.* 2008; 454:282–283.

CAPÍTULO 4

Quarta Semana: Formando o Embrião

Resumo

Durante a 4^a semana, as camadas de tecido estabelecidas na 3^a semana diferenciam-se para formar o primórdio da maioria dos grandes sistemas de órgãos do corpo. Ao mesmo tempo, o disco embrionário sofre um processo de dobramento que cria a forma básica do corpo dos vertebrados, denominada **plano corporal de tubo dentro de um tubo**. A principal força responsável pelo dobramento embrionário é o crescimento diferencial das diversas regiões do embrião. O disco embrionário cresce vigorosamente durante a 4^a semana, especialmente no comprimento, enquanto o crescimento do saco vitelínico fica estagnado. Considerando que a borda externa do endoderma embrionário é anexada ao saco vitelínico, a expansão do disco gera uma protuberância de forma convexa. O dobramento começa no crânio e nas regiões laterais do embrião no 22º dia, e na região caudal no 23º dia. Como resultado da dobra, as bordas cranial, lateral e caudal do disco embrionário são levadas juntas ao longo da linha mediana ventral. As camadas endodérmicas, mesodérmicas e ectodérmicas do disco embrionário fundem-se com a camada correspondente no lado oposto, criando-se assim um **corpo tridimensional em forma tubular**. O processo de fusão na linha média transforma o endoderma embrionário plano no **tubo intestinal**. Inicialmente, o intestino consiste em um tubo cego nas extremidades cranial e caudal – **intestino anterior** e **intestino posterior**, respectivamente, separados por um futuro **intestino médio**, que permanece aberto para o saco vitelínico. Como as bordas laterais das diversas camadas do disco embrionário continuam a se unir ao longo da linha média ventral, o intestino médio é progressivamente convertido em um tubo e, correspondentemente, o **saco vitelínico** fica reduzido a um **ducto vitelínico** delgado. Quando as bordas do ectoderma fundem-se ao longo da linha ventral, o espaço formado no interior do mesoderma da placa lateral é fechado no embrião e se torna o **celoma intraembrionário**. O mesoderma da placa lateral origina as **membranas serosas** que revestem o celoma – o **mesoderma somático** cobre a superfície interna da parede do corpo e o **mesoderma esplâncnico** reveste o tubo digestivo.

A **neurulação** converte a placa neural em um **tubo neural** oco recoberto pelo **ectoderma cutâneo**. O tubo neural, em seguida, começa a se diferenciar em **cérebro** e **medula espinhal**. Antes mesmo do fim da 4^a semana, grandes regiões do cérebro – **proencéfalo**, **mesencéfalo** e **robencéfalo** – tornam-se evidentes e neurônios e glia começam a se diferenciar no neuroepitélio do tubo neural. Com o decorrer da neurulação, **células da crista neural** separam-se das bordas laterais das dobras neurais e migram para vários locais do organismo, onde se diferenciam para formar uma grande variedade de estruturas e tipos celulares.

Os **somitos** continuam surgindo no mesoderma paraxial até o 30º dia, em progressão craniocaudal. Enquanto isso, a partir do início da região cervical, os somitos subdividem-se em dois tipos de primórdios mesodérmicos: **dermomiótomo** e **esclerótomas**. Os dermomiótomas contribuem com a derme do pescoço e do tronco, e também com os **miótomas**, que formam a musculatura segmentada das costas e da parede ventrolateral do corpo. Além disso, os miótomas dão origem a células que migram para os brotos dos membros e formam a **musculatura do membro**. Os esclerótomas dão origem aos corpos vertebrais e aos arcos vertebrais e contribuem para a base do crânio.

Caso Clínico

Um estudante universitário de 20 anos, no segundo ano de estudos, fica surpreso ao saber que sua namorada de 19 anos está grávida. Eles tiveram relações sexuais por apenas 3 meses e tinham planejado as relações性uals utilizando o **método ritmo de controle de natalidade**, pelo menos na maior parte do tempo. Em sua primeira visita ao serviço de saúde para estudantes, eles são informados de que a gravidez está agora na 8^a semana e tudo parece normal. Eles decidem esperar 2 meses até as férias de primavera, quando terão a companhia de seus familiares, que vivem em cidades vizinhas, e irão informá-los sobre a gravidez.

Embora os familiares de ambos estejam chocados com a notícia, são solidários e providenciam imediatamente uma consulta com um obstetra. O exame de ultrassom revela que o feto está crescendo normalmente. No entanto, uma massa de intestino delgado é detectada projetando-se da parede ventral do corpo (anterior) para dentro da

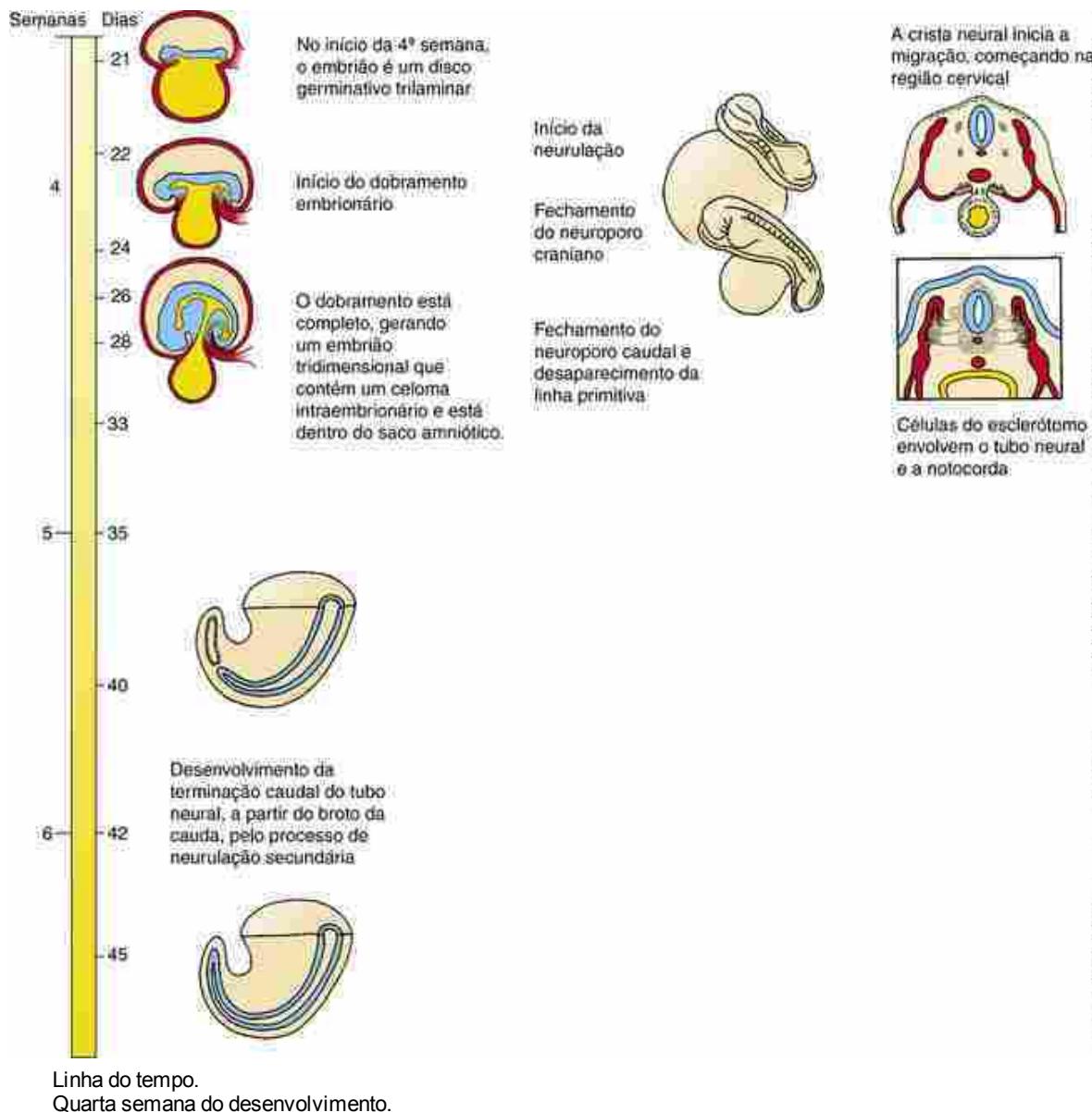
cavidade amniótica. O diagnóstico de **gastrosquise** é feito (Fig. 4-1A). Em uma visita de acompanhamento, a jovem mãe está muito ansiosa. Ela está preocupada porque pensa que talvez tenha feito algo que possa ter provocado a gastrosquise no bebê. O médico assegura-lhe que este não é o caso e que, por vezes, eventos do desenvolvimento apenas dão errado, resultando em defeitos de nascença.



FIGURA 4-1 Gastrosquise. A, Ultrassonografia mostrando o defeito na 16^a semana do feto. B, Recém-nascido. O intestino herniou através de uma abertura na parede do corpo, no lado direito do cordão umbilical (o cordão umbilical está grampeado bem proximal ao seu nível de transecção), e não está contido em um saco membranoso.

O casal decide voltar para a faculdade para terminar o semestre e, em seguida, voltar para casa, onde eles podem receber cuidados pré-natais mais intensos. A partir do início da 30^a semana de gestação, ultrassonografias semanais

são agendadas para examinar a espessura da parede do intestino. Com base na evidência de que a parede está começando a engrossar e, consequentemente, começando a ficar danificada pela exposição ao líquido amniótico, o parto é induzido na 35^a semana. No momento do parto, é percebida uma abertura de 3 cm na parede abdominal no lado direito do umbigo do bebê, junto com várias voltas do intestino protraído (Fig. 4-1B). O bebê recém-nascido é levado imediatamente para a cirurgia, que realoca o intestino na cavidade abdominal e repara o defeito na parede do corpo. Embora este seja um defeito de nascença relativamente comum, a causa da gastosquise permanece desconhecida.



O plano corporal em tubo dentro de tubo surge através do dobramento do corpo

No final da 3^a semana, o embrião é um disco trilaminar plano e oval. Durante a 4^a semana, ele cresce rapidamente, sobretudo no comprimento, e começa um processo de dobramento que produz a forma corporal típica dos vertebrados (Figs. 4-2 e 4-3). Apesar de ocorrer alguma remodelação ativa nas camadas de tecido, incluindo mudanças locais na forma das células dentro das **dobras do corpo**, a força principal responsável pelo dobramento embrionário é o crescimento diferencial de vários tecidos. Durante a 4^a semana, o disco embrionário e o âmnio crescem vigorosamente, mas o saco vitelínico praticamente não cresce. Considerando que o saco vitelínico é contínuo com a borda ventral do disco embrionário, a expansão do disco dobra-se em forma tridimensional cilíndrica. A notocorda, o tubo neural, e os

somitos em desenvolvimento enrijecem o eixo dorsal do embrião; portanto, a maioria dos dobramentos é concentrada na borda externa fina e flexível do disco. As bordas craniana, caudal e laterais do disco dobram-se completamente sob as estruturas axiais dorsais e dão origem à superfície ventral do corpo. As áreas de dobramento são referidas como **cranial (cabeça), caudal (cauda) e dobras laterais do corpo**, respectivamente. As dobras cranial e caudal são mais bem visualizadas no corte medial sagital (Fig. 4-2A-C; setas em B), e as dobras laterais pareadas do corpo são mais bem visualizadas em cortes transversais (Fig. 4-2D,E; setas em D). Embora essas dobras tenham nomes diferentes, é importante perceber que elas tornam-se contínuas umas com as outras, na posição do futuro umbigo, como um anel de tecido.

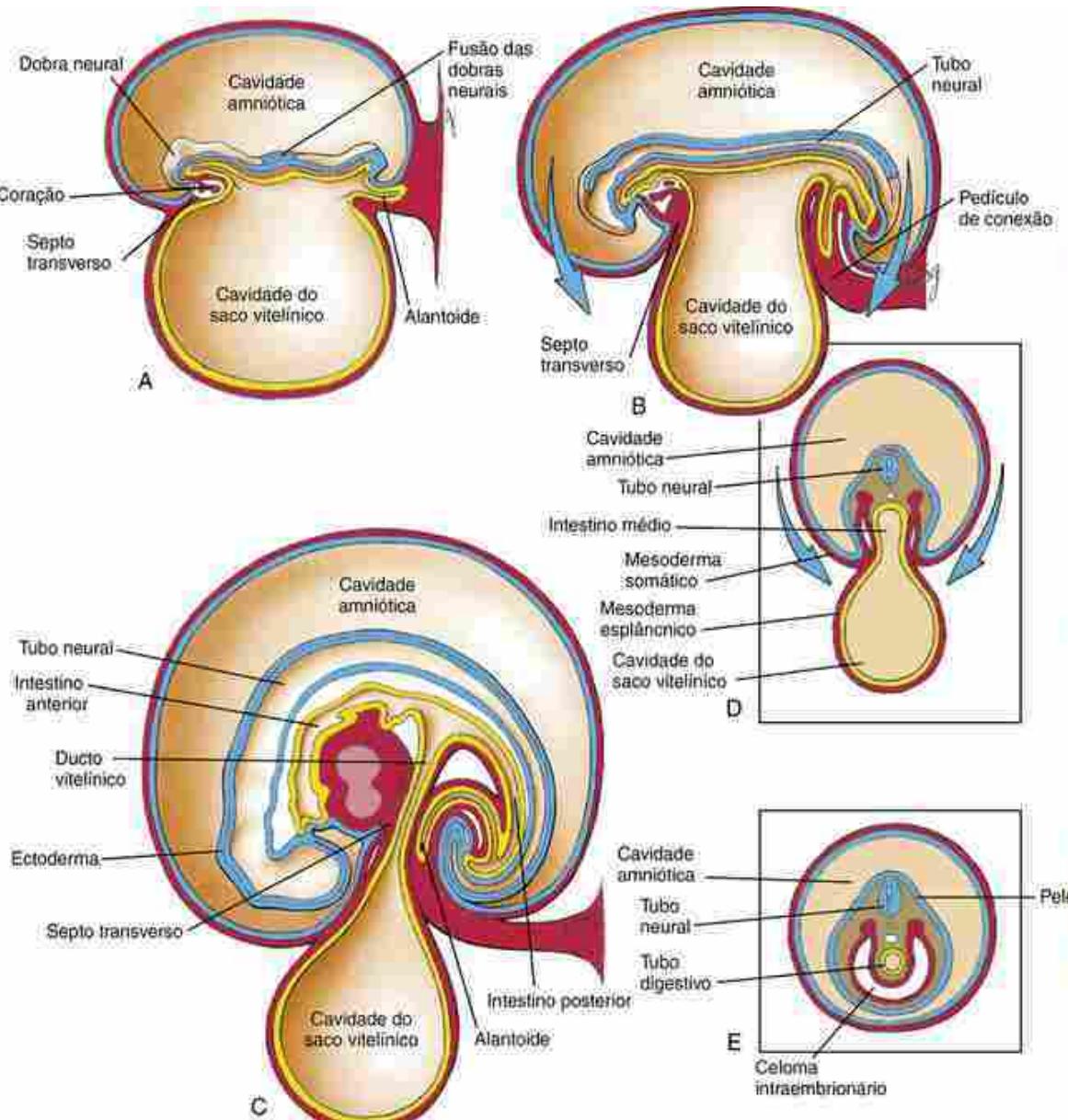


FIGURA 4-2 O processo de dobra lateral e craniocaudal, que transforma o disco embrionário plano em um corpo tridimensional na forma de tubo dentro de tubo. Conforme o embrião se dobra, ele cresce mais rapidamente do que o saco vitelínico, que é a cavidade que permanece contínua com o tubo digestivo em desenvolvimento, através do ducto vitelínico que se estreita progressivamente. A-E, O septo transverso forma-se cranialmente à área cardiogênica do disco embrionário (A), e tanto ele quanto a área cardiogênica são translados para a futura região torácica através do dobramento da extremidade cranial do embrião (B, C). O alantoide e o pediculo de conexão, juntamente com o saco vitelínico e o ducto vitelínico, causam o dobramento da extremidade caudal do embrião. As fusões do ectoderma, do mesoderma, da futura cavidade celômica e do endoderma dos lados opostos são impedidas nas imediações do ducto vitelínico (D), mas não nas regiões mais craniais e caudais (E). O ectoderma externo (pele) e o tubo de endoderma interno (intestino), dando forma ao plano corporal de tubo dentro de tubo, são posicionados pelo dobramento do corpo (E).

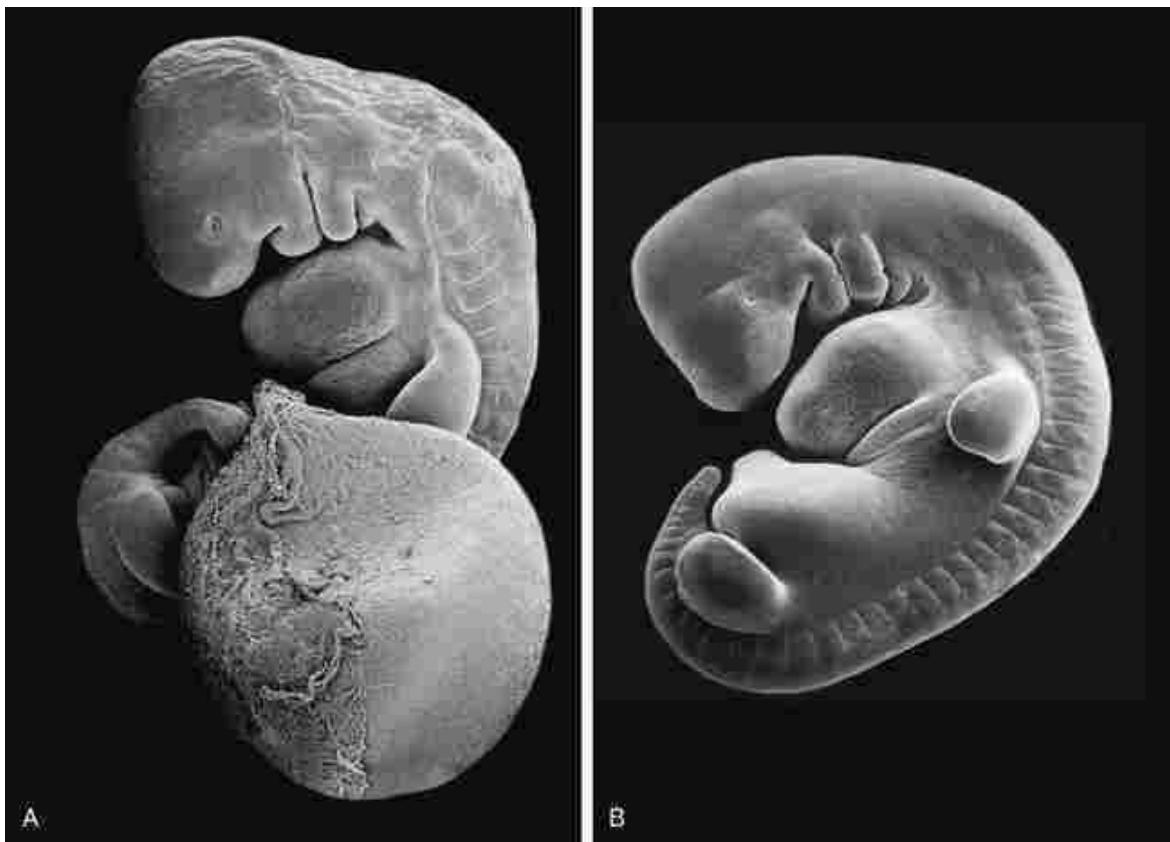


FIGURA 4-3 Microscopia eletrônica de varredura de embriões humanos. A, A forma deste embrião é característica da 4^a semana de um embrião humano, logo após a dobra do corpo. Note o relativamente grande saco vitelínico. B, O saco vitelínico foi removido deste embrião de 5 semanas.

Conforme descrito no [Capítulo 3](#), o arco craniano do disco embrionário – a fina área localizada cranialmente à placa neural – contém a membrana orofaríngea, que representa a futura boca do embrião. Cranialmente à membrana orofaríngea, uma segunda estrutura importante começou a aparecer: a **área cardiógenica** em forma de fenda, que vai dar origem ao coração (abordados no [Cap. 12](#)). Mais cranial à área cardiógenica forma-se uma terceira estrutura importante: o **septum transversum** (ou **septo transverso**). Esta estrutura aparece no 22º dia como uma barra espessa do mesoderma. Ele fica logo caudalmente à extremidade cranial do disco embrionário. O septo transverso forma a separação do celoma nas cavidades torácica e abdominal e origina uma parte do diafragma e do mesentério abdominal do estômago e duodeno (descritas nos [Caps. 11 e 14](#)).

O crescimento subsequente da placa neural faz com que o fino aro craniano do disco curve-se no sentido ventral para formar a superfície ventral da futura face, pescoço e tórax. Este processo transloca a membrana orofaríngea para a região da futura boca e leva a área cardiógenica e o septo transverso para o futuro tórax ([Fig. 4-2A-C](#)).

A partir do 23º dia, um processo semelhante de dobramento começa na região caudal do embrião, com um rápido alongamento do tubo neural e somitos ultrapassando o arco caudal do saco vitelínico. Devido à relativa rigidez das estruturas axiais dorsais, o fino arco caudal do disco embrionário, que contém a membrana cloacal, dobra-se para baixo e torna-se parte da superfície ventral do embrião ([Fig. 4-2A-C](#)). Quando o arco caudal do disco dobra-se sob o corpo, o pedúnculo de conexão (que liga a extremidade caudal do disco embrionário na placenta em desenvolvimento) é deslocado cranialmente até se juntar ao pescoço do saco vitelínico, que começou a se esticar e comprimir ([Figs. 4-2 e 4-3](#)). A raiz do **pedúnculo de conexão** contém uma delgada bifurcação endodérmica no intestino posterior denominada **alantoide** ([Fig. 4-2A-C](#)). O destino do alantoide é abordado no [Capítulo 15](#).

Simultaneamente ao dobramento craniocaudal, os lados direito e esquerdo do disco embrionário flexionam-se ventralmente de forma acentuada, comprimindo e estreitando a abertura do saco vitelínico ([Fig. 4-2D](#)). Na terminação da cabeça e da cauda do embrião, as bordas laterais do disco embrionário tocam umas nas outras e, em seguida, fecham-se em direção ao local do futuro **umbigo**. Quando as bordas se encontram, as camadas de ectoderma, mesoderma e endoderma de cada lado fundem-se com as camadas correspondentes no outro lado ([Fig. 4-2D,E](#)). Como resultado, o ectoderma do disco embrionário original cobre toda a superfície tridimensional do embrião, exceto na futura **região umbilical**, de onde surgem o saco vitelínico e o pedúnculo de conexão. O ectoderma, juntamente com as contribuições dos dermomiótomas, mesoderma da placa lateral e células da crista neural, acabarão por formar a pele ([Cap. 7](#)).

O endoderma do disco embrionário trilaminar é destinado a originar o revestimento do trato gastrointestinal. Quando as bordas laterais, cranial e caudal do embrião encontram-se e se fundem, as porções cranial e caudal do endoderma são convertidas em tubos sem saída – os futuros **intestino anterior** e **intestino posterior**. Em uma primeira fase, o **intestino médio** na região central está amplamente aberto para o saco vitelínico ([Fig. 4-2A-D](#)). No entanto, com a formação do tubo digestivo, o pescoço do saco vitelínico é gradualmente apertado, o que reduz sua comunicação com o intestino médio. No final da 6^a semana, o tubo digestivo está totalmente formado e o pescoço do saco vitelínico foi reduzido a um pedúnculo fino denominado **ducto vitelínico** ([Fig. 4-2C](#)). A extremidade cranial do intestino anterior é tampada pela membrana orofaríngea, que se rompe no final da 4^a semana para formar a boca. A extremidade caudal do intestino posterior é tampada pela membrana cloacal, que se rompe durante a 7^a semana para formar os orifícios do ânus e o sistema urogenital (descritos nos [Caps. 14 a 16](#)).

Conforme descrito no [Capítulo 3](#), o mesoderma da placa lateral divide-se em duas camadas: o **mesoderma somático**, que se associa ao ectoderma, e o **mesoderma esplâncnico**, que se associa ao endoderma. O espaço entre essas camadas é inicialmente aberto para a cavidade coriônica. No entanto, quando as dobras do embrião fundem-se ao longo da linha média ventral, este espaço é aprisionado dentro do embrião e torna-se o **celoma intraembrionário** ([Fig. 4-2E](#)). As **membranas serosas** que revestem esta cavidade são formadas a partir das duas camadas do mesoderma da placa lateral: o interior da parede do corpo é revestido pelo mesoderma somático, e os órgãos viscerais derivados do tubo digestivo são revestidos pelo mesoderma esplâncnico.

Como resultado do dobramento do corpo, é estabelecido o plano corporal de tubo dentro de tubo ([Fig. 4-2E](#)). Este plano consiste em um arranjo no qual o corpo do embrião é composto de dois tubos principais: um tubo externo ectodérmico formando a parte mais externa da pele (epiderme) e um tubo interno endodérmico formando a parte interna do tubo digestivo. O espaço entre os dois tubos é preenchido principalmente com mesoderma, e a parte do mesoderma da placa lateral separa-se para formar a cavidade do corpo ou **celoma**. O tubo neural, derivado do tubo ectodérmico no exterior, torna-se internalizado durante o processo de neurulação (discutido mais adiante).

Na Clínica

Defeitos anteriores da parede do corpo

Falhas na boa formação da parede anterior do corpo (ventral) durante o dobramento do corpo ou no desenvolvimento subsequente resultam em defeitos na parede corporal anterior. Defeitos na parede anterior do corpo podem ocorrer na região abdominal (comum) ou na torácica (raros).

Os defeitos mais comuns das falhas da parede anterior do corpo incluem **onfalocele** e **gastrosquise**, que juntos ocorrem em 1 de cada 2.500 nascidos vivos. Em ambos os defeitos, uma porção do sistema gastrointestinal forma uma hérnia para fora da parede anterior do corpo, na região abdominal. No entanto, a onfalocele ([Fig. 4-4B-D](#)) é coberta por uma membrana, em contraste com a gastrosquise, e o intestino projeta-se através da parede do corpo ([Fig. 4-1B](#)).



FIGURA 4-4 Omphalocele. *A*, Ultrassonografia mostrando o defeito em um feto na 22^a semana. O fluxo de sangue em grandes vasos sanguíneos fetais é mostrado em uma ultrassonografia de Doppler colorida. *B*, Grande omphalocele contendo tanto o fígado quanto o intestino. *C, D*, Omphalocele menor (ampliada em *D*) contendo somente o intestino.

Dois outros defeitos da parede anterior do corpo ocorrem na região abdominal: **síndrome de Prune Belly** (síndrome da barriga de ameixa ou síndrome de Eagle-Barrett) e **extrofia da bexiga** (também conhecida como extrofia da cloaca). Embora a parede anterior do corpo de indivíduos com a síndrome de Prune Belly esteja fechada, o abdome fica distendido pela bexiga obstruída na via de saída, e os músculos abdominais não conseguem se desenvolver. Consequentemente, surgem enrugamentos na parede abdominal anterior (como ameixa seca). Esta síndrome ocorre quase que exclusivamente no sexo masculino e está associada a falha na descida dos testículos, o que sugere uma etiologia complexa. Na extrofia da bexiga, o epitélio da bexiga é exposto na superfície da parte inferior do abdome e a bexiga fica como uma vesícula aberta (remanescente de um defeito do tubo neural aberto). A extrofia da bexiga é discutida no [Capítulo 15](#).

Os defeitos da parede anterior do corpo também podem ocorrer na parede torácica. Por exemplo, o coração pode ser exposto na superfície, o que resulta em **ectopia cordis** (cerca de 5:1.000.000 nascidos vivos). Na extremamente rara **pentalogia de Cantrell**, considerada um defeito na parede corporal anterior, cinco grandes anomalias ocorrem juntas: (1) defeito na linha média da parede abdominal, (2) hérnia diafragmática anterior, (3) fenda no esterno, (4) defeito pericárdico e (5) defeitos intracardíacos, como o defeito do septo ventricular. Assim, este defeito ocorre principalmente na região torácica, mas também envolve a região abdominal.

Um último defeito na parede anterior do corpo, com uma etiologia complexa que envolve múltiplas estruturas, é denominado **complexo da parede do membro-corpo** (LBWC; síndrome dos feixes amnióticos). Pelo menos em alguns casos, o LBWC resulta da ruptura do âmnio e da constrição dos membros por feixes amnióticos fibrosos (daí o seu nome alternativo, embora nem todos os casos da LBWC apresentem feixes amnióticos). Além dos defeitos nos membros (abordados no [Cap. 20](#)) e às vezes defeitos craniofaciais (abordados no [Cap. 17](#)), bem como exencefalias ou encefalocele (discutidas posteriormente neste capítulo), defeitos da parede anterior do corpo, como gastosquise e omphalocele, estão também presentes em LBWC.

Neurulação: estabelecimento do tubo neural, o rudimento do sistema nervoso central

Conforme abordado no [Capítulo 3](#), ao final da 3^a semana, a placa neural apresenta uma ampla porção cranial que dará origem ao cérebro e uma estreita porção caudal que dará origem à medula espinhal (veja o [Cap. 3](#), as [Figs. 3-20](#) e [3-21](#)). No 22º dia (oito pares de somitos), a estreita porção caudal da placa neural – a futura medula espinhal – representa apenas cerca de 25% do comprimento da placa neural. No entanto, com a adição de novos somitos, a região da medula espinhal alonga-se mais rápido do que a placa neural craniana. Lá pelo 23º ou 24º dia (12 e 20 pares de somitos, respectivamente), a futura medula espinhal ocupa cerca de 50% do comprimento da placa neural, e no 26º dia (25 pares de somitos) ela ocupa cerca de 60%. O rápido alongamento da placa neural durante este período é impulsionado pela **extensão convergente** (abordada no [Cap. 3](#)) do **neuroepitélio** e tecidos subjacentes.

A formação do tubo neural ocorre durante o processo de **neurulação** ([Fig. 4-5](#)). A neurulação envolve quatro eventos principais: formação da placa neural, modelagem da placa neural, dobramento da placa neural e fechamento do sulco neural ([Fig. 4-6](#)). A formação da placa neural foi abordada no [Capítulo 3](#), no tópico sobre indução neural. A principal mudança morfogenética que ocorre durante a formação da placa neural é o alongamento apicobasal das células ectodérmicas para formar a espessada monocamada da placa neural ([Fig. 4-6A,B](#)). A modelagem da placa neural envolve o processo de extensão convergente. Durante a modelagem, a placa neural afina transversalmente e alonga-se no plano longitudinal. Considerando que a placa neural é desde o início mais alargada cranialmente do que na parte caudal e que a extensão convergente tem um ritmo maior na placa neural no nível da futura medula espinhal do que no nível do futuro cérebro, a região da placa neural no nível do futuro cérebro permanece muito mais amplo do que no nível da futura medula espinhal.

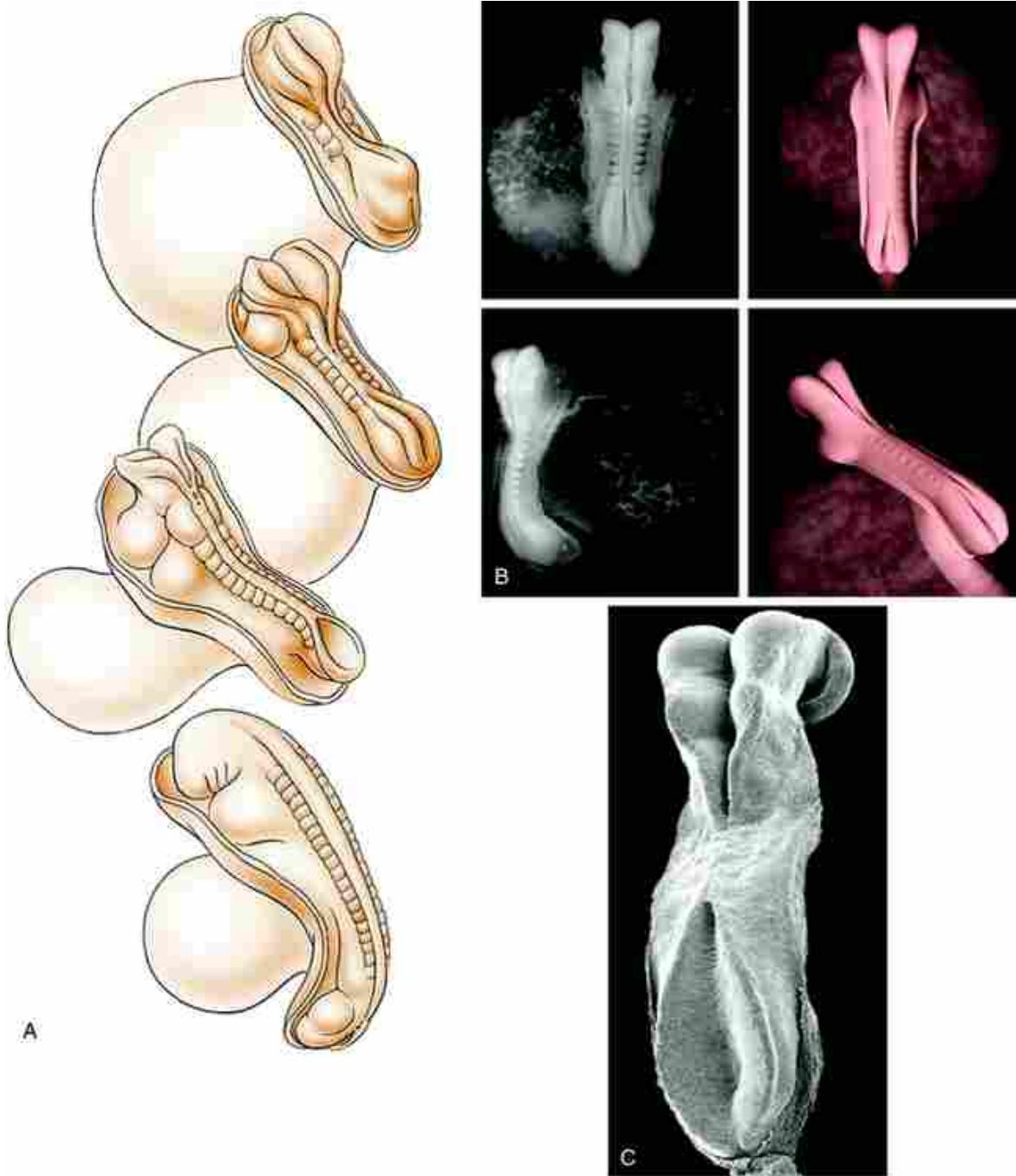
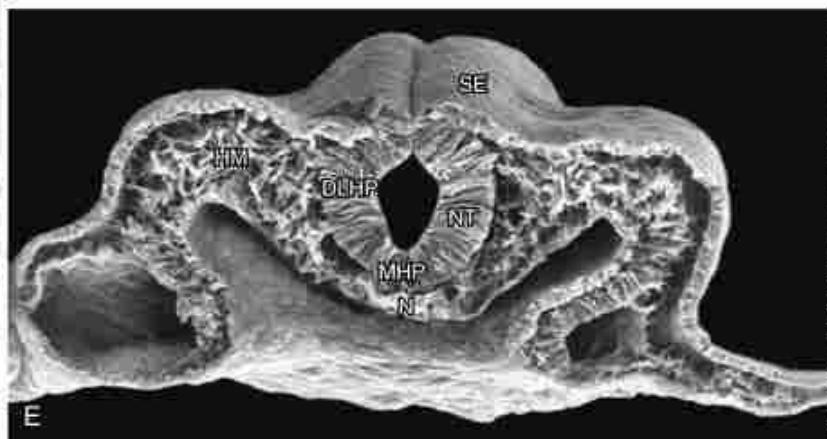
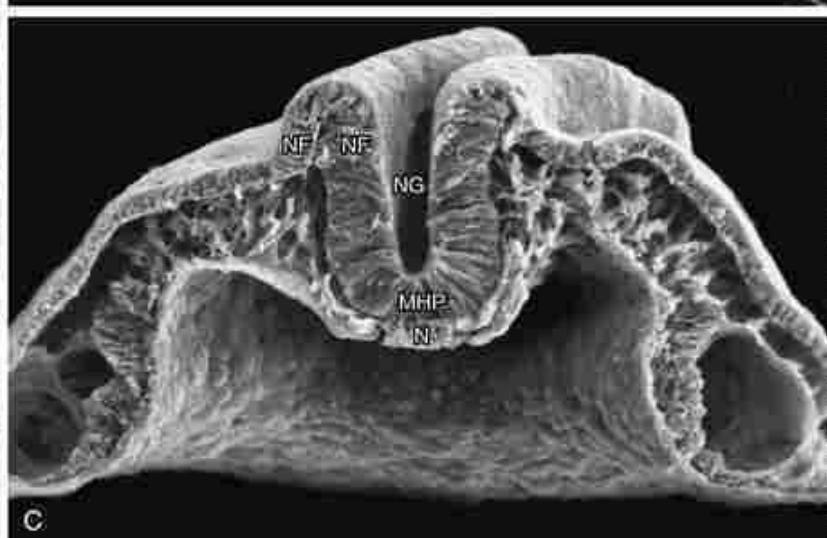
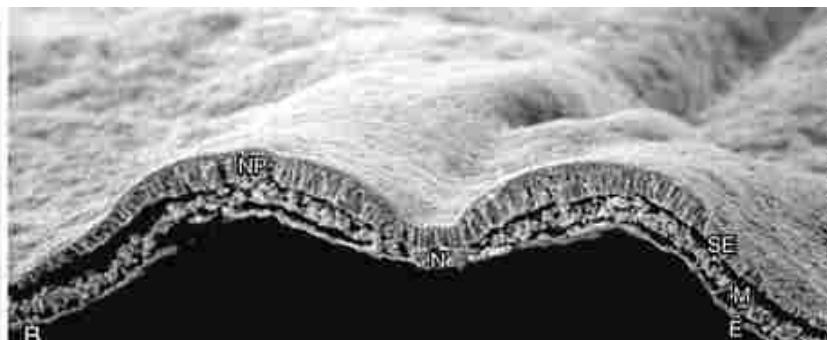
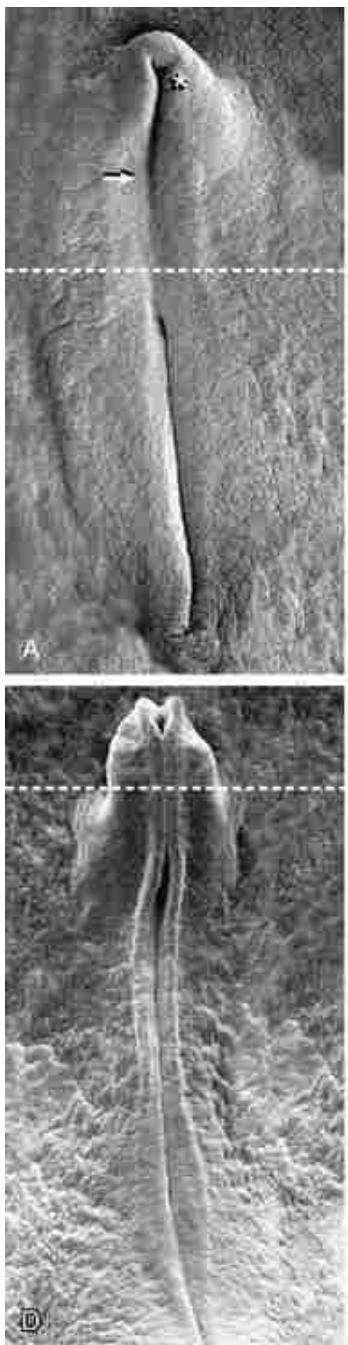


FIGURA 4-5 Neurulação. *A*, Desenhos de embriões humanos do 21º ao 24º dia e do 25º dia (de cima para baixo, respectivamente). As bordas laterais das pregas neurais começam a se fundir na região occipitocervical no 22º dia, deixando abertos em cada extremidade os neuroporos cranial e caudal. O tubo neural alonga-se e vai se fechando como zíperes, tanto no sentido cranial quanto caudalmente, e os neuroporos tornam-se progressivamente menores. O neuroporo craniano fecha-se no 24º dia e o neuroporo caudal no 26º dia. *B*, Fotografias do lado dorsal (*parte superior*) ou lateral (*parte inferior*) de embriões humanos e comparação com imagens geradas pelo computador. *C*, Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de camundongo comparável aos embriões humanos de 21 ou 22 dias. Tanto o neuroporo cranial quanto o caudal estão abertos.



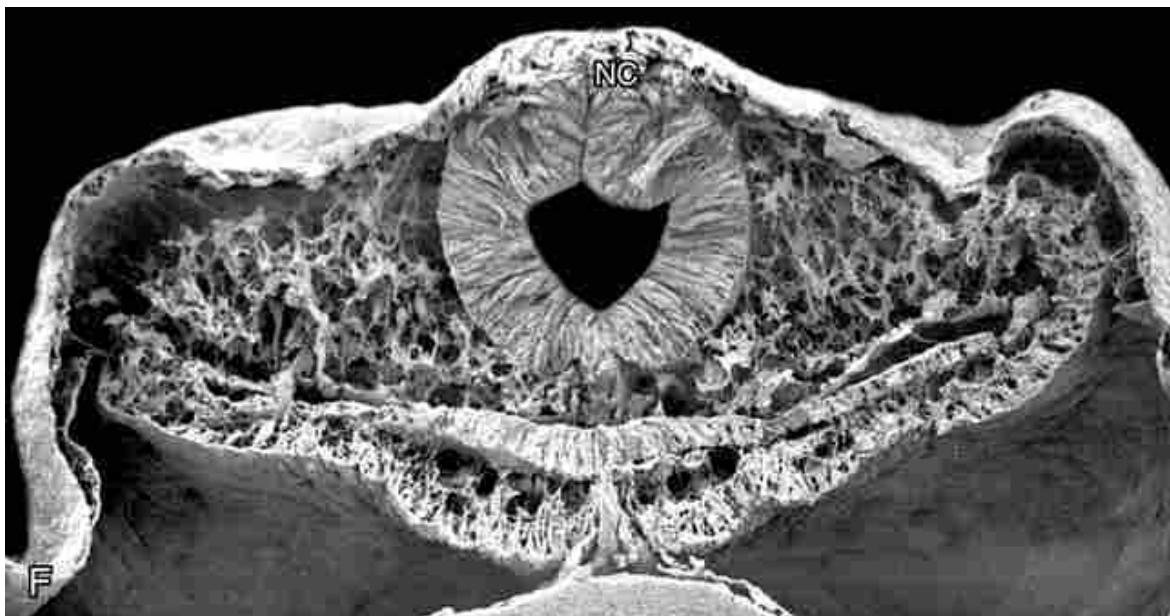


FIGURA 4-6 Neurulação de galinha. *A*, Vista dorsal mostrando que a neurulação ocorre na sequência craniocaudal. No nível da linha em *A*, a placa neural está se formando. Mais cranialmente (seta), a placa neural está se moldando e, ainda mais cranialmente, a placa neural está se dobrando (asterisco) e faz surgir um sulco neural com dobras neurais pareadas. *B*, Estágio da formação da placa neural (NP) no nível da linha em *A*. *E*, endoderma; *M*, mesoderma; *N*, notocorda; *SE*, ectoderma cutâneo (ou de superfície). *C*, Secção transversal através do sulco neural (no nível do futuro mesencéfalo) no estágio intermediário entre *A* e *D*. MHP, ponto mediano de articulação; *N*, notocorda; *NF*, dobra neural; *NG*, sulco neural. *D*, Vista dorsal durante o fechamento do sulco neural. Ao contrário do que acontece com os humanos, o sulco neural na galinha fecha-se primeiro no nível do futuro mesencéfalo (em vez no nível occipitocervical) e, em seguida, avança no sentido cranial e caudal para fechar, respectivamente, o pequeno neuroporo craniano e o neuroporo/sulco neural caudal alongado. A *linha* indica o nível de secção transversal em *E*. *E*, Secção transversal através do tubo neural incipiente (NT). DLHP, ponto de articulação dorsolateral; HM, mesoderma da cabeça; MHP, ponto de articulação medial; *N*, notocorda; *SE*, ectoderma cutâneo. *F*, Secção transversal mostrando a fase um pouco mais tardia da neurulação em relação ao que é mostrado em *E*. Células da crista neural (NC) estão começando a se formar a partir das dobras neurais.

A dobra da placa neural envolve a formação das **dobras neurais**, nas bordas laterais da placa neural, composta de **neuroepitélio** e **ectoderma cutâneo** adjacente (Fig. 4-6C). Durante o dobramento, as dobras neurais elevam-se dorsalmente, girando em torno de um ponto pivô central que está logo acima da notocorda, denominado **ponto de articulação mediano**. O sulco delimitado pela dobra da placa neural é denominado **sulco neural**. A flexão em torno do ponto de articulação mediano parece com o fechamento de um livro. Tendo em vista que a placa neural e seu sulco no nível do futuro cérebro é muito mais alargado do que no nível da futura medula espinhal, pontos adicionais de articulação formam-se na placa neural do cérebro para promover o encontro das dobras neurais na linha média dorsal. Estes pontos de articulação, denominados **pontos de articulação dorsolaterais**, permitem que as dobras neurais no nível do futuro cérebro convirjam medialmente em direção uma da outra (Fig. 4-6D,E). Como resultado das dobras, o par de dobras neurais emparelha-se na linha mediana dorsal.

O fechamento do sulco neural envolve a adesão das dobras neurais uma na outra e o posterior rearranjo das células da dobra para formar duas camadas epiteliais: a **placa do teto do tubo neural** e o **ectoderma cutâneo** sobrejacente. Na interface entre estas camadas epiteliais formam-se as **células da crista neural** (Fig. 4-6F). Elas surgem nas dobras neurais, passando pela **transição epitélio-mesenquimal** (EMT) (discutida mais adiante no capítulo); as células da crista neural são também abordadas mais adiante no capítulo. Em seres humanos, o fechamento do sulco neural começa no 22º dia, na futura região occipital e cervical (adjacente aos quatro somitos occipitais e primeiro somito cervical) do tubo neural (Fig. 4-5). A partir desta região, o fechamento avança tanto no sentido cranial quanto caudal. Finalmente, os neuroporos cranial e caudal fecham-se no 24º e no 26º dia, respectivamente.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos da neurulação

Eventos Teciduais e Celulares

A neurulação, mais especificamente a modelagem e o dobramento da placa neural, envolve certo número de diferentes forças que atuam em conjunto. Estas forças são geradas por alterações no comportamento das células,

em particular as alterações na forma da célula, posição e número. Algumas dessas forças são produzidas na própria placa neural, enquanto outras forças são geradas nos tecidos adjacentes. As forças resultantes de dentro da placa neural são denominadas **forças intrínsecas da neurulação**, em oposição das que surgem no exterior da placa neural, denominadas **forças extrínsecas da neurulação**.

As bases celulares da neurulação têm sido mecanicamente analisadas mais profundamente nos embriões de galinha (Fig. 4-6). Embora a modelagem e a dobra da placa neural ocorram simultaneamente, para compreender os seus mecanismos é melhor analisá-los em separado. Como abordado anteriormente neste capítulo, a modelagem envolve **extensão convergente**, ou seja, estreitamento transversal e alongamento longitudinal. Além disso, a placa neural engrossa apicobasalmente durante a modelagem, na medida em que suas células ficam mais altas (mudam para o formato colunar alto), dando continuidade ao processo de alongamento celular iniciado durante a formação da placa neural. O alongamento apicobasal requer a presença de microtúbulos paraxiais, ou seja, microtúbulos orientados ao longo (em paralelo) do eixo apicobasal da célula. O **alongamento celular** contribui não só para o espessamento da placa neural, mas também para o seu estreitamento, porque, como as células ficam mais altas, elas reduzem o diâmetro para manter o volume (o alongamento também pode reduzir o comprimento da placa neural, mas isso é compensado pelo rearranjo das células e pela divisão celular orientada; abordados mais adiante). No entanto, o principal fator que estreita a placa neural não é o alongamento celular. Mais importante é o **rearranjo celular** (também denominado **intercalação celular**). Durante o rearranjo celular, as células movem-se da lateral para o meio da placa neural, estreitando, assim, a placa neural e pressionando-a no plano craniocaudal. Isso causa o aumento do comprimento da placa neural. Além disso, ocorre uma rápida **divisão celular** durante a neurulação, e a placa neural continua crescendo durante a modelagem e o dobramento. Muitas dessas divisões celulares são orientadas para gerar células-filhas ao longo do comprimento da placa neural em vez da largura, resultando na extensão craniocaudal da placa neural. Assim, a modelagem é resultado das mudanças na forma, posição e número de células da placa neural. Experimentos têm mostrado que a modelagem da placa neural é marcadamente autônoma, ou seja, forças intrínsecas guiam a modelagem da placa neural.

Como abordado anteriormente neste capítulo, o dobramento da placa neural envolve a formação dos pontos de articulação. O único **ponto de articulação mediano** forma-se em todos os níveis do eixo craniocaudal da placa neural em dobramento, enquanto os **pontos de articulação dorsolaterais** emparelhados formam-se no nível do futuro cérebro, onde a placa neural é muito mais larga do que caudal. Pontos de articulação são regiões específicas onde as células neuroepiteliais mudam sua forma de colunar para a forma de cunha, e ficam firmemente ligadas à estrutura adjacente através da deposição de matriz extracelular. Assim, as células do ponto de articulação mediano da placa neural são firmemente ligadas à **notocorda** subjacente, e as células do ponto de articulação dorsolateral de cada lado da placa neural são firmemente aderidas ao ectoderma cutâneo sobrejacente à **dobra neural**. Células em forma de cunha são geradas nos pontos de articulação tanto por constrição apical quanto por expansão basal. Os ápices das células neuroepiteliais contêm um anel de microfilamentos na sua circunferência, cuja contração apical leva ao estreitamento. Além disso, as bases das células neuroepiteliais expandem-se simultaneamente na medida em que o núcleo basal se move. Lembre-se de que as células neuroepiteliais estão se dividindo durante toda a neurulação. Conforme essas células alongadas dividem-se, seus núcleos fazem um movimento de vaivém denominado **migração nuclear intercinética**. Durante a fase G1/S do ciclo celular, o núcleo movimenta-se para a base. Após completar a síntese do DNA durante a fase S, o núcleo move-se para o ápice (ao lado do lúmen) e as células ficam redondas no ápice do neuroepitélio, onde ocorre mitose (**citocinese**). Depois da divisão, as células alongam-se mais uma vez e os seus núcleos movem-se basalmente. Para a formação de células em cunha, o ciclo celular destas células neuroepiteliais é prolongado para que as células gastem mais tempo nas fases G e S e, consequentemente, mais tempo com suas bases expandidas. Isso porque cada célula neuroepitelial é muito estreita, exceto no nível em que os núcleos residem. Assim, as células neuroepiteliais basalmente expandidas ficam em forma de cunha.

Historicamente, a maioria dos estudos sobre neurulação concentraram-se na mudança da forma das células neuroepiteliais (em cunha), que geram forças intrínsecas para a neurulação. Mas estudos mais recentes têm demonstrado que as **forças extrínsecas** são suficientes e necessárias para a neurulação. Esses estudos têm revelado que os tecidos laterais à placa (ectoderma cutâneo e mesoderma) geram forças extrínsecas para o dobramento da placa neural. Assim como as forças intrínsecas que atuam durante a modelagem, essas forças extrínsecas são geradas por alterações no comportamento das células e envolvem mudanças na forma, posição e número de células. Tecidos laterais, assim como a placa neural, também sofrem extensão convergente, promovida por divisão celular orientada e rearranjo celular. Isso resulta na expansão medial, que empurra a dobra neural, resultando na sua elevação e convergência em direção à linha mediana dorsal. Células laterais também apresentam mudanças na forma como contribuem para a expansão medial. Por exemplo, as células do ectoderma cutâneo transformam-se de cuboidais para pavimentosas (achatadas), aumentando a área da superfície.

A base celular do fechamento do sulco neural é pouco compreendida, especificamente a fusão entre as bordas

neurais. Alguns estudos sugerem que coberturas extracelulares apicais adesivas estão envolvidas, mas a sua natureza molecular ainda não está caracterizada. Além disso, ocorrem rearranjos celulares conforme as folhas epiteliais (as dobras neurais) vão se fundindo. As células se reorganizam em novo epitélio (teto do tubo neural e ectoderma cutâneo sobrejacente) e em estruturas mesenquimais (células da crista neural). No entanto, o modo exato como as células realizam essas façanhas continua em grande parte desconhecido.

Mecanismos Moleculares

A base molecular da neurulação está sendo cada vez mais estudada. Tem sido demonstrado que mais de duas centenas de mutações em camundongos resultam de defeitos na neurulação e, consequentemente, em **defeitos do tubo neural (DTN)**; assim, essas mutações fornecem uma visão sobre quais genes estão envolvidos na neurulação normal e anormal. Considerando que a neurulação é impulsionada por mudanças no comportamento das células, não é de se estranhar que mutações nos genes de citoesqueleto, matriz extracelular/adesão celular, ciclo celular e genes de morte celular resultem em DTNs. A neurulação é um evento morfogenético altamente coreografado que deve ser precisamente sincronizado e coordenado com vários tecidos. Isso provavelmente envolve sinalizações entre os tecidos. Espera-se que os estudos que utilizam mutações em camundongos possam identificar tais vias de sinalização, levando a uma compreensão das bases moleculares da neurulação e da formação de DTNs tanto em modelos animais quanto, em última análise, em seres humanos.

Via da polaridade planar das células e extensão convergente

Como abordado no início deste capítulo e no [Capítulo 3](#), a extensão convergente desempenha um papel importante na gastrulação e na neurulação de vertebrados. Estudos recentes têm revelado que a extensão convergente é regulada pela via de sinalização Wnt. Durante o desenvolvimento, as folhas de epitélio tornam-se polarizadas não apenas no sentido apicobasal, mas também no próprio plano do epitélio. Em *Drosophila*, a **via da polarização das células planas (PCP)** funciona polarizando o plano do epitélio. Assim, por exemplo, a orientação do cabelo nas asas é estabelecida pela via PCP. Nos vertebrados, a via PCP é necessária para a correta orientação dos feixes de estereocílios nas células ciliadas externas do ouvido interno do camundongo ([Cap. 18](#)) e para a extensão convergente durante a gastrulação e a neurulação. Como estão relacionadas as vias de sinalização PCP e Wnt?

A via PCP da *Drosophila* consiste em vários complexos de proteínas que agem coletivamente para converter uma polaridade extracelular em alterações específicas do citoesqueleto. Esses aglomerados de proteínas são agora conhecidos como componentes da via de sinalização Wnt, e ortólogos de vários componentes da *Drosophila* são conservados em vertebrados. Assim, a extensão convergente durante a gastrulação e a neurulação é bloqueada em mutações com perda de função da proteína citoplasmática *dishevelled* de *Xenopus* e seus dois homólogos no rato (*dishevelled 1* e *2*). Conforme abordado no [Capítulo 5](#), a sinalização Wnt envolve tanto a via canônica do Wnt quanto a via Wnt não canônica. A via PCP utiliza a via não canônica, em que determinados Wnts, como Wnt 11, se ligam aos seus receptores (conhecido como *frizzleds*). Várias outras proteínas, incluindo *dishevelled*, devem interagir com essa via para realizar a devida sinalização e, consequentemente, ocorrer a devida extensão convergente. Além do camundongo duplo mutante para *dishevelled 1* e *2*, quatro outros camundongos mutantes apresentam defeitos na extensão convergente: *circletail*, *crash*, *spin cycle* e *loop-tail*. Camundongos *loop-tail* têm uma mutação no gene ortólogo *strabismus/van Gogh*, que codifica uma proteína transmembranar que interage com *dishevelled*. Tanto os camundongos *crash* quanto os *spin cycle* têm uma mutação no gene *Celsr1*, que é uma protocaderina ortóloga do *flamingo* da *Drosophila*. Em *Drosophila*, *flamingo* é necessário para a sinalização PCP. Camundongos *circletail* têm uma mutação no gene *scribble*, o ortólogo de *Drosophila*. *Scribble* interage com *strabismus*. Assim, o desenvolvimento da compreensão da via PCP na *Drosophila* teve um resultado surpreendente; uma melhor compreensão da gastrulação e da neurulação dos vertebrados e, potencialmente, uma melhor compreensão de como DTNs surgem em seres humanos.

Proteína ligante de actina e constrição apical

A ablação genética de várias proteínas associadas à actina em camundongos resulta em DTNs. Uma destas proteínas ligantes de actina, *shroom*, recebeu considerável estudo. A superexpressão de *shroom* em culturas de células epiteliais é suficiente para causar constrição apical. O *shroom* provoca constrição apical porque altera a distribuição da F-actina no lado apical das células epiteliais e regula a formação de uma rede contrátil de actomiosina associada às junções intercelulares apicais. Quando o *shroom* é inativado em embriões de *Xenopus*, a formação do ponto de articulação é drasticamente alterada e falha no fechamento do tubo neural, fornecendo mais evidências para a contribuição da alteração da forma da célula para a geração de forças intrínsecas importantes para a neurulação.

Padronização dorsiventral do tubo neural

Durante a formação do tubo neural, são recebidos sinais dos tecidos adjacentes, resultando na sua padronização ao longo do eixo dorsiventral. Três tecidos fornecem sinais para a padronização: ectoderma cutâneo, mesoderma

paraxial e notocorda. Assim, esses sinais são originados, respectivamente, dorsal, lateral e ventralmente (Fig. 4-7).

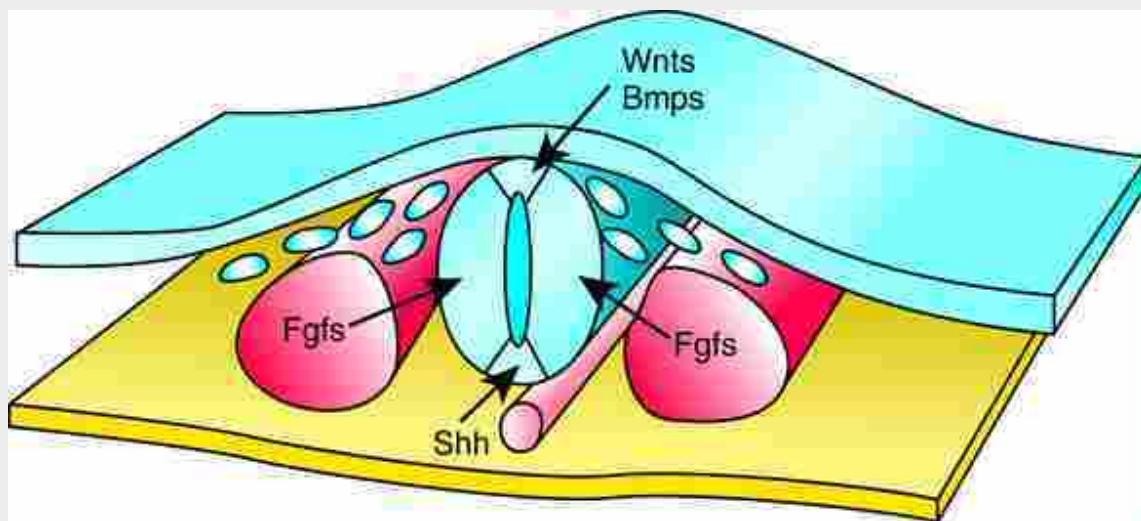


FIGURA 4-7 Diagrama mostrando os fatores envolvidos na padronização dorsiventral do tubo neural. O tubo neural é dorsalizado pelo ectoderma cutâneo, que secreta os ortólogos de *Drosophila* da família *wingless* (Wnt) e as proteínas morfogenéticas do osso (BMPs), resultando na formação da placa do teto do tubo neural (área triangular clara dorsalmente) e células da crista neural (migrando para longe do tubo neural dorsal). O tubo neural é ventralizado pela notocorda, que induz a placa do chão (área triangular clara ventralmente) do tubo neural através da secreção de *sonic-hedgehog* (Shh). Depois, tanto a notocorda quanto a placa do chão secretam Shh. Sinais adicionais para a padronização são fornecidos pelos somitos (fatores de crescimento de fibroblastos ou Fgf). As setas indicam a sinalização.

Os sinais ventrais são mais bem entendidos. Várias experiências com microcirurgia para remoção da notocorda (extirpado) da linha média ventral ou para transplante na parede lateral adjacente do tubo neural revelaram que a notocorda é suficiente e necessária para a formação do **ponto de articulação mediano** e, posteriormente, para a formação da **placa do chão do tubo neural** (a placa do chão é derivada do ponto de articulação mediano durante o desenvolvimento subsequente). Utilizando experimentos de perda de função e ganho de função, principalmente na galinha e no camundongo, foi demonstrado que o *sonic hedgehog* (Shh), secretado inicialmente pela notocorda, é o sinal que诱导 o ponto de articulação mediano e a placa do chão. Depois que a placa do chão é induzida, ela também secreta Shh (Fig. 4-8), que, por sua vez, induz os **neurônios** no ventre do tubo neural (p. ex., os motoneurônios na medula ventral; discutido no Cap. 9). Shh age como um **morfógeno**, de tal maneira que altas concentrações induzem neurônios ventrais, concentrações mais baixas induzem os neurônios intermediários e as menores concentrações induzem os neurônios mais dorsais.

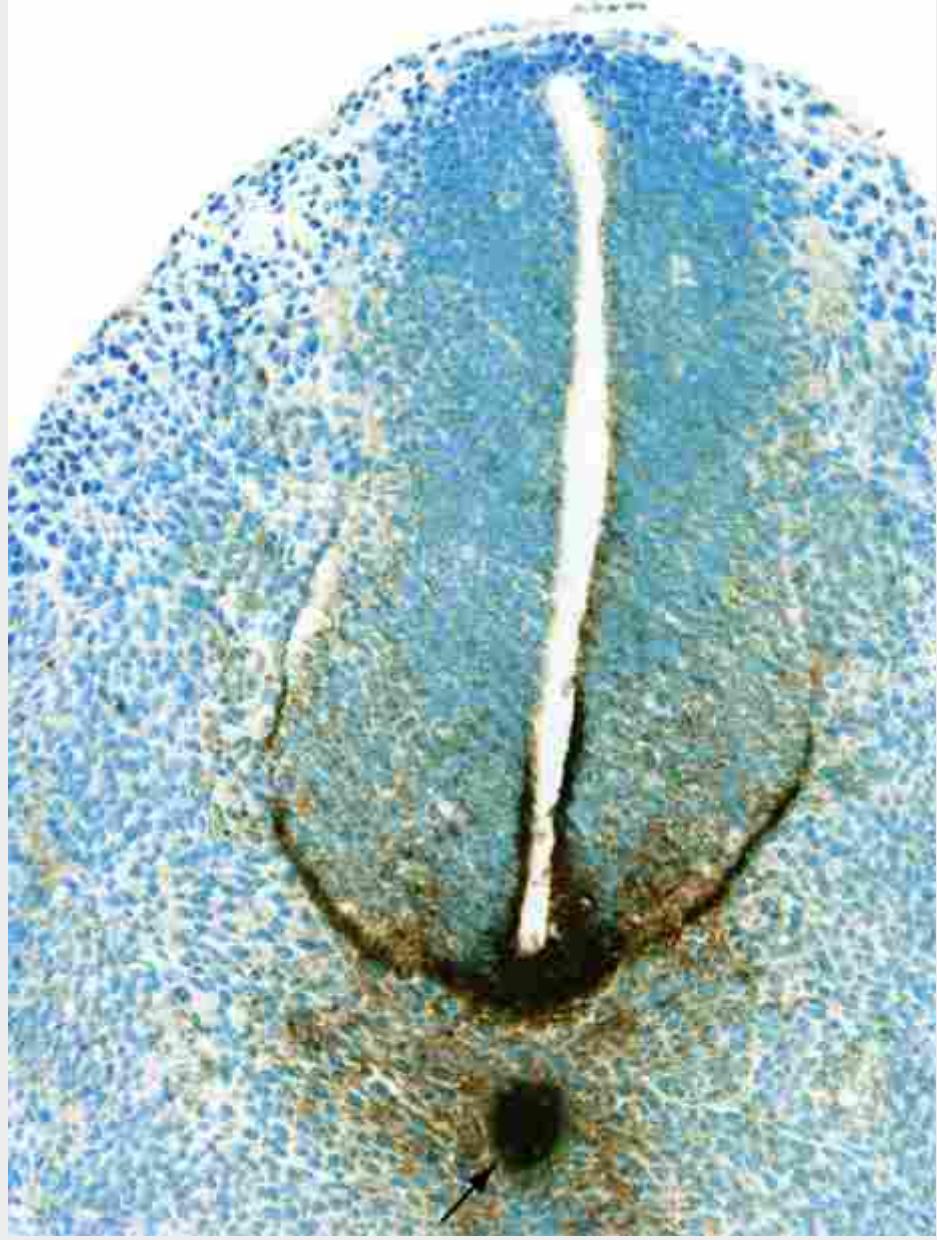


FIGURA 4-8 Expressão da proteína *sonic hedgehog* (Shh) (marrom-escuro), entre 11 e 11,5 dias pós-coito, na notocorda de camundongo e na placa do chão do tubo neural.

Além de produzir no tubo neural um gradiente ventrodorsal da concentração do Shh, a notocorda também produz um gradiente ventrodorsal na concentração de Chordin, um antagonista do Bmp. O gradiente de Chordin interage com o gradiente, dorsal para ventral, da concentração de Bmp produzido pelo ectoderma cutâneo. Considerando que a sinalização do Bmp é bloqueada por Chordin, a sinalização Bmp fica robusta dorsalmente (onde a concentração de Chordin é fraca ou ausente e a concentração de Bmp é alta) e fraca ou ausente ventralmente (onde a concentração de Chordin é alta e a concentração de Bmp é fraca ou ausente). Um elevado nível de sinalização Bmp dorsalmente, junto com a sinalização de Wnt pelo ectoderma cutâneo, resulta na indução de **células da crista neural** e na **placa do teto do tubo neural**.

O mesoderma paraxial alinhado ao lado das paredes laterais do tubo neural também fornece sinais de padronização, mas estes são os menos compreendidos. Entre os fatores produzidos e secretados pelo mesoderma paraxial estão Fgfs, como o Fgf8. Experimentos tanto de ganho de função quanto de perda de função em *Xenopus* fornecem suporte para a participação do mesoderma paraxial e Fgfs na indução das células da crista neural.

Na Clínica

Defeitos do tubo neural

Defeitos do tubo neural (DTNs) resultam quando a **neurulação** não ocorre normalmente. Assim, esses defeitos surgem durante a 3^a e a 4^a semana de gestação e podem estar abertos para a superfície ou cobertos pela pele. DTNs abertos são os mais graves. Eles variam desde **disrafismo** total, denominado **cranioraquisquise**, no qual todo o comprimento do tubo neural se abre para a superfície da cabeça e das costas, até o disrafismo localizado. O disrafismo total do cérebro, com formação normal da medula espinhal, é denominado **cranioquise** ou **anencefalia**. Os recém-nascidos com anencefalia não possuem cérebro anterior funcional (encéfalo) e não ganham consciência. A maioria não sobrevive mais do que algumas horas após o nascimento.

O disrafismo da medula espinhal é denominado **mielosquise**. Geralmente a mielosquise é localizada, em vez de total, e geralmente ocorre no nível lombossacral, de tal modo que só a região mais caudal da medula espinhal está aberta ([Fig. 4-9A-C](#)). Mielosquise é comumente referida como **espinha bífida aberta** (aberta significa que a medula espinhal é aberta na superfície do corpo, e espinha bífida significa que está presente uma coluna vertebral bífida). Nem todos os pacientes portadores de espinha bífida aberta têm medula espinhal disrafica. Na verdade, as membranas (**dura-máter** e **aracnoide**) podem se projetar do canal vertebral, formando um saco ou **cele** cheio de líquido. Quando a protrusão consiste unicamente de membranas, é chamada de **meningocele** ([Fig. 4-10A](#)). Quando inclui uma medula espinhal intacta, é denominada **meningomielocele** ou **mielomeningocele** ([Fig. 4-10B](#)).

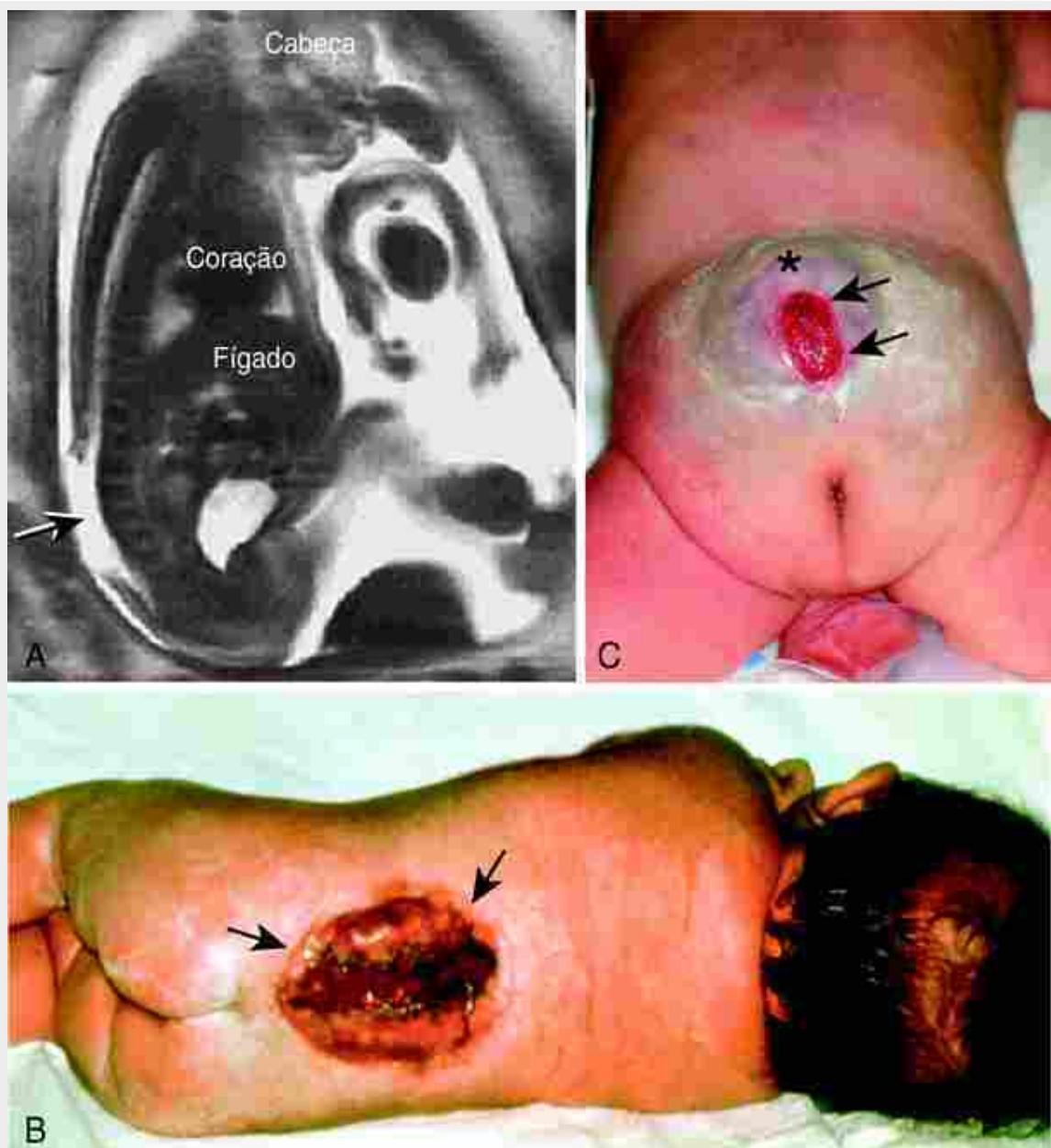


FIGURA 4-9 Mielosquise lombossacral. *A*, Imagem de ressonância magnética (MRI) mostrando mielosquise lombossacral (seta) em um feto no útero. *B*, Recém-nascido com uma grande lesão aberta (mielosquise lombossacral). As setas marcam sua extensão craniocaudal. *C*, Recém-nascido com duas aberturas (as setas marcam a extensão craniocaudal da mielosquise lombossacral) e uma lesão fechada (asterisco; meningocele ou mielomeningocele).

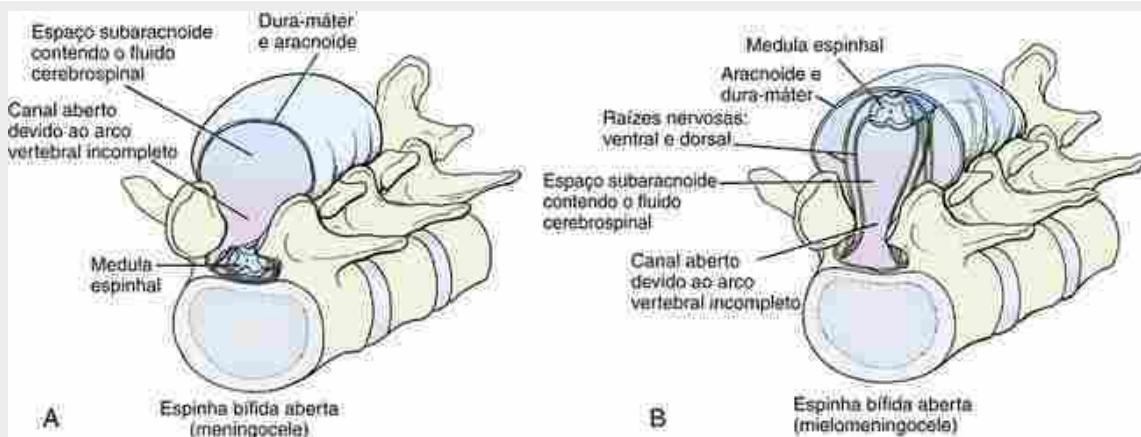


FIGURA 4-10 Diagramas de dois tipos de espinha bífida aberta. Note a ruptura dos arcos vertebrais neurais e a presença de uma cele. A, A meningocele inclui a dura e a aracnoide, mas não a medula espinal. B, A mielomeningocele ou meningomielocele contém uma porção da medula espinal e os nervos espinhais associados, bem como as meninges.

DTNs abertas ocorrem em cerca de 0,1% de todos os nascidos vivos. Cerca de 4 mil gravidezes são afetadas por DTNs abertas a cada ano nos Estados Unidos e, nestes casos, 50% dos fetos são abortados intencionalmente. Cerca de 500 mil crianças com espinha bífida aberta nascem no mundo a cada ano. A detecção precoce de DTNs no útero tem melhorado muito desde o advento da triagem pela **alfafetoproteína do soro materno** (MSAFP) após a 12^a semana de gestação. Se níveis elevados de alfafetoproteína forem detectados no soro materno, dois outros testes poderão ser feitos: **exame de ultrassom** da espinha e da cabeça do feto (Fig. 4-9A) e **amniocentese** (abordada no Cap. 6); este último procedimento é usado para amostrar e medir os níveis de alfafetoproteína do líquido amniótico. A alfafetoproteína é produzida pelo fígado fetal e é excretada pelos rins do feto dentro do líquido amniótico; finalmente, ele é absorvido para a circulação materna. Os níveis da alfafetoproteína estão elevados em gestações afetadas por DTNs (e por defeitos da parede do corpo, como **gastrosquise**) e são menores em gestações afetadas pela **síndrome de Down** (ou por outras anomalias cromossômicas), mas não está claro por que os níveis de alfafetoproteína são alterados nessas condições.

DTNs cobertos por pele podem estar presentes tanto no nível do cérebro quanto no nível da medula espinal. No cérebro, DTNs cobertos pela pele são denominados **encefalocele**, com tecido cerebral projetando-se através do crânio (Figs. 4-11 e 4-12). Uma grande encefalocele pode afetar gravemente a função neurológica e ameaçar a sobrevivência. Na medula espinal, DTNs cobertos por pele são referidos como **espinha bífida oculta** (Fig. 4-13A). Elas ocorrem em cerca de 2% da população. Em geral, a localização da espinha bífida oculta está marcada externamente, na parte de trás, por um tufo de cabelo, um nevo pigmentado (mole), um angioma (marca de nascimento na pele com coloração vinho do Porto), um lipoma (abaulamento da pele provocado por uma massa de tecido adiposo; Fig. 4-13B) ou por uma covinha.

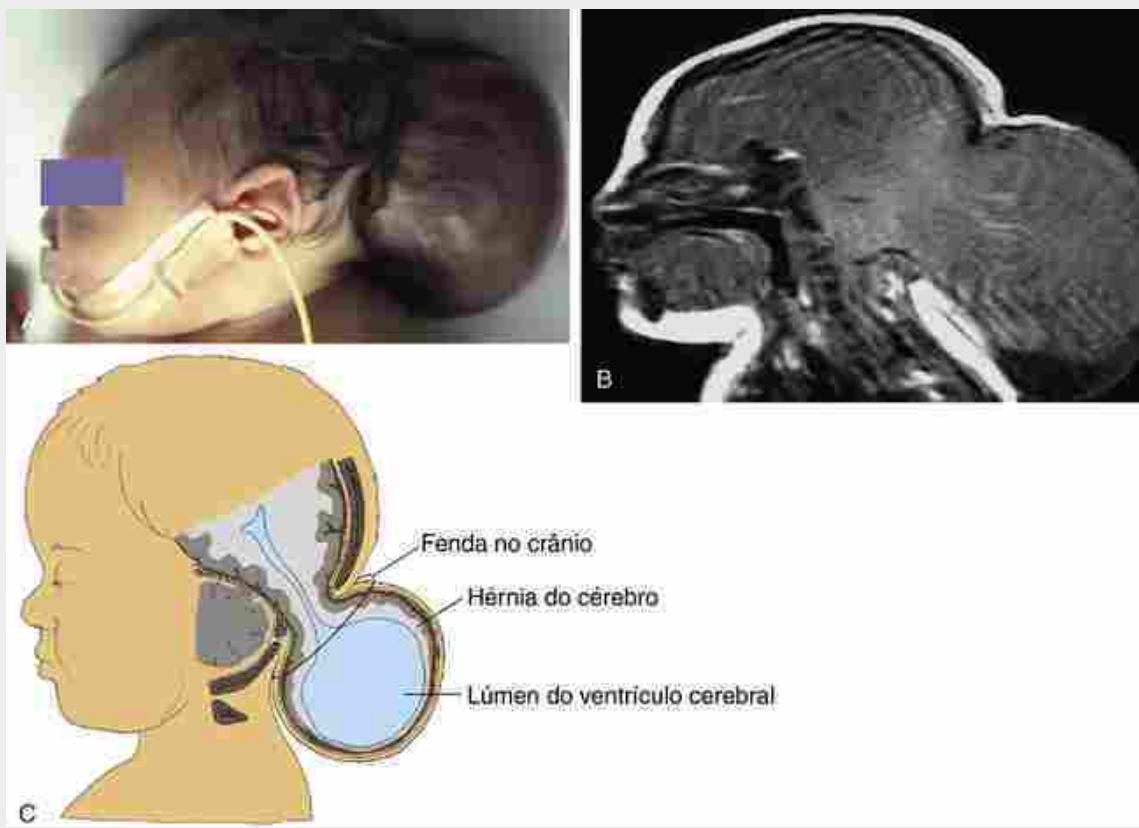


FIGURA 4-11 Recém-nascidos com grandes encefaloceles. *A*, Vista lateral. *B*, Imagem de ressonância magnética (MRI) mostrando a hérnia do tecido cerebral através da parte de trás do crânio, contido em uma cele. *C*, Diagrama ilustrando as estruturas herniadas.



FIGURA 4-12 Defeitos da linha média da região orofacial. *A*, Recém-nascido com lábio leporino na linha média. *B*, O exame da cavidade oral revelou a presença de uma fenda palatina (setas marcam as lâminas palatinas não fundidas) e uma encefalocele (asterisco) herniando na cavidade nasal.



FIGURA 4-13 A, A espinha bífida oculta pode envolver anomalias menores de formação do arco neural e pode não resultar em malformações do tubo neural. Esta condição ocorre frequentemente na região sacral mediana e pode ser indicada por uma pequena ondulação, um tufo de cabelo, um lipoma ou um nevo recobrindo a vértebra defeituosa. B, Espinha bífida lombossacral oculta em um recém-nascido com lipoma e angioma associado.

DTNs podem resultar em graves problemas de saúde que requerem cuidados ao longo da vida. Por exemplo, a medula espinhal e os nervos espinais acometidos por meningomielocele não conseguem desenvolver-se normalmente, resultando em disfunção de órgãos pélvicos e membros inferiores. Em geral, os defeitos mais profundos e mais extensos resultam em maior déficit neurológico do que os mais superficiais e menores. **Hidrocefalia** desenvolve-se em 90% das crianças com mielomeningocele (comumente referida como água no cérebro). Isso ocorre porque a mielomeningocele é associada, por razões desconhecidas, a uma anomalia na base do cérebro denominada **malformação de Arnold-Chiari** (Fig. 4-14). Esta malformação atrapalha o escoamento normal

do líquido cefalorraquidiano (LCR), também conhecido como fluido cerebroespinal (CSF) ou liquor, dos ventrículos cerebrais para o espaço subaracnóideo ao redor da medula espinhal. Consequentemente, aumenta o volume e a pressão do líquido cefalorraquidiano nos ventrículos cerebrais, causando seu alargamento à custa do tecido cerebral mais periférico. A hidrocefalia é normalmente controlada com o implante de um desvio, um tubo feito de material inerte, flexível, de plástico, com cerca de 3 mm de espessura e que contém uma válvula de fluxo unidirecional. Ele é implantado nos ventrículos laterais para permitir que o fluido drene para uma cavidade do corpo (normalmente a cavidade abdominal), onde ele pode ser reabsorvido. Outra complicação de DTNs é a **medula espinhal presa**, uma condição na qual a extremidade caudal da medula espinhal está aderida à pele como resultado de um DTN aberto ou fechado. Conforme a criança cresce e sua coluna vertebral se estende, a medula presa é esticada e danificada, resultando em déficit neurológico. É importante identificar a medula presa e soltá-la cirurgicamente antes que ocorram danos neurológicos, pois são irreversíveis. Em recém-nascidos com DTNs cobertos por pele, a presença de medula presa não seria evidente. No entanto, como abordado anteriormente nesta seção, os recém-nascidos que tenham na região lombossacral um tufo peludo, um nevo pigmentado, um angioma, um lipoma, ou uma cova, denominados **assinaturas neurocutâneas**, podem ter um DTN subjacente. Esses recém-nascidos devem ser examinados por ressonância magnética (MRI) ou por meio de ultrassom, para identificar a medula presa associada a um DTN fechado. Assim, a medula poderá ser solta da pele antes que ocorram danos neurológicos.

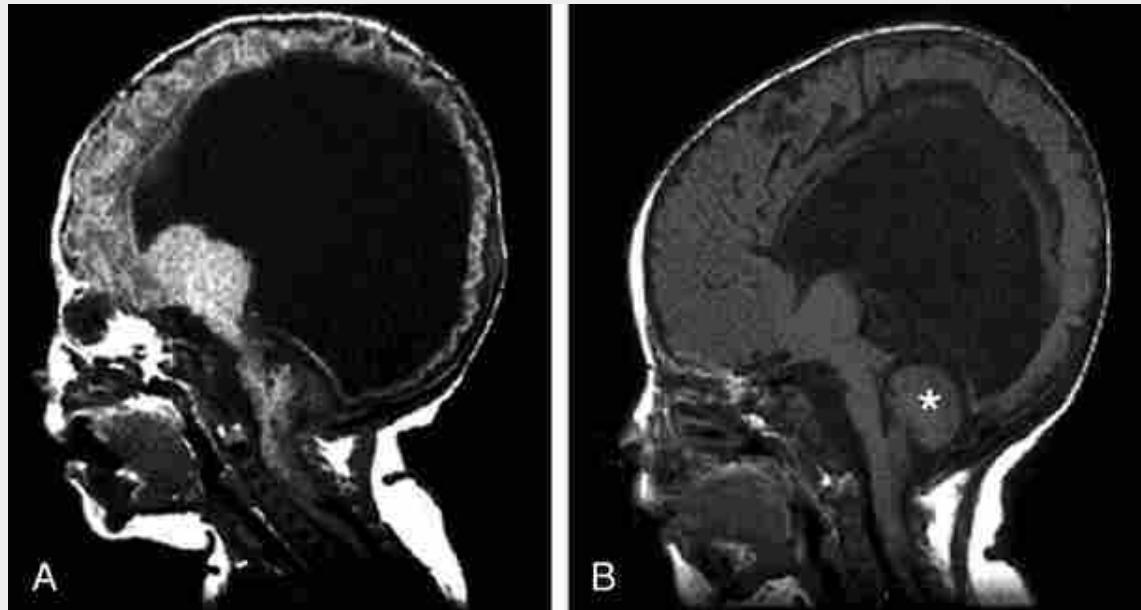


FIGURA 4-14 Malformação de Chiari tipo II com hidrocefalia. Imagem de ressonância magnética (MRI). *A*, Criança com 1 mês de idade antes do procedimento cirúrgico para desvio do fluido cerebroespinal. Note o ventrículo muito ampliado (*grande espaço preto no centro*), rodeado pelo tecido cerebral fino e comprimido. Além disso, o cerebelo foi empurrado para o forame magno. *B*, Cinco meses após o procedimento cirúrgico. O espaço ventricular foi reduzido, o tecido cerebral expandiu-se e o cerebelo (*asterisco*) agora ocupa sua posição normal. Atualmente, aos 8 anos de idade, a criança usa cadeira de rodas e tem leve fraqueza nos dedos.

Os DTNs não têm uma causa unicamente monogênica ou teratogênica. Acredita-se que sejam de natureza multifatorial, ou seja, surgem da interação de vários fatores genéticos e ambientais. Cerca de 95% dos bebês com DTNs são nascidos de pais sem histórico familiar de tais distúrbios. No entanto, se uma criança da família tiver um DTN, o risco de reincidência em qualquer gravidez subsequente sobe para cerca de 1 em 40, e, se duas crianças forem afetadas, a incidência aumentará para 1 em 20, sugerindo fortemente uma predisposição genética. A frequência de DTNs varia de acordo com a raça, sugerindo uma predisposição genética. Por exemplo, nos Estados Unidos como um todo, a frequência de DTNs é de aproximadamente 0,1%, mas a frequência de DTNs é de 0,035% entre os americanos de origem africana. Em contraste, a frequência de DTNs em algumas partes da Índia e na Irlanda é na ordem de 1,1 %, e na Província de Shanxi, no norte da China, a frequência se aproxima de 1,6% a 1,8 %.*

De acordo com o conceito de predisposição genética para defeitos de fechamento do tubo neural em seres humanos, mutações nos genes do PCP (via da polarização das células planas, citada anteriormente), tais como a de van Gogh 1 e 2, têm sido relatadas recentemente nas famílias com risco elevado de defeito de fechamento do tubo

neural. Esses achados enfatizam a importância da extensão convergente e outros eventos celulares e teciduais na neurulação humana, bem como em modelos animais.

Teratógenos que induzem DTNs em animais e em seres humanos também têm sido identificados, abrindo a possibilidade de que alguns DTNs em seres humanos podem ser causados por toxinas ambientais ou deficiências nutricionais. Por exemplo, estudos em animais experimentais têm implicado o ácido retinoico, a insulina e a glicose plasmática elevada com a formação de DTNs. Fatores implicados na indução de DTNs em humanos incluem as drogas anticonvulsivantes **ácido valproico**, **diabetes materno** e **hipertermia**.

A **suplementação com ácido fólico (vitamina B₉)** (400 microgramas de ácido fólico sintético por dia em um complexo multivitamínico para o pré-natal) pode reduzir a incidência de DTNs em até 75%. No entanto, na sondagem Gallup de 2000, apenas 13% das mulheres em idade reprodutiva nos Estados Unidos estavam cientes deste fato.[†] Então, para ser mais eficaz na prevenção de um DTN, o ácido fólico deve ser tomado por mulheres em idade reprodutiva, assim, a suplementação com folato já estará estabelecida no momento da concepção. Na verdade, agora algumas pílulas para controle da natalidade contêm ácido fólico. Assim, caso ocorra uma gravidez enquanto a mulher estiver sob controle de natalidade ou pouco tempo depois da parada do controle, já terá algum nível de suplementação com folato.

Se a mãe já tiver tido uma criança com espinha bífida, será recomendável que ela tome um complexo multivitamínico para pré-natal 10 vezes mais concentrado em ácido fólico (ou seja, 4 mg). O papel do ácido fólico nos processos do desenvolvimento humano é complexo, incluindo a regulação da síntese de DNA, a mitose, a síntese proteica e a metilação do DNA, de modo que o verdadeiro mecanismo pelo qual a suplementação com ácido fólico previne DTNs (e provavelmente outros defeitos de nascença) continua pouco claro.

*Nota da revisão científica: No Brasil, a frequência é de 0,13 a 0,17%.

†Nota da Revisão Científica: No Brasil, o desconhecimento fica em torno de 70% a 100%, dependendo do grupo entrevistado.

Neurulação secundária

Conforme abordado no [Capítulo 3](#), a gastrulação termina com a formação do broto caudal. E, como abordado anteriormente neste capítulo, o tubo neural desenvolve-se por meio do processo de neurulação. A neurulação é concluída com o fechamento do neuroporo caudal no nível do somito 31. No entanto, no feto, o tubo neural estende-se caudalmente para os níveis sacral e cocígeal. Isso ocorre porque o nível do fechamento do neuroporo caudal é sobreposto ao da formação do broto caudal e este último sofre morfogênese para formar a parte mais caudal do tubo neural. A formação do tubo neural a partir do broto da cauda é denominada **neurulação secundária**, para distinguir da **neurulação** (ou neurulação primária), que envolve formação do tubo neural a partir da placa neural, como abordado anteriormente neste capítulo.

Estudos experimentais têm demonstrado que, nos níveis caudais do tubo neural, células da crista neural e somitos desenvolvem-se do broto caudal ([Figs. 4-15 e 4-16](#)). A neurulação secundária envolve a condensação das células do broto em uma massa sólida central denominada **cordão medular**. Em seguida, o cordão medular sofre cavitação para formar um lúmen, que rapidamente funde-se com o canal neural do tubo neural mais cranial. Células da crista neural, então, surgem no teto do tubo neural e migram para formar os gânglios espinais da cauda. As células laterais do broto caudal são submetidas à segmentação para formar os somitos da cauda e, como mencionado no [Capítulo 3](#), a extremidade caudal da notocorda cresce na direção das regiões sacral, cocígea e do broto da cauda. A neurulação secundária é completada por volta da 8^a semana do desenvolvimento.

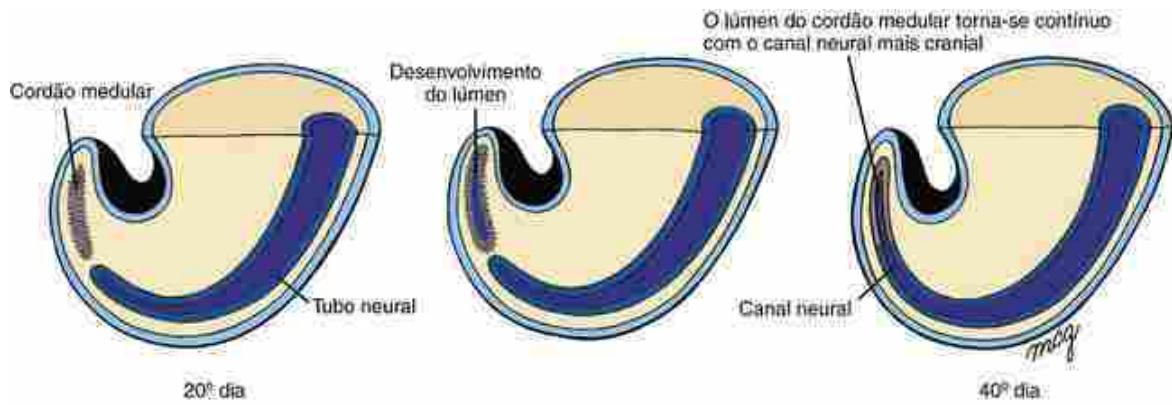


FIGURA 4-15 Neurulação secundária em seres humanos. A formação do tubo neural caudal ocorre por neurulação secundária. Durante este processo, o broto da cauda origina o cordão medular, que depois sofre cavitação para formar a cavidade do lúmen. No final da sexta semana, este lúmen funde-se com o canal neural do tubo neural mais rostral.

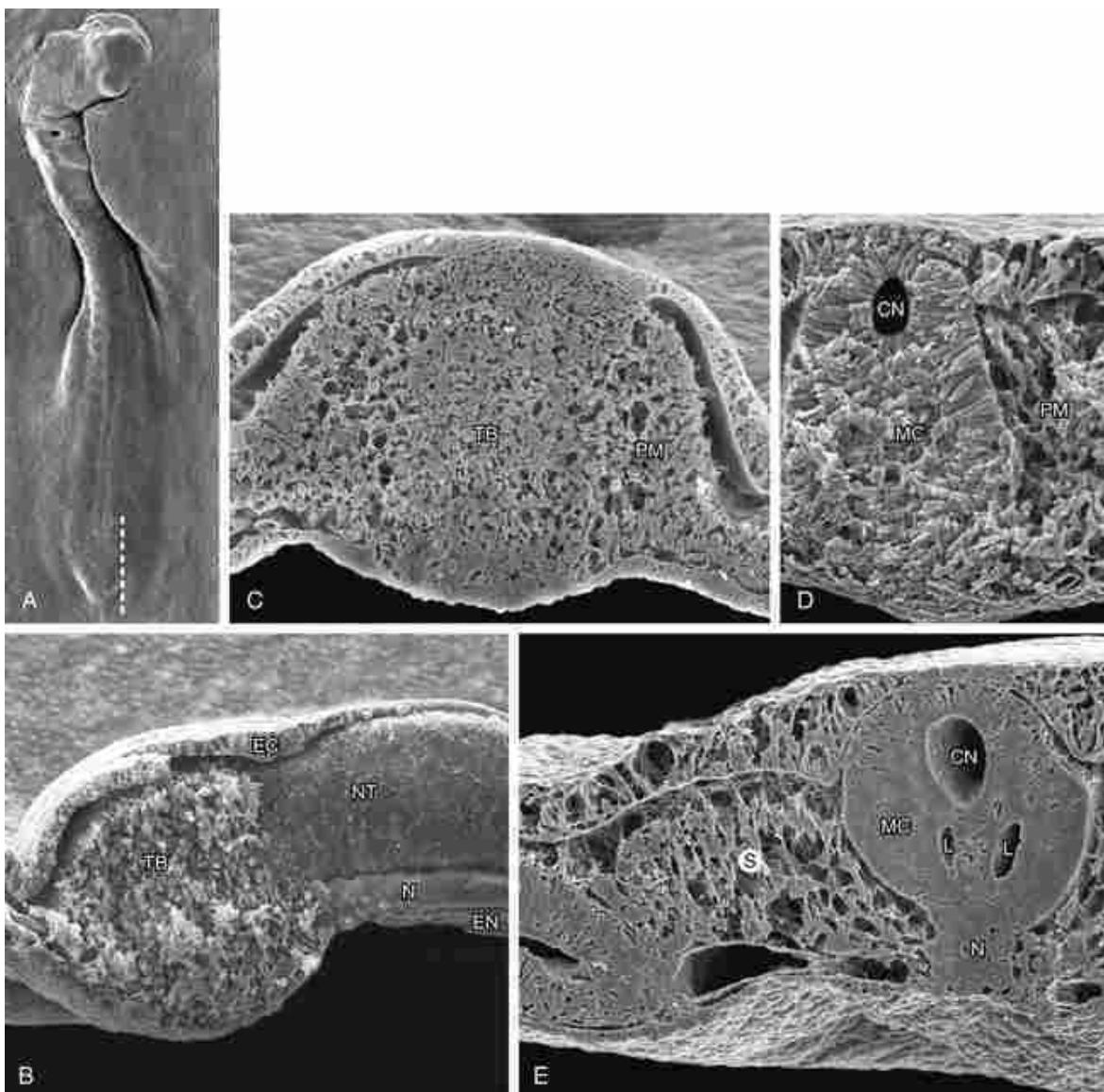


FIGURA 4-16 Neurulação secundária em galinha, como mostrado pela microscopia eletrônica de varredura. *A*, Visão superficial de um embrião de galinha logo após o fechamento do neuroporo caudal. A linha indica o local do corte mostrado em *B*. *B*, Fatia parassagital do corte indicado em *A*. Está sendo mostrada a parede lateral da extremidade caudal do tubo neural (NT) fechado, bem como a notocorda (N) e o endoderme subjacente (EN). Também estão sendo mostrados o broto da cauda (TB) e o ectoderma sobrejacente (EC). *C*, Fatia transversal através do broto da cauda (TB). Também está sendo mostrado o mesoderma paraxial (PM) que vai formar os somitos mais caudais. *D*, Fase ligeiramente mais tardia do que a fase mostrada em *C*, destacando uma fatia transversal do cordão medular (MC). Em galinha, o cordão medular é parcialmente sobreposto pelo neuroporo caudal (CN) formado durante a neurulação primária. Também é mostrado o mesoderma paraxial (PM). *E*, Fase um pouco mais tardia do que é mostrado na *D*, com uma fatia transversal do cordão medular em processo de cavitação (MC). CN, neuroporo caudal; L, O lúmen é formado no cordão medular por cavitação; N, rudimento caudal da notocorda; S, somito.

Regionalização craniocaudal do tubo neural

Pouco tempo depois da formação do tubo neural, ele torna-se subdividido no eixo craniocaudal em cérebro anterior, cérebro médio, cérebro posterior e medula espinhal. Concomitantemente, o embrião é moldado pelo processo de dobramento do corpo e flexão do tubo neural. Assim, ao final do 1º mês do desenvolvimento, o corpo do embrião já está bem formado, e o plano corporal básico está bem estabelecido (Fig. 4-17). Cortes mediossagitais até a extremidade craniana do embrião desta fase revelam o cérebro anterior (também chamado de **prosencéfalo**), cérebro médio (**mesencéfalo**) e cérebro posterior (**rombencéfalo**). A acentuada flexão que separa o prosencéfalo do mesencéfalo é a **flexão do mesencéfalo**. O desenvolvimento subsequente do tubo neural e a regionalização craniocaudal são abordados no [Capítulo 9](#).

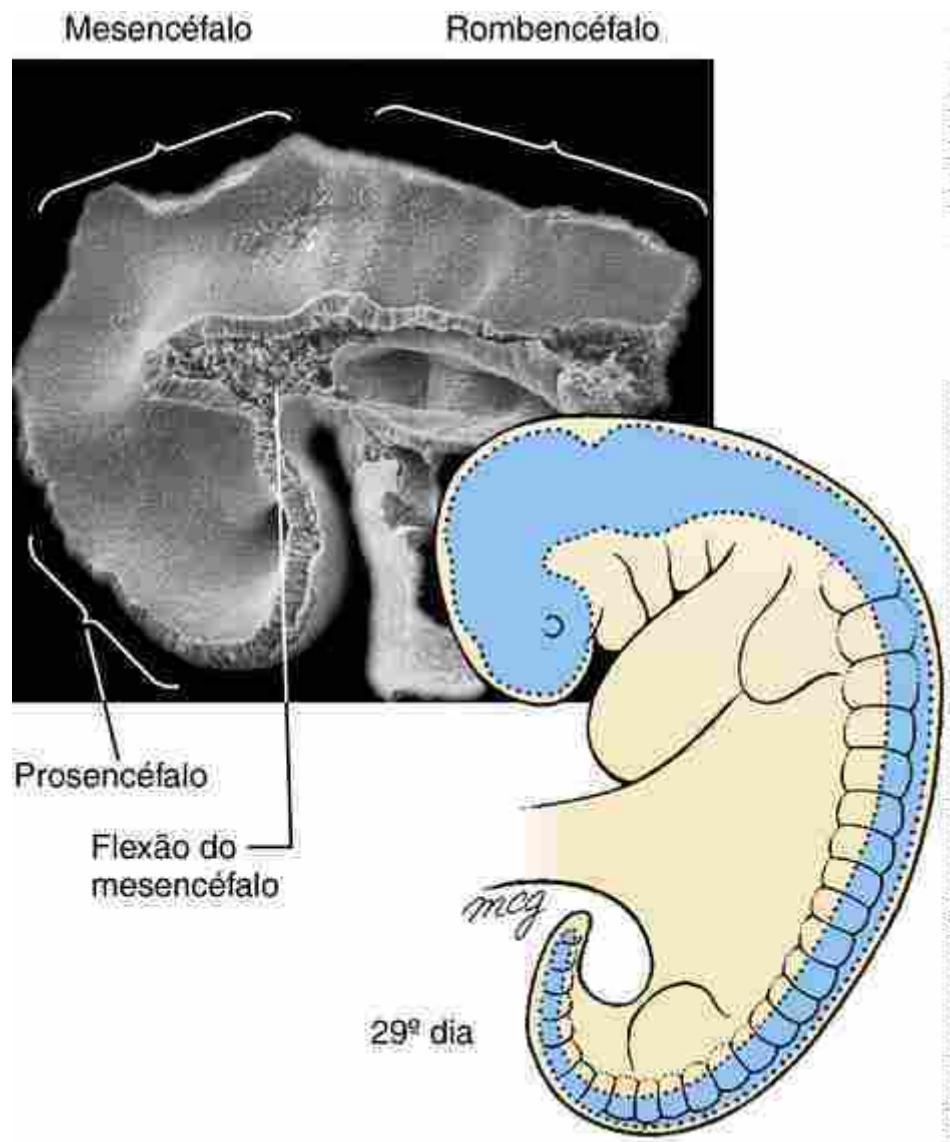


FIGURA 4-17 O rudimento do sistema nervoso central, o tubo neural, é formado por volta do fim da 4^a semana. Mesmo neste estágio inicial, as vesículas primárias do cérebro podem ser identificadas. Note a curvatura ventral acentuada do tubo neural, a flexão do mesencéfalo, o qual separa o prosencéfalo do mesencéfalo.

Células da crista neural

As células da crista neural originam-se durante a neurulação

As **células da crista neural** surgem como uma população única na parte dorsal do tubo neural durante a neurulação. Essas células sofrem uma **transformação epitelial-para-mesenquimal** (veja a seção “No Laboratório de Pesquisa” intitulada “Transformação Epitelial-para-mesenquimal”) e se separam do tubo neural (Fig. 4-18). Em seguida, elas migram para vários locais específicos no corpo, onde se diferenciam em uma notável variedade de estruturas.

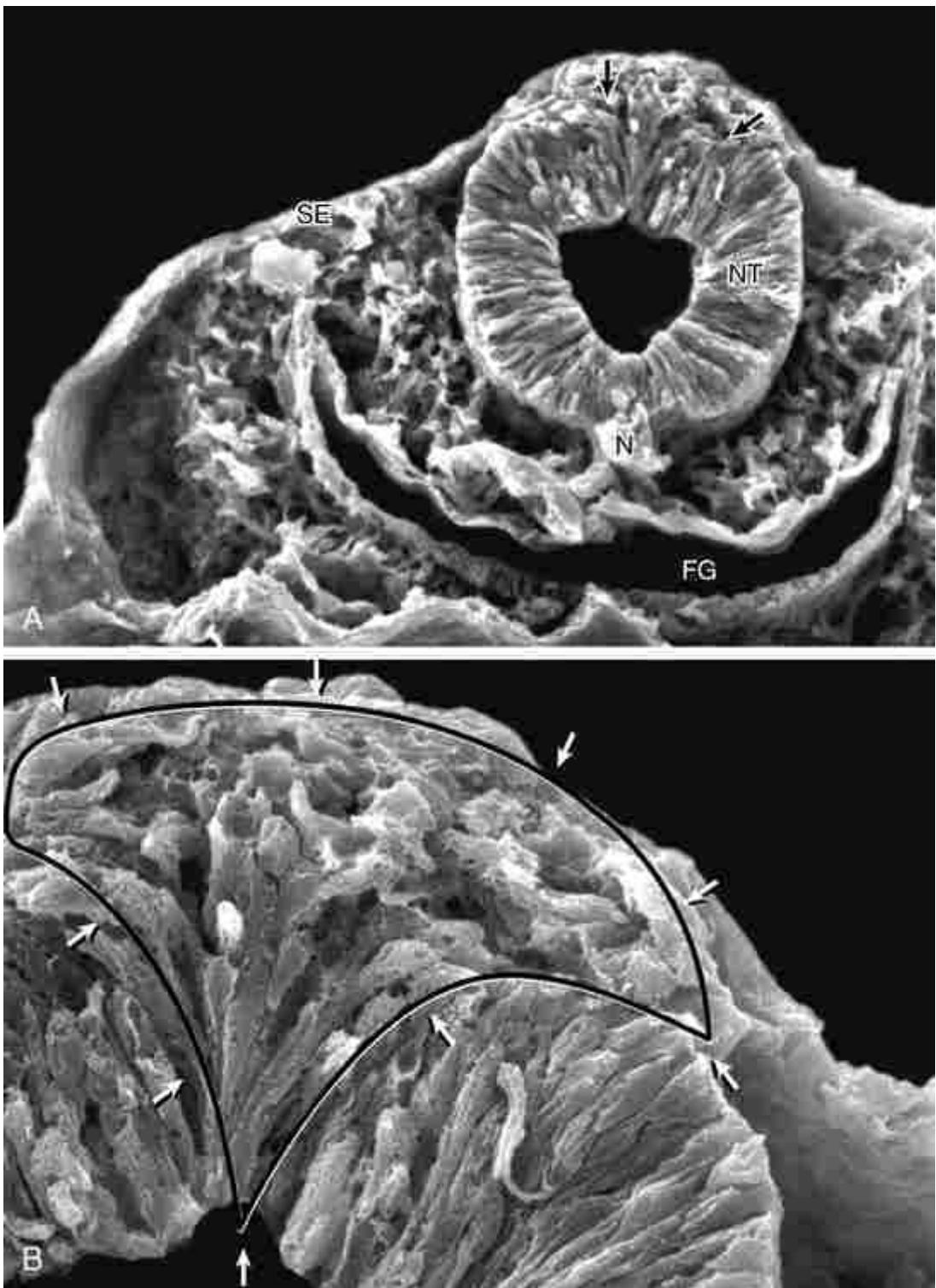


FIGURA 4-18 Microscopia eletrônica de varredura de uma fatia transversal através do tubo neural da galinha recém-formado no nível do mesencéfalo. **B.** É uma ampliação da formação das células da crista neural da região mostrada em **A**. FG, intestino anterior; N, notocorda; NT, tubo neural; SE, ectoderma cutâneo; as setas e a região delineada demarcam a formação e a migração das células da crista neural.

As células da crista neural primeiro diferenciam-se na zona do mesencéfalo do futuro cérebro. Estas células da crista neural cefálica, ou craniana, associadas ao cérebro em desenvolvimento, começam a se desprender e migrar antes do fechamento do neuroporo craniano, mesmo enquanto as **dobras neurais** ainda estão fundindo-se na linha mediana dorsal. Na porção da medula espinhal do tubo neural, as células da crista neural separam-se após as dobras neurais terem se fundido.

Células da crista neural na extremidade mais caudal do tubo neural são formadas a partir do **cordão medular**, após o fechamento do neuroporo caudal no 26º dia. Assim, a separação e a migração das células da crista neural ocorrem como uma onda no sentido craniocaudal, do mesencéfalo para a extremidade caudal do tubo neural da medula

espinhal.

No Laboratório de Pesquisa

Transformação epitelial para mesenquimal

A formação das células da crista neural envolve uma transformação epitelial-para-mesenquimal (EMT), que não é diferente do que ocorre em células que entram pela linha primitiva (abordado no [Cap. 3](#)). Consequentemente, alguns mesmos personagens moleculares funcionam em ambos os eventos. A separação entre a crista neural e a dobra neural é denominada **delaminação** das células da crista neural. Três fatores-chave são conhecidos por promoverem a delaminação das células da crista neural: FoxD3, um fator de transcrição da família *winged-helix*; snail2 (anteriormente denominado *slug*), um fator de transcrição *zinc-finger* e Bmp2/4. A superexpressão de FoxD3 promove delaminação das células da crista neural em todos os níveis do eixo, mostrando que ele é suficiente para a delaminação. FoxD3 promove delaminação sem aumentar a expressão de snail2 (ou RhoB; abordado num instante), sugerindo que FoxD3 atua em paralelo com os outros fatores (nem antes nem depois deles). A superexpressão de snail2 também promove a delaminação das células da crista neural, mas apenas na região do crânio, não na região do tronco. O motivo pelo qual snail2 é ativo induzindo a delaminação das células da crista neural apenas cranialmente é desconhecido, mas esta experiência mostra que snail2 é suficiente por si só para promover a delaminação das células da crista neural craniana. A sinalização pelo Bmp é necessária para a delaminação das células da crista neural, pois a superexpressão do antagonista do Bmp, o noggin, bloqueia a delaminação. Como resultado da sinalização por Bmp, as células da crista neural expressam RhoB, uma pequena proteína ligante de GTP implicada na montagem do citoesqueleto de actina. As alterações do citoesqueleto são provavelmente necessárias tanto para as alterações no formato das células, que acompanha a transformação epitelial-para-mesenquimal, mas também, subsequentemente, para a migração das células da crista neural.

Células da crista neural migram extensamente por vias bem definidas

A migração das células da crista neural de diversos níveis do eixo craniocaudal das dobras neurais e do teto do tubo neural tem sido mapeada por estudos com traçadores celulares em modelos animais. Estes estudos revelam que as células da crista neural sofrem extensa migração por todo o corpo e, em seguida, diferenciam-se em uma grande variedade de tipos de células diferentes. A migração ocorre por caminhos ou rotas bem definidas ([Fig. 4-19](#)). A rota de uma determinada célula da crista neural e o ponto onde ela para de migrar ao longo dessa rota determinam, em parte, qual tipo de célula ela será. Além disso, as células da crista neural craniana (cérebro) e as mais caudais (medula espinhal) dão origem a alguns tipos celulares idênticos (como neurônios), mas também originam alguns tipos celulares diferentes (p. ex., apenas as células da crista neural craniana formam cartilagem e osso). A diferenciação das células da crista neural é abordada mais detalhadamente em capítulos posteriores (p. ex., nos [Caps. 10, 12, 14 e 17](#)).

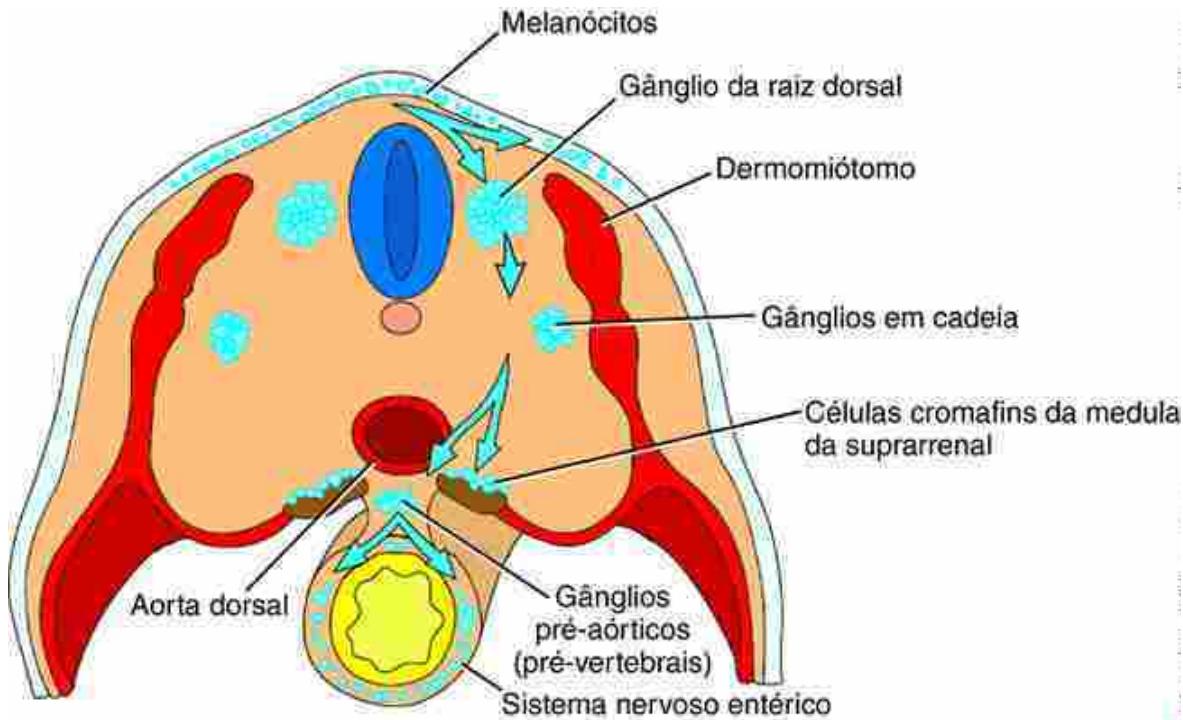


FIGURA 4-19 Rotas de migração das células da crista neural.

No Laboratório de Pesquisa

Quais fatores locais guiam a migração das células da crista neural?

As vias de migração das células da crista neural são estabelecidas por **moléculas da matriz extracelular**, que podem ser permissivas para a migração e, consequentemente, determinar a via, assim como podem ser moléculas inibitórias para a migração e, portanto, determinar os limites da via. Por exemplo, as células da crista neural migram apenas pela metade craniana do somito e não passam pela metade caudal. Desta maneira, elas estabelecem o padrão segmentado do sistema nervoso periférico (abordados no [Cap. 10](#)). Provavelmente, não é uma molécula individual que determina a via. As **moléculas permissivas** na parte cranial do somito incluem as proteínas da membrana basal: tenascina, fibronectina, laminina e colágeno, para citar alguns. As **moléculas inibidoras** da parte caudal do somito são os proteoglicanos, moléculas ligantes de PNA (ou seja, moléculas que ligam especificamente a lectina do amendoim, aglutininas), F-spondin (uma proteína produzida e secretada pela placa do chão do tubo neural) e efrinas (proteínas ligadas à membrana que interagem com a tirosina cinase Eph; Eph e efrinas são abordados no [Cap. 5](#)). Além de moléculas permissivas, também há **moléculas quimiotáticas** que atraem células da crista neural e **moléculas quimiotáticas negativas** que repelem a crista a uma distância. Gdnf (fator neurotrópico derivado da linhagem celular glial) e neuregulina são exemplos do primeiro tipo, ao passo que semaforinas e *slits* são exemplos deste último (discutido no [Cap. 10](#)). Várias abordagens nos têm permitido determinar quais sinais orientam a crista. Entre eles estão o uso de camundongos mutantes (abordados na próxima seção), estudos *in vitro* para determinar diretamente a habilidade da matriz extracelular ou da resposta quimiotática e estudos de perturbação do embrião. Determinar quais moléculas guiam a crista tem sido difícil por causa da redundância molecular.

Aprendemos recentemente que nem todas as subpopulações de células da crista neural respondem da mesma forma a esses sinais locais. Por exemplo, células da crista neural que estão se diferenciando em neurônios ou células gliais são inibidas pelas efrinas, enquanto os melanoblastos (células derivadas da crista neural que estão se diferenciando em melanócitos, ou seja, células de pigmento) são estimulados a migrar em efrinas. Assim, melanoblastos são capazes de migrar por caminhos onde neurônios e células gliais não podem ir. Do mesmo modo, células da crista neural do tronco são rechaçadas pelo *slit*, que é expresso no mesênquima intestinal, mantendo-as fora do intestino, enquanto as células da crista neural vagal, que não têm o receptor de *slit*, são, portanto, capazes de migrar para o intestino e formar o **sistema nervoso entérico** (abordado mais adiante neste capítulo e no [Cap. 10](#)). Cada vez mais estamos descobrindo que diferentes subpopulações de células da crista neural são especificadas no início de sua migração e respondem diferencialmente às pistas do microambiente.

Mutantes fornecem informações sobre o mecanismo da migração das células da crista neural e da restrição do desenvolvimento

Foram descritos diversos camundongos mutantes caracterizados com defeitos no desenvolvimento das células da crista neural. Algumas dessas mutações afetam a atividade proliferativa das populações de células-tronco da crista neural, enquanto outras são caracterizadas por defeitos regionais na pigmentação, inervação do intestino ou defeitos no desenvolvimento das células da crista neural craniana.

Um grupo interessante de camundongos mutantes afetados na migração das células da crista neural são denominados mutantes *white-spotting* e *steel*. O lócus *white-spotting* é um proto-oncogene que codifica um receptor c-kit do tipo tirosina cinase (receptor c-kit), enquanto o lócus do *steel* codifica o ligante para este receptor, o ligante c-kit. Como esperado, mutações nesses genes produzem um espectro similar de anomalias, especificamente que envolvem a migração das células-tronco embrionárias. Por exemplo, nas graves mutações em qualquer um desses lóculos, **células germinativas primordiais** falham em povoar as gônadas, o que resulta em esterilidade (abordados no [Cap. 16](#)), e **células-tronco hematopoiéticas** deixam de migrar do saco vitelínico para o fígado, resultando em graves deficiências na formação do sangue (abordado no [Cap. 13](#)). Mutações menos graves podem resultar em esterilidade diferenciada para masculino ou feminino e perda seletiva de certas células progenitoras hematopoiéticas. Além das perturbações no desenvolvimento das células germinativas e sanguíneas, esses mutantes exibem um espectro de defeitos de pigmentação, sugerindo um efeito em outra população de células embrionárias que migram, as células da crista neural precursoras dos melanócitos.

Parece mais provável que o ligante c-kit seja um fator trófico mais necessário para a sobrevivência dos pré-melanócitos do que para o início da sua diferenciação e migração. Tem sido sugerido que o ligante c-kit possa regular a expressão do seu receptor c-kit nos precursores de melanócito da crista neural, e que o ligante e o receptor c-kit podem regular juntos a aderência dessas células na matriz extracelular. Assim, parece que o ligante c-kit deve ser expresso pelas células de toda a rota de migração do melanócito e no seu destino final, enquanto o receptor c-kit deve ser expresso pelos próprios pré-melanócitos. Uma **forma solúvel** do ligante c-kit é aparentemente necessária para a sobrevivência inicial dos pré-melanócitos em uma **área de estágio da migração** entre o somito, o ectoderma cutâneo e o tubo neural. Por outro lado, a expressão da **forma associada à membrana** do ligante c-kit parece ser necessária mais tarde, promovendo a sobrevivência dos pré-melanócitos dentro da derme.

Um arranjo hierarquizado de genes adicionais que afetam mecanismos específicos da diferenciação, migração e sobrevivência das células da crista neural de camundongos foi descrito nos últimos anos. A mutação *patch* afeta a subunidade alfa do fator de crescimento derivado de plaquetas (*Pdgf_{2a}*), interrompendo o desenvolvimento dos derivados não neuronais das células da crista neural. Mutações que anulam os genes que codificam proteínas receptoras para o ácido retinoico resultam em defeitos na septação do trato da via de saída do coração (abordado no [Cap. 12](#); a septação do trato de saída requer a existência de células da crista neural, como abordado a seguir). Camundongos que abrigam a mutação *kreisler* apresentam ampla variedade de defeitos craniofaciais causados pela expressão anormal de vários genes Hox e, consequentemente, ocorre a interrupção no desenvolvimento das células da crista neural. Portanto, genes Hox desempenham, aparentemente, papéis cruciais nas cascatas de sinalização que regulam a diferenciação e a migração das células da crista neural craniana (abordada no [Cap. 17](#)).

Células da crista neural têm diversos derivados

Células da crista neural são tradicionalmente agrupadas em quatro subdivisões no eixo craniocaudal, com base em suas contribuições regionais específicas para as estruturas do embrião ([Fig. 4-20](#)): cranial (da região caudal do prosencéfalo até o nível do sexto rombômero do mielencéfalo; rombômeros são abordados no [Cap. 9](#)); vagal (no nível dos somitos 1 a 7; a parte cranial do nível vagal sobrepõe-se com a porção caudal do nível cranial, pois os primeiros somitos formam-se adjacentes ao romboencéfalo e não à medula espinhal); tronco (no nível dos somitos 8 a 28); e sacral/lombossacral (no nível do somito 28 até a cauda). Cada uma dessas subdivisões é abordada mais adiante.

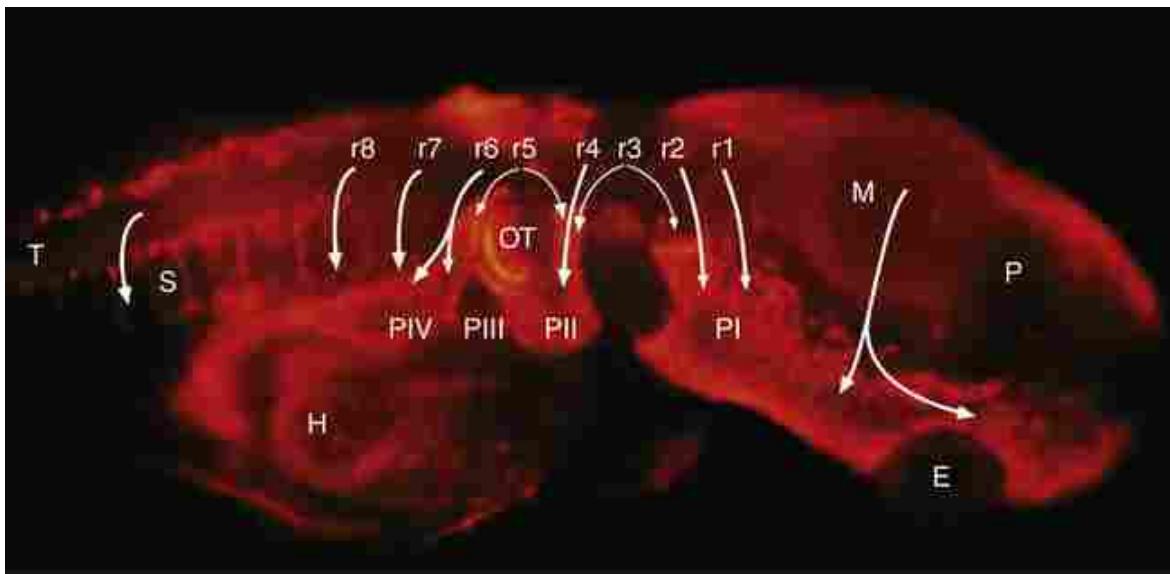


FIGURA 4-20 Cabeça de um embrião de galinha marcada (vermelho) com um anticorpo específico para células da crista neural (HNK-1). As setas mostram rotas migratórias das células da crista neural. E, olho; H, coração; M, mesencéfalo; OT, vesícula ótica; P, prosencéfalo; PI-PIV, arcos faríngeos I a IV; r1-r8, rombômeros 1-8; S, somito; T, tronco (no nível da medula espinhal).

Células da Crista Neural Craniana

Células da crista neural na região caudal do prosencéfalo (cérebro anterior) e no mesencéfalo (cérebro médio) dão origem ao gânglio parassimpático do nervo craniano III, uma porção do tecido conjuntivo em torno dos olhos e nervos ópticos em desenvolvimento, os músculos da íris e do corpo ciliar e parte da córnea do olho. As células da crista neural craniana e o mesoderma também contribuem com o mesênquima cranial no nível do mesencéfalo (abordado nos Caps. 10 e 17).

Células da crista neural das regiões do mesencéfalo e rombencéfalo (cérebro posterior) também originam as estruturas dos **arcos faríngeos** em desenvolvimento na cabeça e no pescoço (abordados no Cap. 17). Essas estruturas incluem os elementos cartilaginosos e diversos ossos do nariz, da face, do ouvido médio e do pescoço. As células da crista neural do mesencéfalo e do rombencéfalo formam a derme, o músculo liso, a gordura da face e do ventre do pescoço e os odontoblastos dos dentes em desenvolvimento. As células da crista neural que surgem na porção mais caudal do rombencéfalo contribuem, juntamente com células da crista neural vagal (discutido adiante), para a formação das **células parafoliculares da tireoide**.

As células da crista neural rombencefálicas contribuem também para a formação de alguns gânglios nervosos cranianos. Mais especificamente, as células rombencefálicas da crista neural originam alguns neurônios e todas as células gliais nos gânglios sensoriais dos nervos cranianos V, VII, IX e X (Fig. 4-21). Os demais neurônios dos gânglios sensoriais dos nervos cranianos V, VII, IX e X surgem de pequenos placoides ectodérmicos denominados **placoides epibranchiais** ou **epifaringeais**. Os nervos sensoriais especiais, a glia associada e os gânglios (quando presentes) também surgem dos placoides (descritos nos Caps. 17 a 19). O nervo craniano I (olfativo) surge a partir do placoide olfativo. O nervo craniano II (óptico) surge a partir do **cálice óptico** (a extremidade distal que engrossa e forma o rudimento do tipo placoide da retina); e o nervo craniano VIII (nervo vestibulococlear) e o gânglio vestibulococlear surgem do **placoide óptico**.

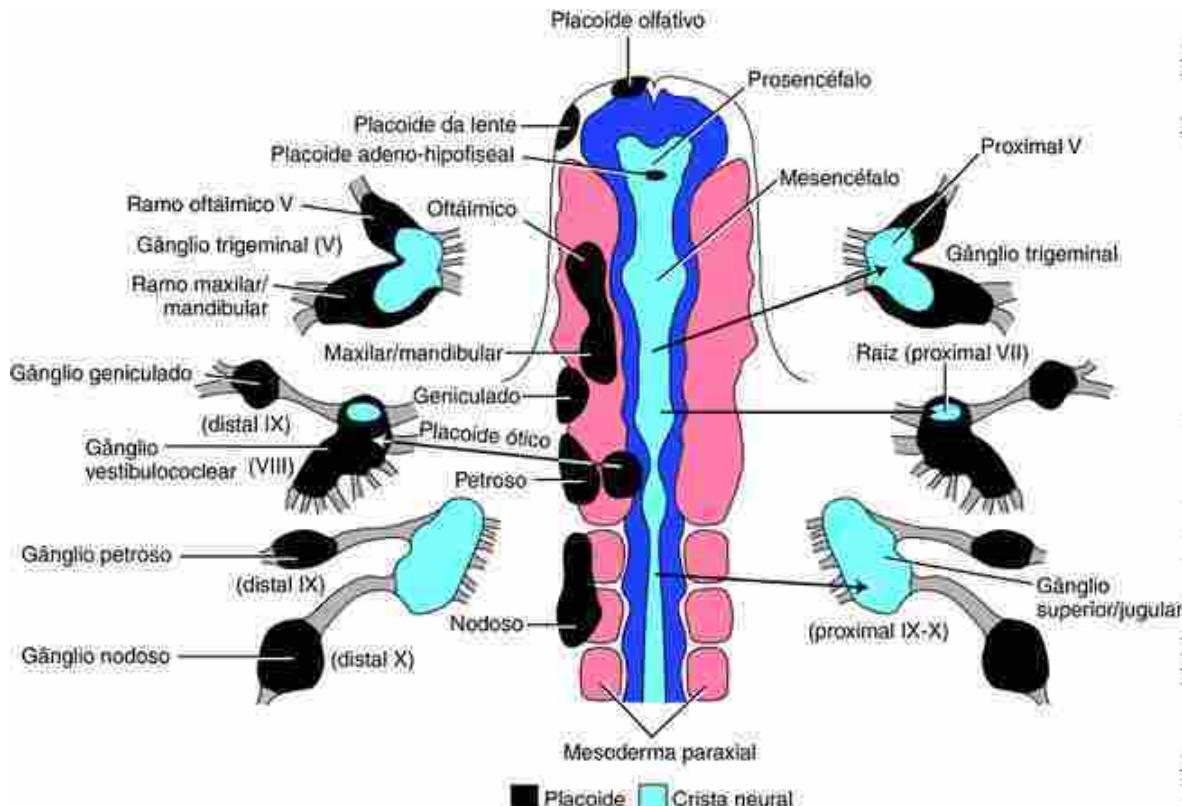


FIGURA 4-21 Mapa do destino mostrando as contribuições dos placoides (esquerda; preto) e das células da crista neural (centro; azul-claro) para os gânglios sensoriais cranianos. Note que em gânglios derivados tanto das células da crista neural quanto dos placoides epifaringeais, os gânglio proximais (mais dorsais; e os corpos celulares de neurônios) derivam das células da crista neural. Os gânglios distais (mais ventrais; e os corpos celulares neuronais) são derivados dos placoides. As células da glia, tanto em gânglios proximais quanto em distais, de origem mista, derivam exclusivamente das células da crista neural. Os nervos sensoriais especiais e as células gliais associadas (e gânglios, quando presentes) são derivados de outros placoides, ou seja, o olfativo, o óptico e o cálice óptico (derivados de uma porção da parte do cérebro anterior, adjacente ao placoide da lente).

As células da crista neural rombencefálica também originam os componentes craniais da parte parassimpática do sistema nervoso autônomo (discutida mais adiante). Especificamente, as células rombencefálicas da crista neural originam todos os neurônios (chamados neurônios pós-ganglionares; os neurônios pré-ganglionares surgem na placa basal do tubo neural, como descrito nos [Caps. 9 e 10](#)) e células gliais dos gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos VII, IX e X. Assim, em conjunto com as células da crista neural derivadas da região caudal do prosencéfalo e do mesencéfalo (que originam os gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos III), todos os componentes craniais da parte parassimpática do sistema nervoso autônomo são formados a partir das células da crista neural craniana.

Células da crista neural craniana também originam outros tipos celulares que povoam a cabeça e o pescoço. Elas formam a pia-máter e a aracnoide da região occipital, que são as meninges interna e média, respectivamente. A duramáter, a camada mais externa das três meninges, surge em grande parte ou exclusivamente do mesoderma da cabeça (paraxial). Além disso, algumas células da crista neural craniana invadem o ectoderma cutâneo, conforme migram para fora do tubo neural para formar os melanócitos (células com pigmento) da pele da cabeça e do pescoço.

Células da Crista Neural Vagal

As células neurais originadas na região vagal têm três contribuições principais. Algumas dessas células da crista neural migram para o polo craniano do coração em desenvolvimento, onde contribuem para a formação do septo (aorticopulmonar), que divide o trato de saída do coração (abordado no [Cap. 12](#)). Outras células da crista neural vagal migram mais distalmente para formar neurônios no mesênquima da parede do intestino e, assim, formar o sistema nervoso entérico, que inerva todas as regiões do tubo digestivo, do esôfago ao reto (abordado posteriormente, no [Cap. 14](#)). Existem ainda outras células da crista neural vagal que migram com as da região caudal do rombencéfalo (abordado anteriormente) para as bolsas faríngeas, onde contribuem para a formação das células parafoliculares da tireoide (abordada no [Cap. 17](#)).

Células-tronco da Crista Neural

O sistema nervoso periférico do pescoço, tronco e dos membros inclui os quatro seguintes tipos de neurônios

periféricos: os neurônios sensoriais periféricos, cujos corpos celulares residem nos gânglios da raiz dorsal; os neurônios motores periféricos autônomos simpático e parassimpático, cujos corpos celulares residem, respectivamente, nos gânglios simpáticos e parassimpáticos; e os neurônios entéricos, considerado uma terceira subdivisão do sistema nervoso autônomo. Todos os quatro tipos de neurônios periféricos e mais a glia associada são derivados das células da crista neural. Os parágrafos seguintes descrevem a origem dessas estruturas, e seu desenvolvimento subsequente é abordado no [Capítulo 10](#).

Algumas células da crista neural que surgem no tubo neural do tronco agregam-se lateralmente ao tubo neural, onde formam pequenos aglomerados em associação com os somitos ([Fig. 4-22](#); também [Fig. 4-19](#)). Esses aglomerados, em seguida, diferenciam-se em segmentos de **gânglios da raiz dorsal** dos nervos espinais, que abrigam os neurônios sensitivos que conduzem os impulsos para a medula espinhal a partir da extremidade dos órgãos, vísceras, parede do corpo e das extremidades. Experimentos de mapeamento do destino celular demonstram que a maioria das células em cada gânglio é derivada do tubo neural no nível correspondente, embora muitas originem-se de células da crista neural nos níveis craneais e caudais adjacentes.

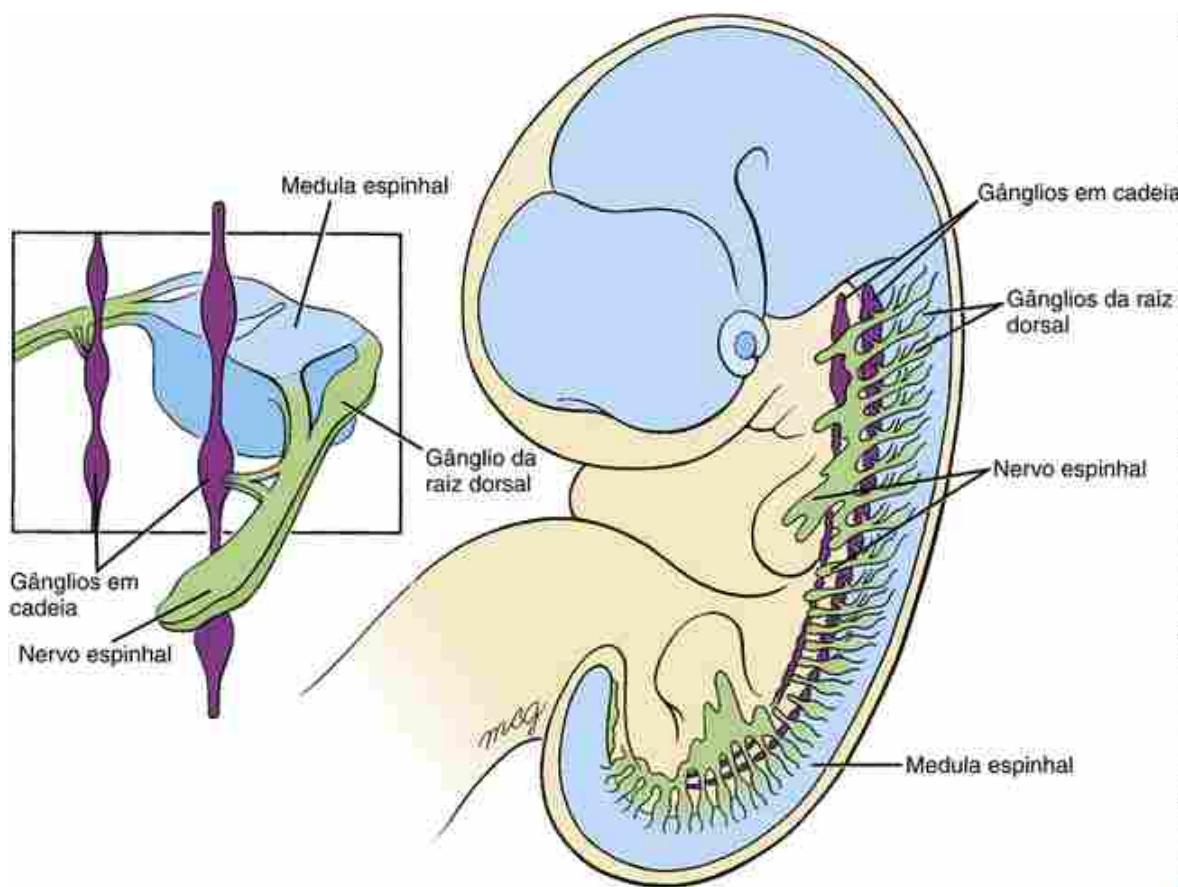


FIGURA 4-22 Células da crista neural de dois tipos de gânglios que estão segmentados ao longo de quase todo o comprimento da medula espinhal: gânglios da raiz dorsal e gânglios em cadeia.

Um par de gânglios da raiz dorsal desenvolve-se em cada segmento de todos os níveis, exceto no nível do 1º cervical e nos níveis do 2º e 3º coccigeais ([Fig. 4-22](#)). Assim, existem 7 pares de cervicais, 12 pares de torácicos, 5 pares de lombares, 5 pares de sacral e 1 par de gânglios da raiz dorsal coccigeal. O par mais cranial de gânglios da raiz dorsal cervical (adjacente ao segundo somito cervical) forma-se no 28º dia, e os outros aparecem em sequência, no sentido craniocaudal, ao longo dos próximos dias.

Algumas células da crista neural do tronco migram para uma zona logo ventral ao futuro gânglio da raiz dorsal e lá fazem uma série de condensações para o desenvolvimento do **gânglio em cadeia**, a divisão simpática do sistema nervoso autônomo ([Figs. 4-19](#) e [4-22](#)). Nas regiões torácica, lombar e sacral, um par de gânglios em cadeia forma-se em associação com cada par de somitos. No entanto, na região cervical, apenas três grandes gânglios em cadeia desenvolvem-se e a região coccigeal apresenta apenas um único gânglio em cadeia, que se forma no primeiro nível coccigeal. Experimentos de mapeamento indicam que as células da crista neural que originam os gânglios em cadeias cervicais surgem ao longo do tubo neural cervical, enquanto os gânglios torácicos, lombares e sacrais são formados por células da crista dos seus respectivos níveis do tubo neural.

Os neurônios que se desenvolvem em gânglios em cadeia tornam-se neurônios periféricos (pós-ganglionares) da **divisão simpática do sistema nervoso autônomo**. A parte simpática promove a inervação do motor autônomo para as vísceras e exerce controle sobre as funções involuntárias, como o batimento do coração, a produção de secreções glandulares e movimentos intestinais. A divisão simpática é ativada durante as condições de “luta ou fuga” e este sistema é composto por vias de dois neurônios: as vísceras são inervadas pelos axônios dos neurônios simpáticos periféricos (cujos corpos celulares se desenvolvem nos gânglios em cadeia, ou nos outros gânglios descritos no próximo parágrafo), os quais, por sua vez, recebem os axônios dos neurônios motores simpáticos centrais, que surgem na medula espinhal. Esses neurônios motores simpáticos do sistema nervoso central estão localizados em todos os 12 níveis torácicos e nos três primeiros níveis lombares. Por esse motivo, a divisão simpática (central e periférica) é denominada **sistema toracolumbar**.

Nem todos os neurônios periféricos simpáticos (pós-ganglionares) estão localizados nos gânglios em cadeia. Os gânglios periféricos de algumas vias simpáticas especializadas desenvolvem-se a partir das células da crista neural que se aglomeraram próximo aos principais ramos da aorta dorsal ([Fig. 4-19](#); abordado no [Cap. 10](#)). Por exemplo, um par desses **gânglios pré-aorticos** ou **pré-vertebrais** forma-se na base da artéria celíaca. Outros gânglios mais difusos desenvolvem-se em associação com a artéria mesentérica superior, com as artérias renais e com a artéria mesentérica inferior. Esses são formados por células da crista neural torácicas e lombares.

A **divisão parassimpática do sistema nervoso autônomo** inerva as mesmas estruturas inervadas pela divisão simpática do sistema nervoso autônomo. Ele também consiste em vias de dois neurônios (periférico e central). Os neurônios periféricos parassimpáticos (pós-ganglionares) surgem de células da crista neural que formam gânglios. Como citado anteriormente, alguns desses gânglios estão associados a quatro nervos cranianos: III, VII, IX e X. Outros desses gânglios surgem de células da crista neural originárias da região lombossacral (discutido mais adiante). Essas células da crista neural migram mais distalmente para formar os **gânglios parassimpáticos (terminais)**, tipicamente localizados próximo ou na parede das vísceras que inervam. Assim, o sistema nervoso autônomo parassimpático tem origem craniossacral. A divisão parassimpática fica ativa durante os períodos de “paz e relaxamento” e estimula os órgãos viscerais a desempenhar as suas funções rotineiras de manutenção e digestão; assim, a função da divisão parassimpática é oposta à da divisão simpática.

O **sistema nervoso entérico** deriva das células da crista neural provenientes tanto da região lombossacral quanto da vagal. Como discutido anteriormente, as células da crista neural vagal migram para dentro da parede do tubo intestinal para inervar todas as regiões do tubo, desde o esôfago até o reto. Elas invadem o tubo intestinal em uma onda de cranial para caudal. De forma similar, as células da crista neural lombossacral invadem em onda o tubo intestinal, mas o fazem no sentido caudal para cranial. Assim, a porção terminal do intestino apresenta uma dupla inervação, com seu sistema nervoso entérico originando-se tanto das células da crista neural vagal quanto da lombossacral ([Fig. 4-23](#)).

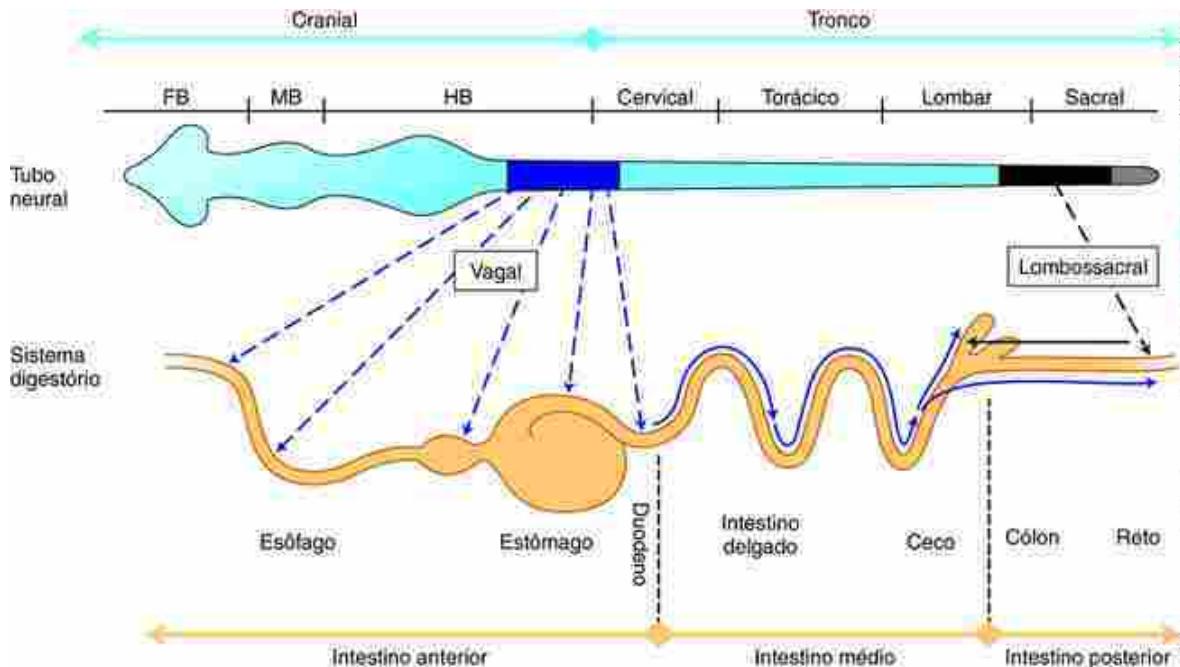


FIGURA 4-23 As células da crista neural invadem o intestino em desenvolvimento através de duas ondas e formam o sistema nervoso entérico. Todo o comprimento do intestino recebe contribuições de células da crista neural vagal, que invadem o intestino em uma sequência craniocaudal. A parte terminal (caudal) do intestino também é invadida por células da crista neural lombossacral, que colonizam o intestino em uma sequência caudal-cranial.

Além de formarem neurônio e glia, as células da crista neural do tronco formam uma variedade de outros tipos celulares. Incluem-se aqui os revestimentos meningeais interno e médio da medula espinhal (pia-máter e aracnoide); as células de Schwann, que formam a bainha de mielina (neurilema) dos nervos periféricos e as células cromafins neurosescretoras da medula da suprarrenal. Assim como as células da crista neural craniana, as células da crista neural do tronco invadem o ectoderma cutâneo conforme distanciam-se do tubo neural e formam os melanócitos da pele do tronco e dos membros.

Células da Crista Neural Sacral/Lombossacral

Como discutido anteriormente, na região mais posterior do trato digestivo o sistema nervoso entérico tem uma dupla origem: alguns neurônios entéricos surgem das células da crista neural vagal, enquanto outros originam-se das células da crista neural lombossacral. Essas células da crista neural caudal têm origem, aparentemente, tanto na porção primária quanto na secundária do tubo neural. Sua importância na inervação do intestino é exemplificada pela doença de Hirschsprung (megacolo congênito), que acontece quando as células da crista neural lombossacral não conseguem inervar a porção terminal do cólon, resultando em deficiências na motilidade intestinal (a doença de Hirschsprung é abordada no Cap. 14).

Como indicado anteriormente, as células da crista neural formam vários tipos celulares. Muitas das principais estruturas derivadas das células da crista neural craniana e do tronco estão resumidas na Figura 4-24. Outras contribuições para as estruturas derivadas das bolsas faríngeas e as estruturas associadas são abordadas no Capítulo 17.

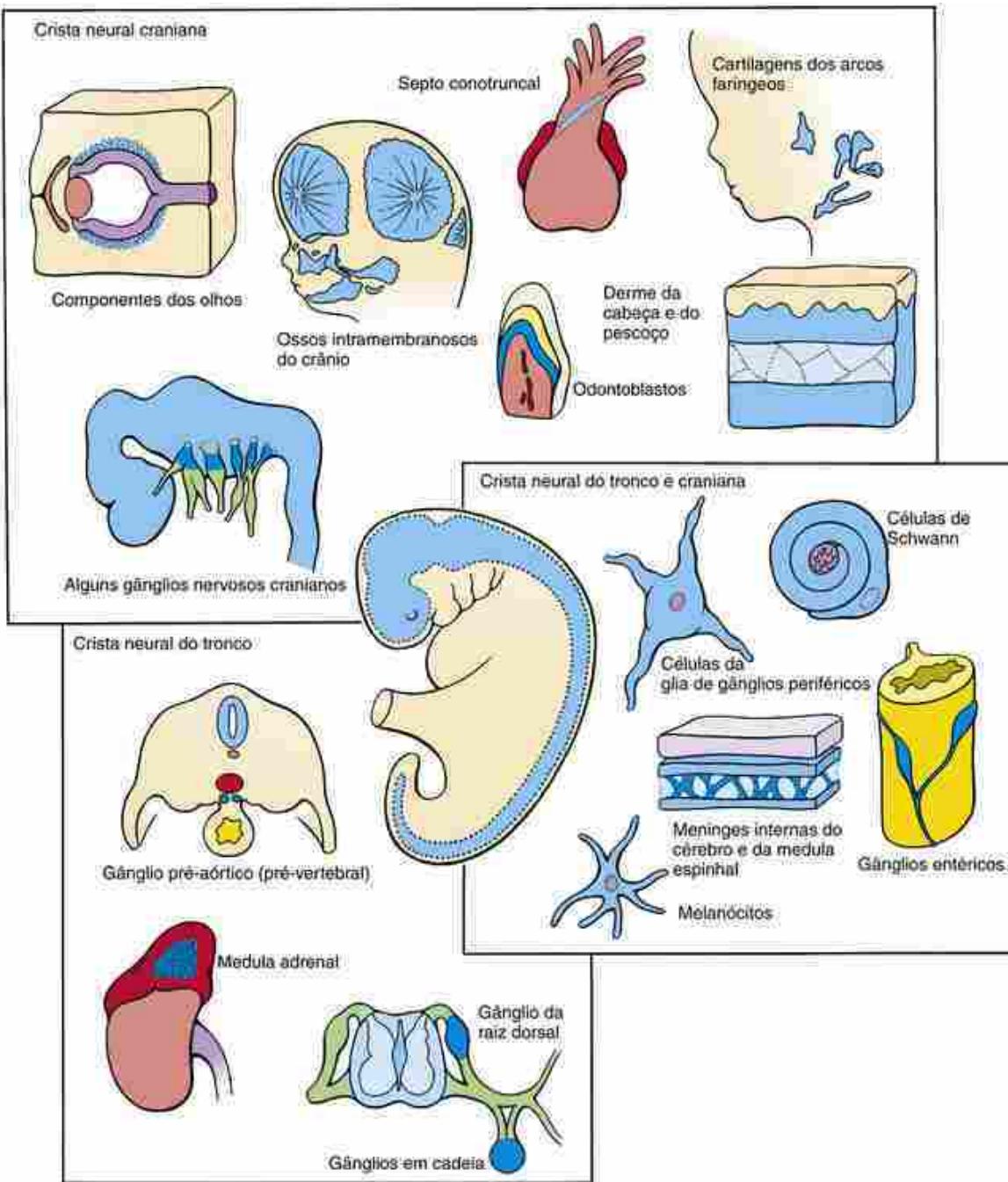


FIGURA 4-24 As células da crista neural que migram de ambas as regiões, cranial e tronco, do tubo neural dão origem a uma variedade de tecidos no embrião.

No Laboratório de Pesquisa

Sobrevida e diferenciação dos neurônios periféricos

Estudos experimentais têm demonstrado que a sobrevida e a diferenciação dos neurônios periféricos dependem da presença de pequenos fatores de crescimento denominados **neurotrofinas**. Para as células do gânglio da raiz dorsal, são necessários o fator de crescimento de nervo (Ngf), Neurotrophin-3 (Nt-3) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (Bdnf), secretados pelo tubo neural e por uma subdivisão do somito, o dermomiótomo (abordados mais adiante neste capítulo). Assim, os gânglios da raiz dorsal são praticamente ausentes em camundongos sem os genes Ngf, receptor de Ngf ou Nt-3. Da mesma forma, a sobrevida e a diferenciação das células simpáticas dos gânglios em cadeia dependem do Ngf e Nt-3, bem como de fatores de crescimento, como o fator de crescimento do tipo insulina (Igf).

Na Clínica

Doença das células da crista neural: neurocristopatias

Como as células da crista neural contribuem para uma grande diversidade de estruturas, o desenvolvimento anormal dessas células pode afetar vários sistemas de órgãos. Tais defeitos do desenvolvimento das células da crista neural são conhecidos como **neurocristopatias**, isto é, patologias associadas às estruturas derivadas das células da crista neural. Essas falhas ocorrem nas seguintes condições: **neurofibromatose** (doença de von Recklinghausen; com tumores nos nervos periférico), **Charcot-Marie-Tooth** (uma doença desmielinizante crônica do nervo periférico, em especial o nervo peroneal ou fibular), **Waardenburg tipos I e II** e **albinismo** (defeitos de pigmentação), **feocromocitoma** (tumor de células cromafins da medula da suprarrenal), e **doença de Hirschsprung** (megacôlon congênito; ausência de ineração na parte terminal do cólon), bem como em síndromes, tais como **CHARGE** (coloboma dos olhos, defeitos no coração, atresia de coanas, retardo do crescimento e do desenvolvimento, anomalias genitais e urinárias, anomalias no ouvido e perda de audição). A **síndrome da deleção 22q11.2** (também conhecida como **síndrome de DiGeorge** ou **síndrome velocardiofacial**) afeta o desenvolvimento do crânio, face e sistema cardiovascular. Cada uma dessas neurocristopatias é abordada no capítulo apropriado que abrange o desenvolvimento do órgão afetado.

No Laboratório de Pesquisa

Interações indutivas para a formação de subdivisões no somito

Os experimentos de transplante e ablação de tecidos têm mostrado que as estruturas adjacentes aos somitos em desenvolvimento são responsáveis pela padronização em subdivisões dos somitos. Os sinais da notocorda induzem o esclerótomo, enquanto os sinais do dorso do tubo neural, o ectoderma cutâneo e os mesodermas adjacentes, a placa lateral e o intermediário induzem e padronizam o dermomiótomo ([Fig. 4-27](#)). Experimentos mais recentes com genética molecular começaram a elucidar as moléculas que medeiam essas interações de sinalização. A notocorda (e, posteriormente, a placa do chão do tubo neural), secreta o *sonic hedgehog* (Shh), que, juntamente com a proteína noggin (um inibidor de Bmp), também secretada pela notocorda, é necessária para a indução e manutenção do esclerótomo. Mais especificamente, esses fatores são necessários para a expressão do Pax1, um fator de transcrição da família *paired box*. Pax1 é mutado em vários camundongos mutantes do tipo ondulado, caracterizados por defeitos no corpo vertebral e disco vertebral. Nos camundongos sem o gene Shh, as vértebras não se formam, em parte devido a um aumento da morte celular. O tubo neural dorsal e o ectoderma cutâneo produzem diversos Wnts (Wnt1,-3a, e Wnt4, -6, respectivamente), que induzem os dermomiótomas. A formação do dermomiótomo é marcada pela expressão de outro fator de transcrição da família *paired box*, o Pax3, que é necessário para o desenvolvimento subsequente do dermomiótomo e para a formação do miótomo. A sinalização Wnt6 do ectoderma mantém também as características epiteliais do dermomiótomo. Além disso, o longo alcance da sinalização Shh é necessário para a especificação inicial da parte epaxial do miótomo (definido e discutido mais adiante).

Conforme o dermomiótomo vai se formando, ele vai sendo padronizado pelo gradiente de sinalização do Bmp4. Este gradiente é estabelecido pela secreção de Bmp4 pelo mesoderma da placa lateral e pela ativação de noggin na parte dorsal do somito por fatores secretados pelo dorso do tubo neural (Wnt) e pela notocorda (Shh). Noggin, o inibidor de Bmp, atenua a sinalização Bmp. Assim, um gradiente de sinalização de Bmp ocorre através do dermomiótomo, o que resulta na padronização das células deste rudimento. O desenvolvimento subsequente do somito e de suas subdivisões, incluindo a miogênese, esqueletogênese e ressegmentação, é abordado no [Capítulo 8](#).

Diferenciação do somito: formação do dermomiótomo e do esclerótomo

Conforme abordado no [Capítulo 3](#), o mesoderma paraxial do tronco sofre segmentação e forma os somitos com estrutura epitelial ([Fig. 4-25](#)). Logo em seguida, cada somito reorganiza-se em duas subdivisões: o **dermomiótomo epitelial** (por vezes mencionado na literatura como “dermomiótomo”) e o **esclerótomo mesenquimal** ([Fig. 4-26](#)). Então, a formação do esclerótomo, assim como a entrada de células através da linha primitiva e a formação das células da crista neural, é também outro exemplo de **transformação epitelio-mesenquimal**.

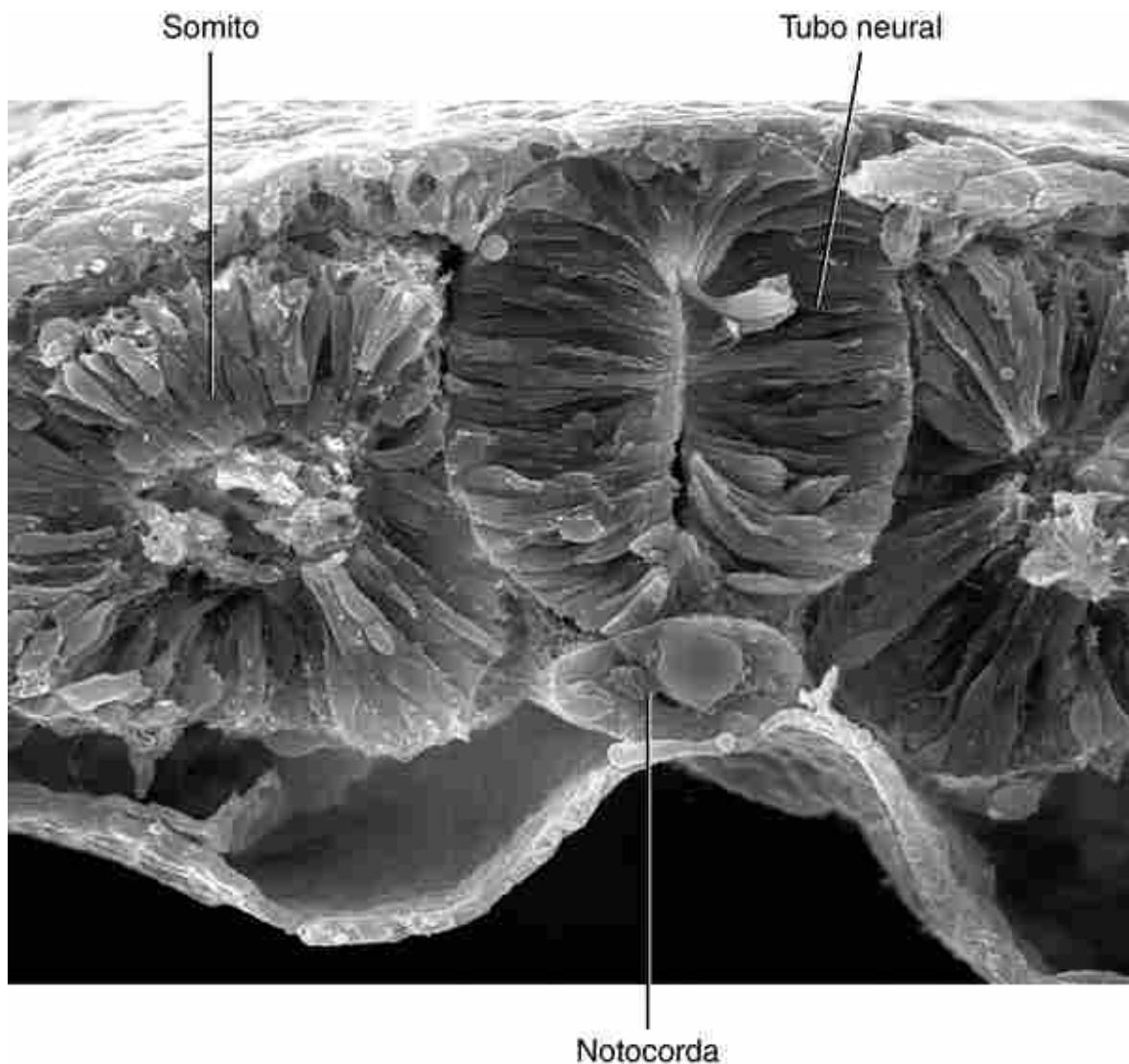


FIGURA 4-25 Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de galinha seccionado transversalmente, mostrando o tubo neural e a notocorda subjacente, ao lado dos somitos epiteliais recém-formados em um dos lados do disco embrionário.

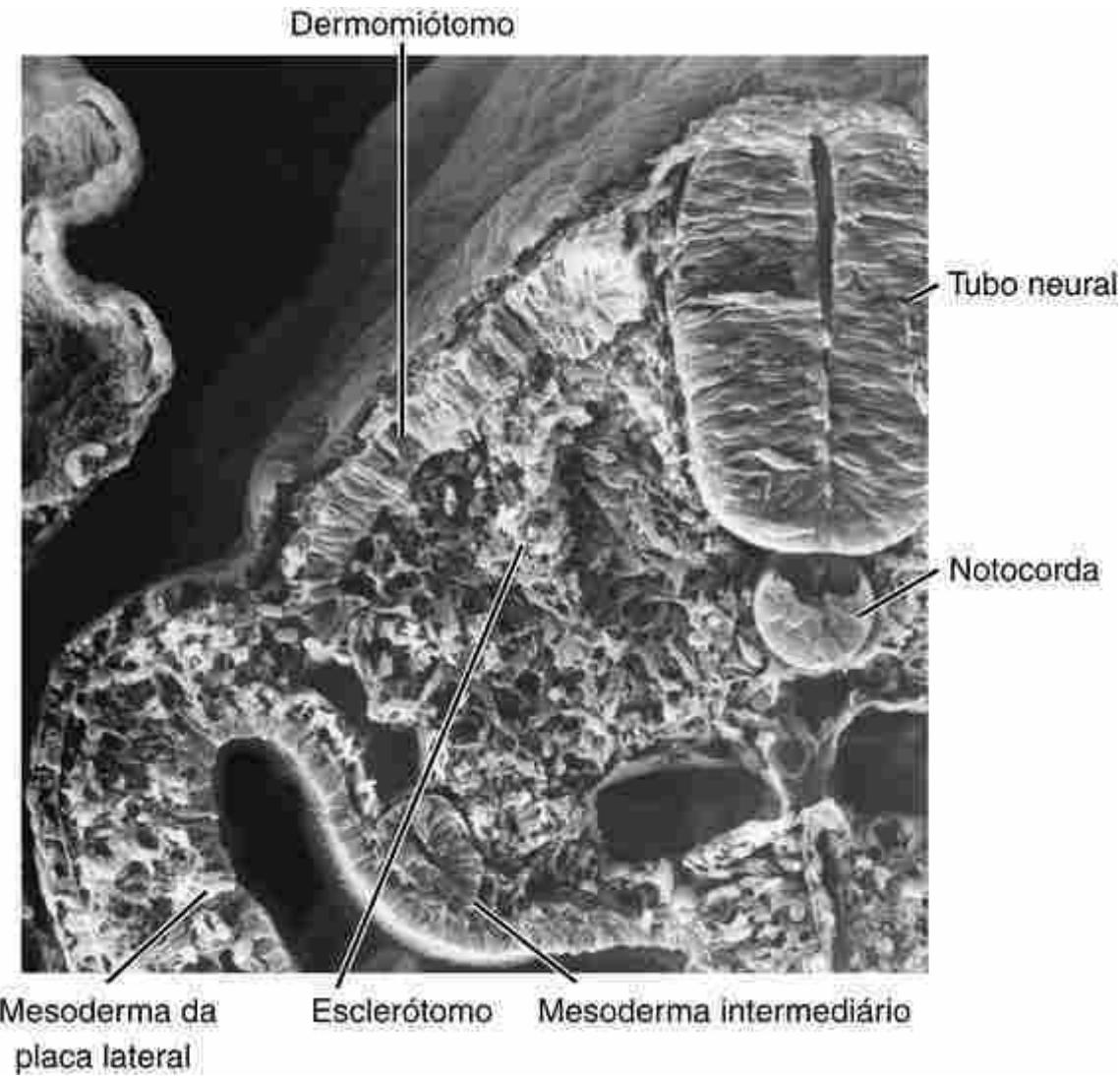


FIGURA 4-26 Micrografia eletrônica de varredura de um embrião de galinha seccionado transversalmente, mostrando o tubo neural e a notocorda subjacente, ao lado dos somitos adjacentes em um dos lados do disco embrionário, subdividido em dermomiótomo e esclerótomo. Note também o mesoderma intermediário e o mesoderma da placa lateral.

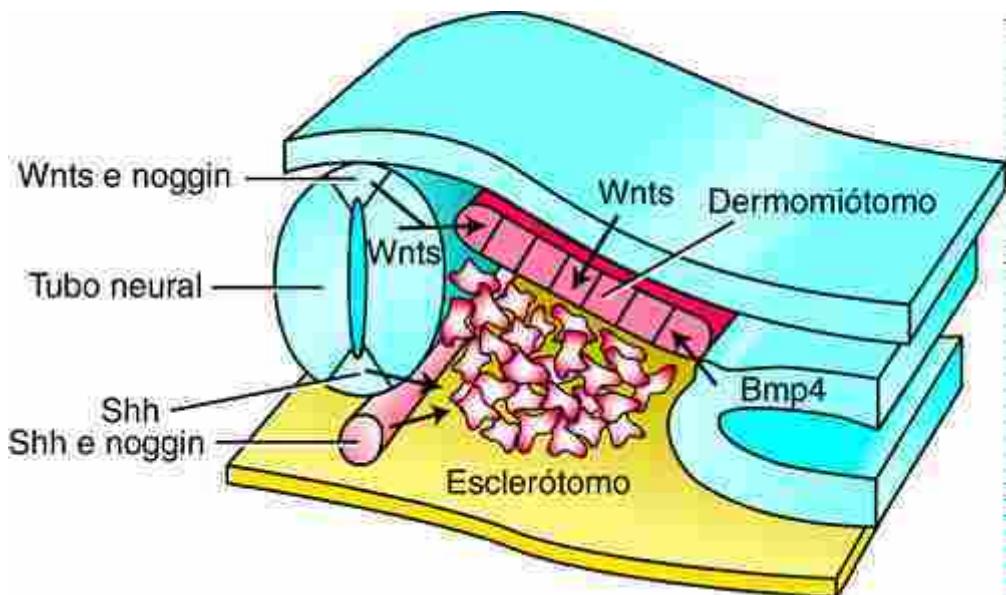


FIGURA 4-27 Interações induktivas envolvidas na formação das subdivisões do somito. As setas indicam a sinalização. Áreas triangulares claras do tubo neural indicam a placa do teto (dorsalmente) e a placa do chão (ventralmente).

Durante o desenvolvimento subsequente, os **esclerótomas** irão desenvolver-se em vértebras. Note que a porção ventral do esclerótomo circunda a notocorda e esta parte do esclerótomo formará o corpo vertebral. Mais dorsalmente, o esclerótomo circunda o tubo neural e irá, ao final, expandir-se dorsalmente para formar o arco vertebral.

O dermomiótomo contribui para a formação da **derme da pele** ao longo do tronco. Além disso, ele forma o **miótomo**, que origina os **músculos** da parede do corpo **epaxial** (dorsal) e **hipaxial** (ventrolateral). Além disso, após a formação dos brotos dos membros, as células dos miótomas migram para os membros em desenvolvimento para formar a **musculatura dos membros**.

Na Clínica

Anormalidades da coluna

Vários defeitos na coluna são causados pela formação anormal dos esclerótomas e do tubo neural. Defeitos na formação dos corpos vertebrais de um lado do corpo podem resultar em uma grave escoliose congênita (curvatura lateral da coluna vertebral), que podem necessitar de correção cirúrgica. A **escoliose** e outras anomalias nas vértebras são abordadas mais detalhadamente no [Capítulo 8](#). Como abordado anteriormente neste capítulo, os defeitos de fechamento do tubo neural aberto e fechado, no nível da medula espinhal, também resulta em defeitos nos arcos vertebrais e na coluna vertebral.

Embriologia na Prática

A vida com espinha bífida

Um jovem que nasceu com espinha bífida está se formando na faculdade e reflete sobre sua vida.

Sua espinha bífida não foi uma surpresa para os seus pais, que foram informados depois de uma ultrassonografia pré-natal. Eles aprenderam todo o possível sobre a condição e se reuniram com vários especialistas nos cuidados de espinha bífida antes de seu nascimento, o que ocorreu antes do desenvolvimento de técnicas cirúrgicas fetais para tentar fechar esses defeitos ainda no estágio pré-natal. Foi durante o período pré-natal que seus pais aprenderam o termo alternativo “defeito do fechamento do tubo neural” (DTN), usado para fazer referência à espinha bífida.

Ele veio à luz por cesariana, para minimizar os danos no tecido exposto. No 1º dia de vida, ele foi submetido à cirurgia para fechar uma mielomeningocele lombar alta (a condição em que o saco meningeal e a medula espinhal nele contida aberta ou fechada, projeta-se através de um defeito localizado em elementos vertebrais). Profundos defeitos na função motora e sensorial de suas pernas foram imediatamente aparentes para seus pais e seus médicos.

O menino enfrentou vários desafios médicos na infância e na pré-puberdade, com inúmeras cirurgias e

internações. Ele necessitava de tratamento cirúrgico para hidrocefalia (como é comum em DTNs), por meio do implante de um desvio ventriculoperitoneal ou desvio “VP” (um cateter que transporta o fluido cerebrospinal, CSF, do ventrículo cerebral para o abdome). Ele se lembra, pelo menos uma vez na infância, de um defeito no desvio, quando a passagem foi bloqueada e foi necessária uma revisão cirúrgica. A necessidade de revisão do desvio é comum nessas crianças.

Problemas com o intestino e com a bexiga também figuram proeminente na memória do rapaz. Ele tem constipação intestinal e precisou ser internado várias vezes, por causa do acúmulo de fezes desidratadas. Além da falta de controle para a eliminação (incontinência), a má drenagem da urina causa um excesso de pressão sobre os seus rins, que exige cirurgia para criar uma “vesicotomia” (uma passagem entre a bexiga e a parede do corpo do menino usando o apêndice). Ele ficou com a necessidade de cateterismo intermitente e profilaxia com antibióticos para evitar infecção por toda a sua vida, mas seus rins estão saudáveis e ele tem continência urinária.

Embora, quando menino, ele pudesse caminhar curtas distâncias sem a ajuda de aparelhos, agora ele usa uma cadeira de rodas quase que exclusivamente. Periodicamente, ele precisa prestar muita atenção ao espaço e ao seu reposicionamento, para evitar rompimento da pele e úlcera de pressão onde ele não tem sensação. Ele também teve que lidar com outras “feridas”. Muitas vezes ele foi motivo de chacota para outras crianças da escola, em situações constrangedoras, e lutou contra os sintomas depressivos.

Embora muitas crianças com espinha bífida tenham dificuldades de aprendizagem, esse rapaz sempre foi brilhante e, apesar dos muitos desafios ao longo da vida, conseguiu fazer a transição para a independência na vida adulta graças ao forte apoio da família, da comunidade, das escolas e de uma equipe multidisciplinar de prestadores de cuidados de saúde. Espinha bífida já não é exclusivamente uma doença da infância. Tratamentos avançados permitem agora que os pacientes tenham uma expectativa de vida normal, ressaltando a necessidade de médicos treinados para cuidar de pacientes adultos com alterações congênitas.

Ele se pergunta se um dia irá casar. Atualmente ele está namorando uma aluna em seu colégio e eles têm tido longas discussões sobre a sua condição e sobre a vida cotidiana. A ideia de ter filhos surgiu. Embora alguns homens com espinha bífida possam ter ereções e ejaculações, permitindo-lhes serem pais, outros não podem. No último caso, a fertilização *in vitro* (FIV) é uma opção.

Leituras sugeridas

- Kalcheim, C. Regulation of trunk myogenesis by the neural crest: a new facet of neural crest-somite interactions. *Dev Cell*. 2011; 21:187–188.
- Kraus, M. R., Grapin-Botton, A. Patterning and shaping the endoderm in vivo and in culture. *Curr Opin Genet Dev*. 2012; 22:347–353.
- Le Douarin, N. M., Dieterlen-Lievre, F. How studies on the avian embryo have opened new avenues in the understanding of development: a view about the neural and hematopoietic systems. *Dev Growth Differ*. 2013; 55:1–14.
- Nitzan, E., Kalcheim, C. Neural crest and somitic mesoderm as paradigms to investigate cell fate decisions during development. *Dev Growth Differ*. 2013; 55:60–78.
- Suzuki, M., Morita, H., Ueno, N. Molecular mechanisms of cell shape changes that contribute to vertebrate neural tube closure. *Dev Growth Differ*. 2012; 54:266–276.
- Vieira, C., Pombero, A., Garcia-Lopez, R. Molecular mechanisms controlling brain development: an overview of neuroepithelial secondary organizers. *Int J Dev Biol*. 2010; 54:7–20.

CAPÍTULO 5

Princípios e Mecanismos da Morfogênese e da Dismorfogênese

Resumo

A formação do embrião e suas partes envolve a **morfogênese**, um processo de modelagem da forma controlado por **comportamentos celulares** fundamentais que resultam em **crescimento diferencial**. A perturbação desse crescimento diferencial, devido às **mutações genéticas**, exposição aos **teratógenos** ou uma combinação dos dois processos, resulta em **dismorfogênese** e na formação de **defeitos estruturais congênitos**. Os defeitos estruturais congênitos consistem em **malformações** – que envolvem perturbação do desenvolvimento dos eventos diretamente envolvidos na formação de uma estrutura particular – e **deformações** – que envolvem perturbação indireta de uma estrutura em desenvolvimento devido a forças mecânicas. A malformação pode envolver um único órgão ou uma única parte do corpo, vários órgãos ou várias partes do corpo. Neste último caso, se uma única causa estiver envolvida, a condição constituirá uma **síndrome**. O entendimento de como o desenvolvimento ocorre requer o uso de **modelos animais** nos quais possam ser conduzidos experimentos. Como os mecanismos do desenvolvimento são conservados nas espécies, o uso de modelos animais fornece conhecimentos sobre como o desenvolvimento normal do embrião humano ocorre e como esse desenvolvimento pode ser perturbado por mutação genética ou agressão ambiental, resultando em defeitos congênitos. A caixa de ferramentas com as metodologias e as técnicas usadas para os experimentos em biologia do desenvolvimento é vasta, incluindo técnicas derivadas das áreas da **biologia celular**, **biologia molecular** e **genética**, combinadas com as abordagens clássicas de **corta-e-cola da embriologia experimental**. A manipulação do **genoma do camundongo** tem sido uma abordagem particularmente proveitosa para o entendimento de como os genes funcionam durante o desenvolvimento e para o desenvolvimento de modelos para doenças humanas e defeitos congênitos. Por meio de abordagens experimentais, um pequeno número de **vias de sinalização** altamente conservadas foi identificado. Essas vias são usadas repetidamente e em várias combinações por todo o desenvolvimento embrionário. As ferramentas originalmente usadas para estudar embriões de camundongo foram adaptadas para o uso em embriões humanos. Isso resultou em avanços nas tecnologias reprodutivas, como a fertilização *in vitro* (FIV), e, recentemente, o desenvolvimento de **células-tronco** – células que podem ser potencialmente utilizadas para regenerar órgãos doentes ou danificados.

Caso Clínico

Uma médica residente do 1º ano de genética médica está em serviço integral no mês de maio. No começo do mês, ela é chamada para a consulta de uma criança com fissuras labial e palatina e possíveis anormalidades cerebrais que foram identificadas na ultrassonografia pré-natal. A revisão do histórico pré-natal e pós-natal aponta como significativa apenas uma ultrassonografia anormal durante a 24ª semana de gestação, mostrando dilatação e possível fusão dos ventrículos laterais do cérebro e apontando também para o nascimento prematuro com 32 semanas. A princípio, o histórico familiar parece negativo, porém, depois de uma discussão mais aprofundada, a médica obtém o histórico de um único incisivo central do pai da paciente. O exame físico mostra microcefalia (cabeça pequena), hipotelorismo ocular (pouco espaço entre os olhos), ponte nasal plana e **fissura labial** e **fissura palatina** bilateral (Fig. 5-1A). A imagem de ressonância magnética (RM) do cérebro mostra fusão dos lobos frontais direito e esquerdo e fusão parcial dos lobos parietais característicos de **holoprosencefalia** semilobar. O teste genético descobre uma mutação deletéria no gene **SONIC HEDGEHOG (SHH)** na paciente e no pai.



FIGURA 5-1 Mutações no gene SONIC HEDGEHOG (SHH) têm múltiplas manifestações. *A*, Bebê com fenda labial bilateral e características faciais associadas a holoprosencefalia. *B*, Pé de um bebê com polidactilia pré-axial.

Perto do fim do mês, a residente é chamada ao berçário para examinar um recém-nascido com anormalidades nos membros. Ela encontra uma menina até então saudável, com nascimento normal, mas com **polidactilia** (dedos extras) nas duas mãos e pés, ocorrendo nos dedões (pré-axial; Fig. 5-1B). A análise dos cromossomos mostra que a translocação envolve os cromossomos 5 e 7, com o ponto de interrupção do cromossomo 7 ocorrendo longe do gene SHH, mas em uma região conhecida por afetar a expressão do SHH no membro. A perturbação desses elementos regulatórios é conhecida por causar polidactilia pré-axial.

A médica residente está impressionada com a variabilidade de manifestações causadas por diferentes defeitos no mesmo gene (SHH), com uma mutação causando anormalidades cerebrais e faciais e outra causando defeitos nos membros.

Princípios da morfogênese e da dismorfogênese

Como foram descritos os passos iniciais da embriogênese nos Capítulos 1 a 4, agora é apropriado fazer uma pausa e explicar fundamentos básicos para o entendimento dos conceitos da embriologia normal e anormal, descritas nos capítulos seguintes. Além disso, como esses conceitos foram formulados a partir de modelos animais para estudos experimentais, é importante entender os atributos que cada um desses modelos fornece para o entendimento do desenvolvimento humano. Finalmente, técnicas experimentais são descritas para explicar como as experiências são conduzidas no campo da biologia do desenvolvimento, e as vias de sinalização são discutidas para colocar no contexto as moléculas que controlam os eventos do desenvolvimento.

Como descrito em capítulos anteriores, o disco embrionário trilaminar plano sofre **morfogênese** para formar um embrião tridimensional com um plano corporal na forma de tubo-dentro-de-tubo, e para os primórdios dos rudimentos que irão formar todos os órgãos e sistemas do adulto. Neste capítulo, consideraremos como a morfogênese ocorre e como a morfogênese sofre erros durante a formação de **defeitos congênitos**. A morfogênese resulta do **crescimento diferencial**. O crescimento diferencial é conduzido por um pequeno número de **comportamentos celulares** fundamentais, como mudanças na forma, tamanho, posição, número e adesividade da célula. Se esses comportamentos forem perturbados durante a embriogênese por uma mutação genética, agressões ambientais (p. ex., **teratógenos**) ou uma combinação dos dois, o crescimento diferencial será anormal e causará **dismorfogênese**, com a formação de defeitos estruturais congênitos.

A dismorfogênese pode resultar tanto da malformação quanto da deformação. As malformações consistem em defeitos morfológicos primários em um órgão ou parte do corpo, resultantes de eventos de desenvolvimento anormais que estão *diretamente* envolvidos no desenvolvimento deste órgão ou parte do corpo. Por exemplo, uma falha no fechamento do sulco neural resulta na malformação conhecida como *defeito no tubo neural*. Do mesmo modo, a falha na separação completa dos dedos resulta em *sindactilia*, ou seja, fusão dos dedos. As deformações consistem em defeitos morfológicos secundários que são impostos sobre um órgão ou parte do corpo devido a forças mecânicas, ou seja, as deformações afetam o desenvolvimento de um órgão ou parte do corpo *indiretamente*. Por exemplo, se houver insuficiência de fluido amniótico (ou seja, oligodrâmnio), poderá ocorrer deformação dos pés como resultado da pressão mecânica, levando ao pé torto. A dismorfogênese pode ocorrer em um órgão isoladamente, uma parte isolada

do corpo, ou como um padrão de múltiplas malformações primárias com uma única causa. No último caso, a doença é denominada **síndrome**. Exemplos comuns, descritos em outras partes do texto, incluem a síndrome de Down (trissomia do 21) e a síndrome da deleção 22q11.2 – duas síndromes que resultam de anormalidades cromossômicas.

Outras síndromes podem resultar da exposição teratogênica. Um exemplo comum é a **síndrome alcoólica fetal**, também conhecida como **transtorno do espectro alcoólico fetal**. Este transtorno afeta 2 em cada 1.000 bebês nascidos vivos (Fig. 5-2). A síndrome alcoólica fetal é mais prevalente em mulheres alcoólatras, especialmente naquelas que estão na terceira ou quarta gravidez, sugerindo que o estado de saúde da mãe interage com o álcool para produzir a síndrome. No entanto, o consumo de uma quantidade de álcool tão baixa quanto 80 g por dia (*i.e.*, duas a três doses de licor de grão, como rum) por uma mulher não alcoólatra durante o 1º mês de gestação pode causar defeitos significativos, e tem sido sugerido que mesmo um único gole pode ser teratogênico. Além disso, o consumo crônico de álcool, mesmo em pequenas quantidades e mesmo mais tarde na gravidez, pode ser perigoso porque pode afetar o desenvolvimento do cérebro do feto, resultando em deficiências comportamentais e cognitivas que podem durar a vida inteira. Assim, não existe um nível seguro de consumo de álcool durante a gravidez.

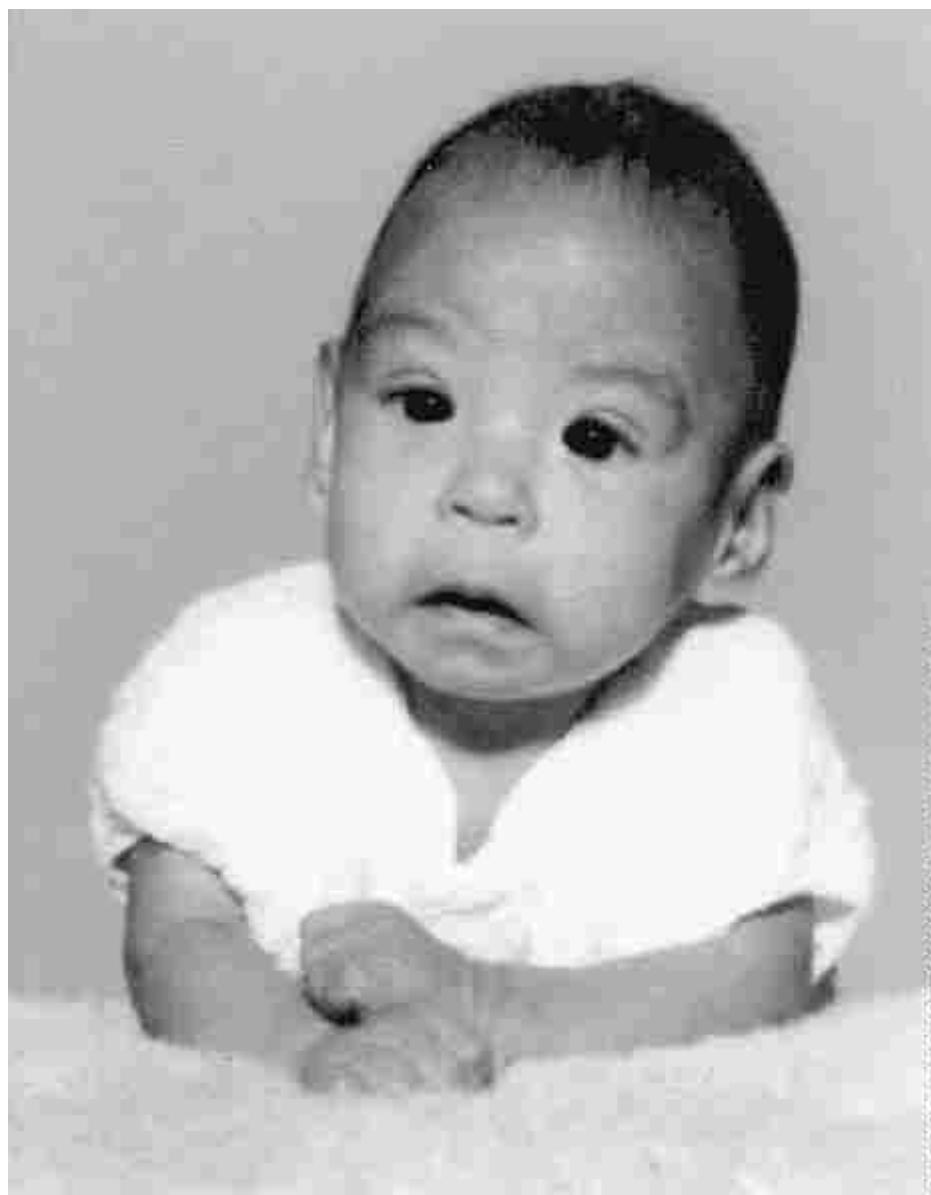


FIGURA 5-2 Menino com síndrome alcoólica fetal. Note em particular a ponte nasal baixa, dobras epicânticas, fissuras palpebrais curtas, *philtrum* indistinto e micrognatia.

Os componentes comuns do transtorno incluem defeitos no desenvolvimento do cérebro e da face, ou seja, microcefalia (cabeça pequena), fissuras palpebrais curtas (aberturas oculares), dobras epicânticas (dobra da pálpebra superior), ponte nasal baixa com nariz curto, face média plana, anomalias menores no ouvido externo e anomalias na mandíbula, incluindo lábio superior fino com filtro indistinto e micrognatia (mandíbula pequena).

Modelos animais

O objetivo da pesquisa em biologia do desenvolvimento/embriologia é entender como o desenvolvimento ocorre nos níveis tecidual, celular e molecular. Este objetivo amplia nossa curiosidade nata de querer entender a natureza e como ela funciona. Outro objetivo é entender como o desenvolvimento normal pode dar errado, resultando em defeitos congênitos, particularmente em humanos. O entendimento de como o desenvolvimento normal e o anormal ocorrem pode levar a maneiras de detectar (diagnosticar), prevenir e curar os defeitos congênitos. Assim, este objetivo reforça nosso desejo de prevenir e aliviar o sofrimento humano.

Embora o único organismo perfeito para o estudo sobre o desenvolvimento do embrião humano seja o próprio embrião humano, os **modelos animais** são substitutos úteis por causa do princípio no qual os **mecanismos do desenvolvimento são altamente conservados** de organismo para organismo (Fig. 5-3). Seis modelos animais têm sido particularmente úteis para decifrar os mecanismos e princípios da embriogênese: dois invertebrados e quatro vertebrados. Esses modelos fornecem informações complementares que, quando analisadas conjuntamente, com dados de todos os modelos animais, possibilitam uma compreensão considerável sobre o desenvolvimento do embrião humano. Todos esses modelos são práticos para se obter, usar e manter em laboratório, e todos podem ser adquiridos e utilizados durante todo o ano (ou seja, eles não são reprodutores sazonais). Os pontos fortes, únicos de cada um desses organismos, que auxiliam o entendimento dos mecanismos do desenvolvimento, são descritos mais adiante.

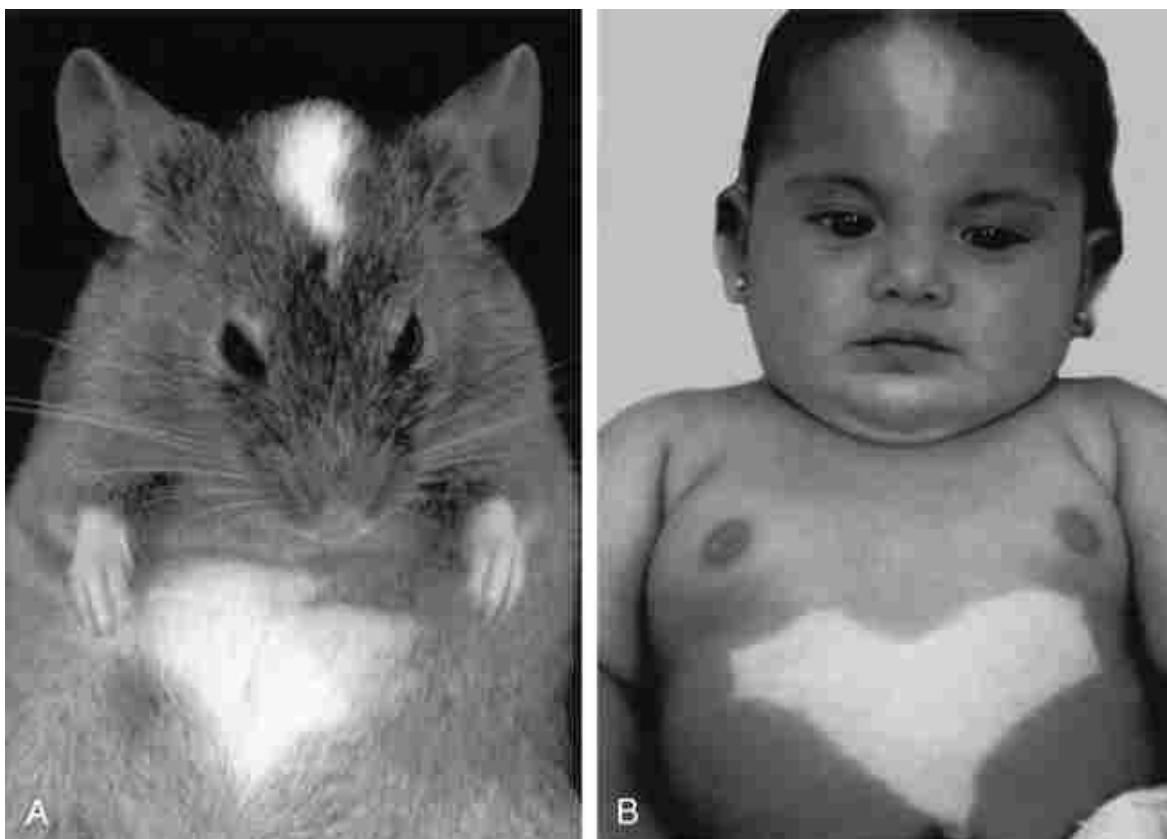


FIGURA 5-3 Modelos animais podem copiar fenotipicamente doenças humanas. A, Camundongo com mutação no gene c-kit mostra déficits de pigmentação na testa e no peito. B, Criança com mutação no gene c-KIT, uma condição conhecida como piebaldismo, apresentando déficits de pigmentação similares aos do camundongo.

Drosophila

O campo da genética, ainda em desenvolvimento, foi aprimorado no começo do século XX usando-se a *Drosophila melanogaster*, a mosca de fruta comum. Assim, os primeiros estudos para mesclar os campos fluorescentes da genética com a biologia do desenvolvimento utilizaram a *Drosophila*. A *Drosophila* oferece diversas vantagens para o entendimento dos mecanismos do desenvolvimento. Por meio da mutagênese por saturação, utilizando produtos químicos como o EMS (etil metano sulfonato) e, subsequente, procura para identificar os fenótipos únicos, as mutações foram identificadas em praticamente todos os genes (a *Drosophila* tem 13.639 genes preditos). Este poderoso processo de utilização de mutações aleatórias em genes desconhecidos para identificar eventos de desenvolvimento alterados

(resultando então em **fenótipos**), seguido da identificação e clonagem do gene mutado, é denominado **abordagem genética direta**.

O ciclo de vida da *Drosophila* é relativamente curto (em torno de 9 dias; Fig. 5-4); assim, novas gerações podem ser criadas muito rapidamente (a *Drosophila* é propícia para técnicas em genética). A embriogênese também ocorre muito rapidamente. Ela completa e forma o primeiro estágio larval em torno de 1 dia após a fertilização. Após a formação de uma série de estágios larvais é formada uma pupa, que então sofre metamorfose e se transforma na mosca de fruta adulta.

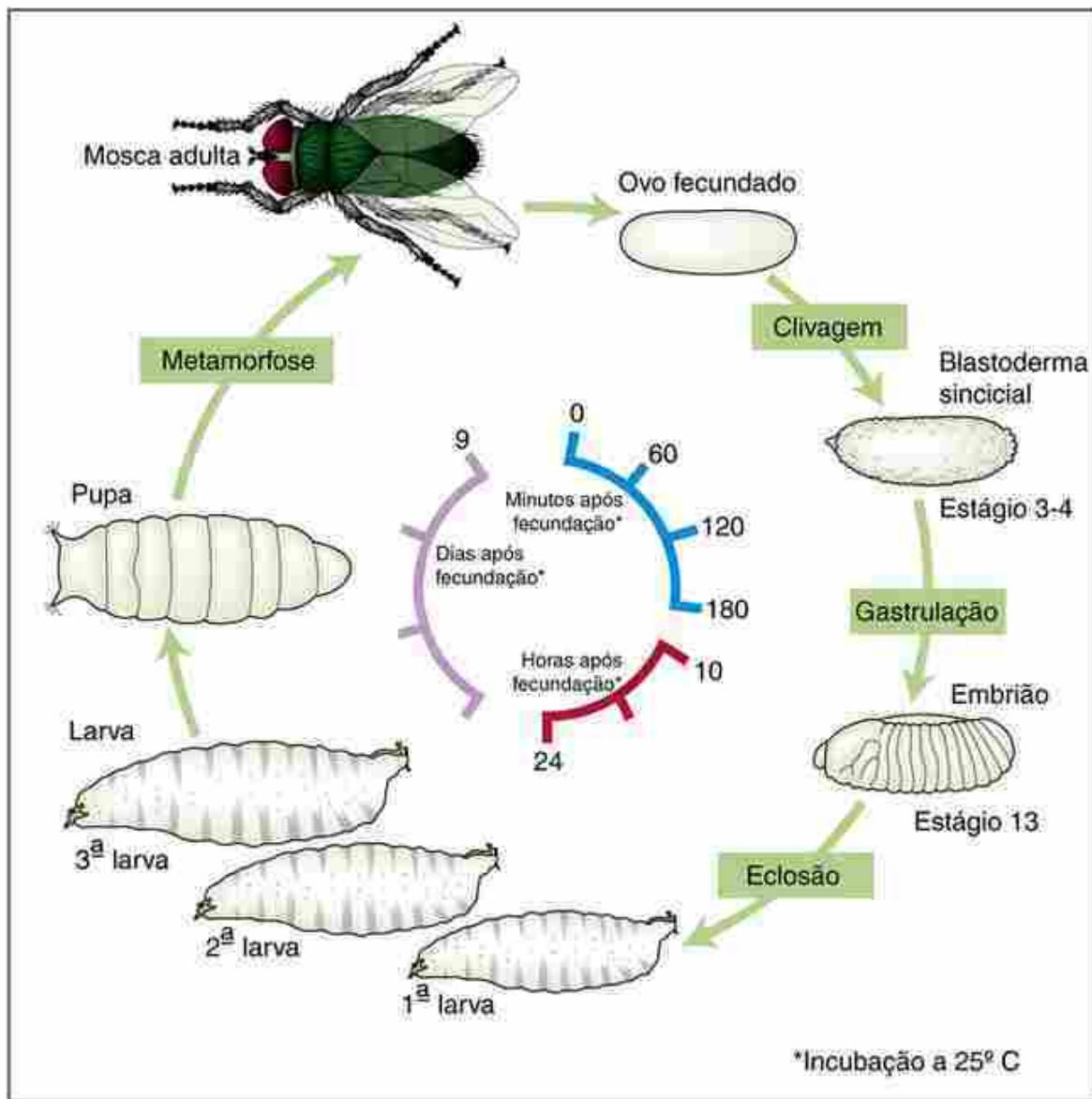


FIGURA 5-4 O ciclo de vida da *Drosophila*.

Diversas técnicas foram desenvolvidas para a superexpressão e subexpressão de genes da *Drosophila*, permitindo a análise experimental do funcionamento do gene durante o desenvolvimento. Também, um site (FlyBase) foi desenvolvido para disseminar informações sobre a *Drosophila* como um sistema modelo (flybase.org).

Um achado surpreendente da era genômica foi a percepção de que os genomas da mosca de fruta e o dos humanos são muito semelhantes. Ortólogos de aproximadamente 60% dos genes expressos durante a embriogênese da *Drosophila* foram identificados em outros modelos animais, assim como em humanos, apesar de o número total de genes em humanos ser de aproximadamente o dobro do total de genes da *Drosophila* (é estimado que os humanos tenham 20.000 a 25.000 genes). Os vertebrados, incluindo os humanos, tipicamente apresentam múltiplos membros ortólogos de uma mesma família para cada gene identificado na *Drosophila*. Assim, por exemplo, na *Drosophila* existem três genes Fgf ligantes (*branchless*, *pyramus* e *thisbe*) e dois genes receptores de Fgf (*breathless* and *heartless*), ao passo que nos mamíferos existem 22 genes Fgf e 4 genes receptores de Fgf (Fgf e receptores de Fgf são descritos posteriormente).

neste capítulo; *branchless* e *breathless* serão abordados no Capítulo 11, na seção “No Laboratório de Pesquisa” intitulada “Desenvolvimento do Sistema Traqueal em *Drosophila*”).

Caenorhabditis elegans

O verme nematoide, *Caenorhabditis elegans*, compartilha muitas características que fazem da *Drosophila* um excelente modelo para o entendimento dos mecanismos de desenvolvimento. Assim como a *Drosophila*, o *C. elegans* tem um ciclo de vida curto, de 3 a 4 dias, e um curto período de embriogênese – aproximadamente 1 dia, desde a fertilização até a eclosão (como um verme) (Fig. 5-5). A mutagênese química também foi usada no *C. elegans* para gerar uma série de mutantes que contribuíram consideravelmente para o avanço no campo (usando a abordagem genética direta), particularmente levando ao entendimento dos mecanismos por trás da morte celular programada ou **apoptose**. As bem desenvolvidas técnicas de interferência na expressão de genes (incluindo a alimentação dos vermes com RNAi [RNA de interferência em cadeia dupla]) desligam a expressão do gene (o RNAi é abordado mais adiante neste capítulo). Também, um site (WormBase) foi desenvolvido para fornecer informações sobre o uso do *C. elegans* como um sistema modelo ([wormbase.org](http://www.wormbase.org)).

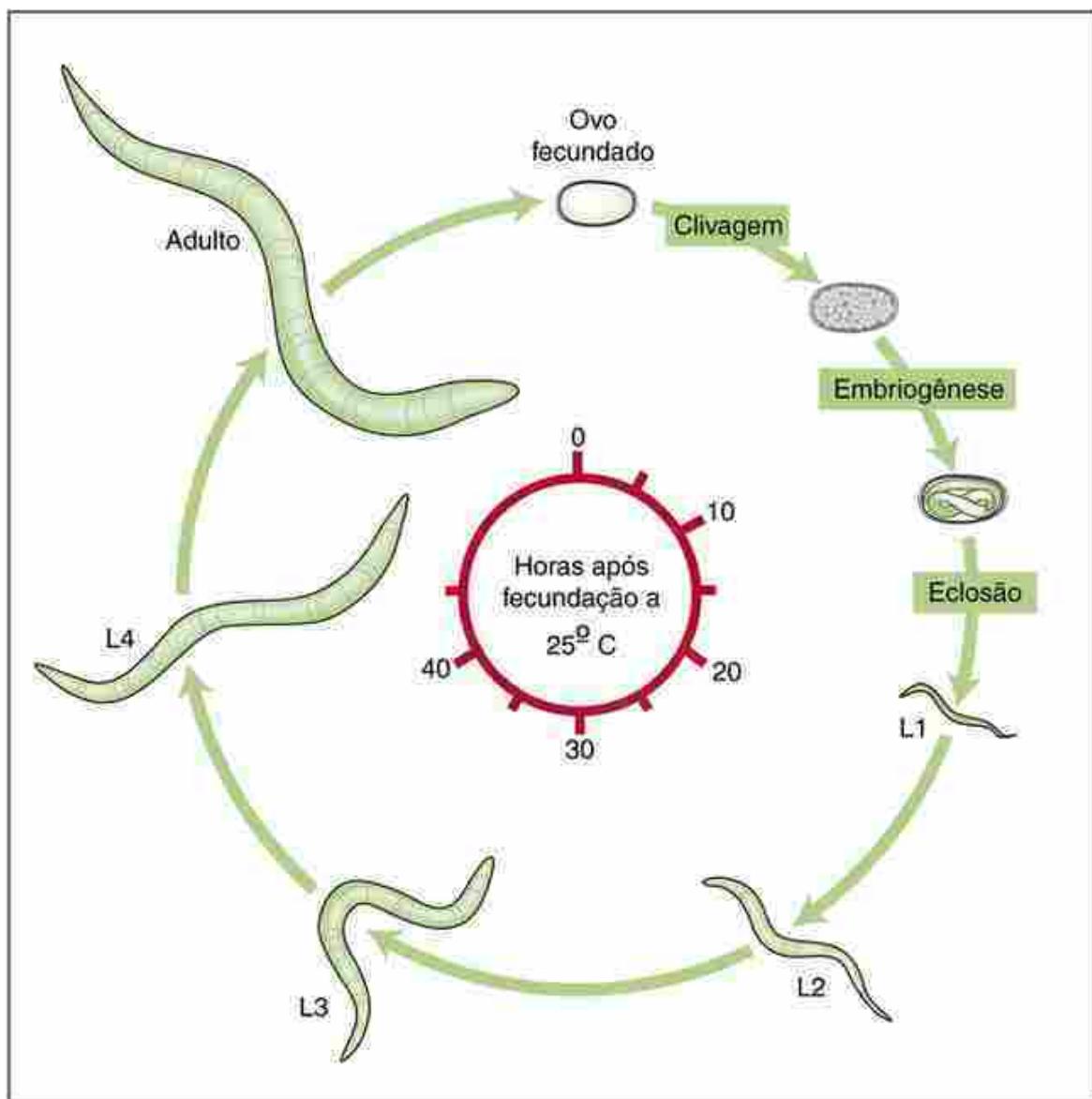


FIGURA 5-5 O ciclo de vida do *C. elegans*.

Além de ter vários atributos compartilhados com a *Drosophila*, o embrião do *C. elegans* é transparente. Isso, junto com o número relativamente pequeno de células geradas durante o desenvolvimento (o verme adulto é composto por apenas aproximadamente mil células e o número de células é essencialmente invariante entre os indivíduos), tem permitido aos investigadores mapear a **linhagem celular** completa do *C. elegans*, observando as células enquanto elas

se dividem, mudam de posição e diferenciam-se durante a embriogênese. Como resultado de tal estudo, a origem e o destino de cada célula no embrião do *C. elegans* é conhecido, incluindo as 131 células cujo destino normal é morrer (sofrem apoptose). O genoma do *C. elegans* contém 20.000 genes preditos.

Peixe-zebra

O peixe-zebra, *Danio rerio*, permite a mutagênese e o rastreio de fenótipos para estudar diretamente o desenvolvimento dos vertebrados. Usando mutagênese com ENU (N-etil-N-nitrosourea), os embriões mutantes podem ser identificados e ter os seus desenvolvimentos estudados. Mais de 8 mil mutações foram identificadas por meio desta abordagem genética direta. Este estudo é muito facilitado pelo fato dos embriões do peixe-zebra, assim como os do *C. elegans*, serem transparentes, desse modo as estruturas internas podem ser bem visualizadas sem a necessidade, em muitos casos, de um estudo histológico. Além disso, assim como os outros sistemas e modelos abordados até agora, os embriões do peixe-zebra desenvolvem-se rapidamente, progredindo desde a fertilização até o nado livre em torno de dois dias, e os peixes atingem a maturidade sexual em aproximadamente 3 meses (Fig. 5-6).

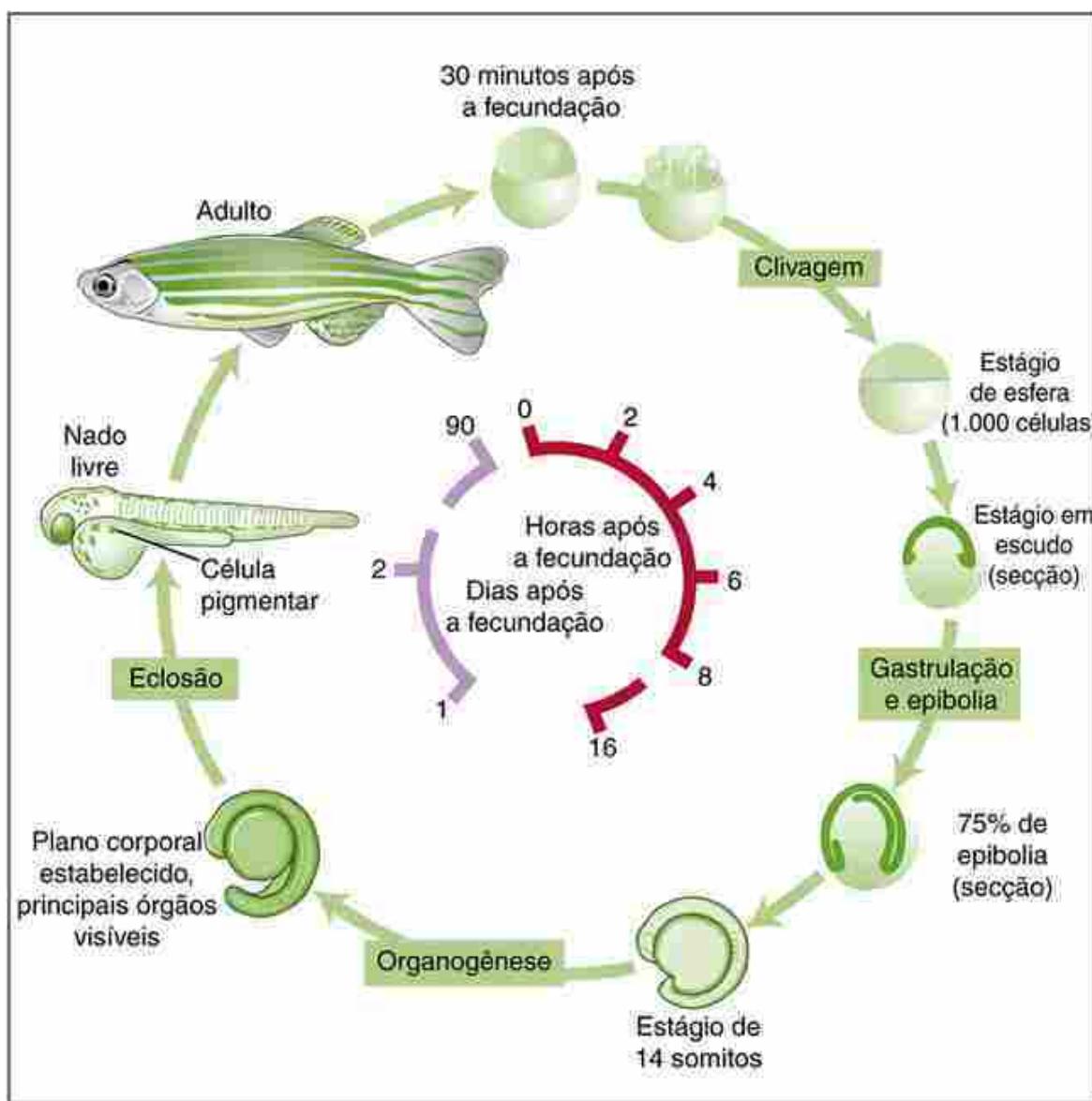


FIGURA 5-6 O ciclo de vida do peixe-zebra.

As células (blastômeros) em clivagem dos embriões do peixe-zebra são relativamente grandes e podem ser injetadas com rastreadores de linhagem ou RNAs para estudos de perturbação da expressão de genes. Morfolinos (RNA antissenso estabilizado; abordado posteriormente neste capítulo) podem ser injetados para desligar a expressão gênica e também em embriões mutantes para estudar os efeitos combinados da perda de função de múltiplos genes. Além disso, abordagens transgênicas, incluindo a geração de *knockins* e *knockouts* (abordados posteriormente neste capítulo),

têm sido desenvolvidas recentemente em peixes-zebra. O genoma do peixe-zebra foi sequenciado e estima-se que contenha 30.000 a 60.000 genes (duplicações do genoma ocorreram durante a evolução do peixe-zebra). Um site, ZFIN, foi criado para disseminar informações sobre o peixe-zebra como um sistema modelo (zfin.org).

Xenopus laevis

A área da embriologia experimental começou no século 19 com o uso de uma variedade de embriões de anfíbios – sapos e salamandras. Entretanto, durante as últimas décadas, o *Xenopus laevis*, a rã-de-unhas da África do Sul, tornou-se o anfíbio escolhido pelos biólogos do desenvolvimento. Os embriões de anfíbios toleram facilmente a manipulação microcirúrgica, denominada embriologia experimental corta-e-cola (que será abordada posteriormente neste capítulo). Além disso, como as células (blastômeros) em clivagem do embrião são relativamente grandes, como são no peixe-zebra, elas podem ser injetadas com rastreadores de linhagem. De fato, provavelmente o mapa de destino mais preciso produzido atualmente que utiliza essa abordagem seja o do *X. laevis*. O *X. laevis*, assim como os modelos já abordados, desenvolve-se relativamente rápido, progredindo desde o ovo fertilizado até o girino em torno de 4 dias (Fig. 5-7). O girino sofre metamorfose e adquire a forma adulta terrestre, que se torna sexualmente madura em torno de 2 meses.

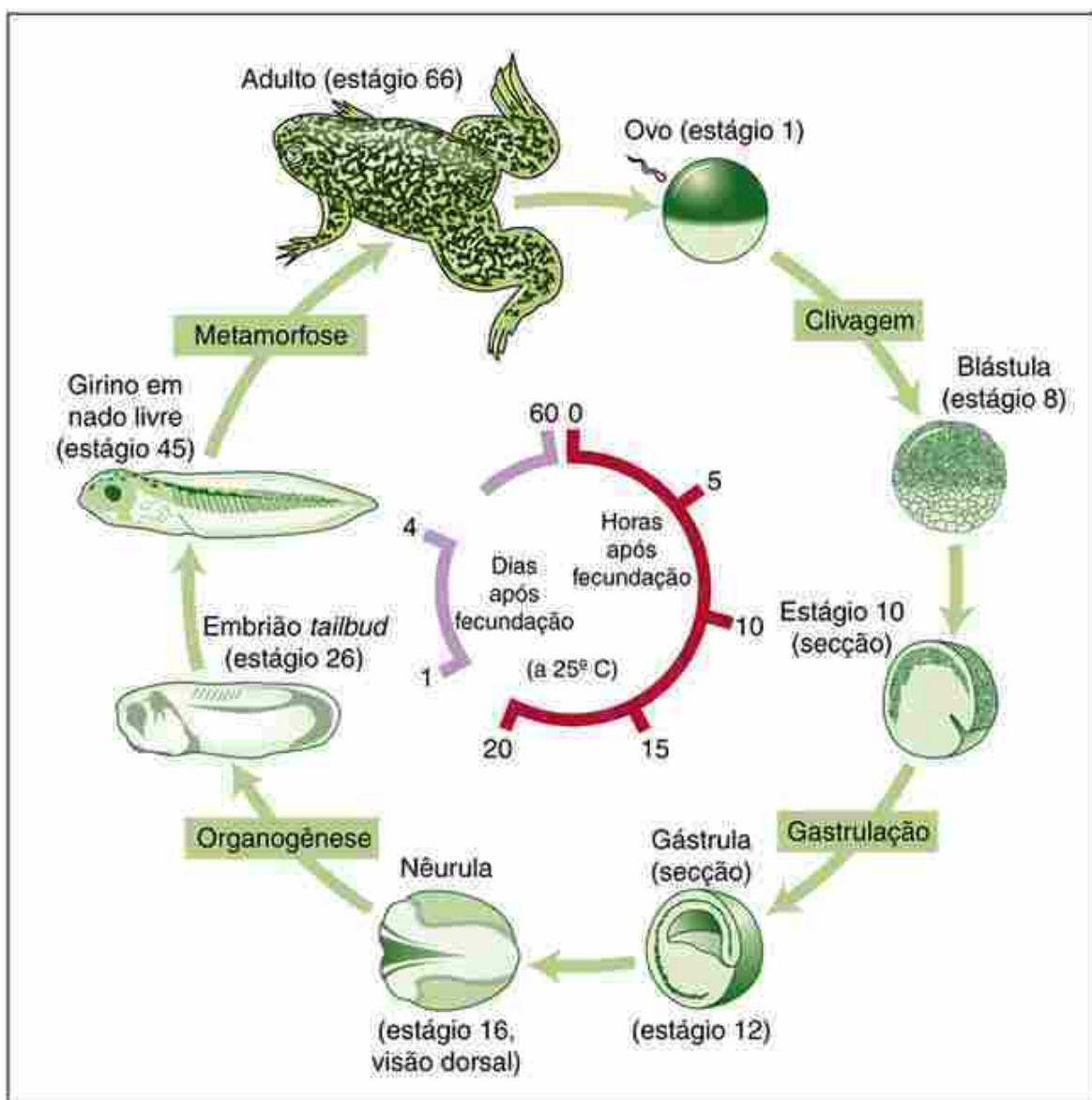


FIGURA 5-7 O ciclo de vida do *Xenopus*.

Pelo fato de a duplicação do genoma ter ocorrido no *X. laevis*, esta espécie é tetraploide. Este fato torna difícil a utilização do *X. laevis* para estudos de manipulação gênica. Entretanto, outra espécie de *Xenopus*, *X. tropicalis*, é diploide, e tem sido possível utilizá-la para gerar **animais transgênicos**, ou seja, animais cujo genoma foi modificado por meio de técnicas de genética molecular. O sequenciamento do genoma do *X. laevis* foi completado, o que aumentou

muito o valor do *Xenopus* como um sistema modelo. Um site, o Xenbase, foi desenvolvido para disseminar informações sobre o modelo *Xenopus* (www.xenbase.org).

Galinha

Embriões de galinha, ou *Gallus gallus domesticus*, assim como os embriões de *Xenopus*, podem ser microcirurgicamente manipulados durante o desenvolvimento. Por ser a galinha um organismo de sangue quente (assim como o humano) e por poder ser facilmente manipulado durante o desenvolvimento, ela se tornou durante as últimas décadas o modelo preferido para estudos que utilizam abordagens de embriologia experimental corta-e-cola (apresentadas posteriormente neste capítulo). Apesar de não ser muito usada atualmente para estudos genéticos, a galinha foi um modelo muito popular para tais estudos no começo do século vinte, principalmente nas faculdades de agricultura e nos departamentos de ciência avícola. Muitos mutantes, no desenvolvimento, foram gerados e alguns deles ainda estão disponíveis hoje em dia para estudo. Comparando com os outros modelos abordados anteriormente neste capítulo, o desenvolvimento do embrião da galinha é relativamente lento, durando cerca de 21 dias desde a fertilização até a eclosão do ovo e os pássaros alcançam a maturidade sexual em 3 a 4 meses após a eclosão (Fig. 5-8).

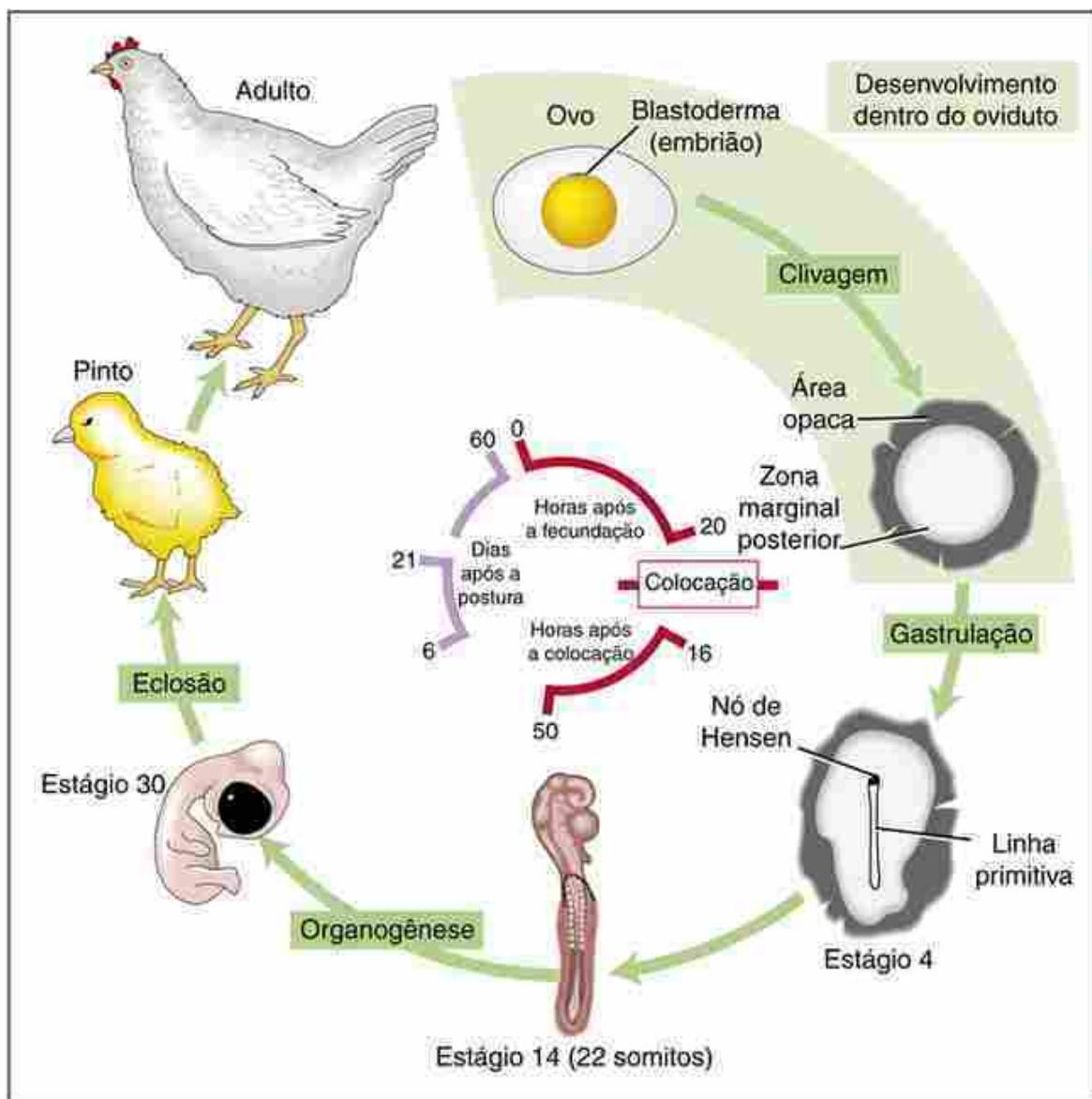


FIGURA 5-8 O ciclo de vida da galinha.

O genoma da galinha foi sequenciado, o que aumenta o uso deste organismo para o entendimento dos mecanismos moleculares do desenvolvimento. É estimado que o genoma da galinha contenha em torno de 25.000 genes. Técnicas foram desenvolvidas para superexpressar proteínas localmente em momentos específicos durante o desenvolvimento da galinha (p. ex., usando pequenas esferas revestidas com fatores de crescimento, injetando vírus modificados,

injetando células transfectadas). Também foram desenvolvidas técnicas para superexpressar genes utilizando a eletroporação do embrião inteiro (ou técnicas como a sonoperação e lipofecção) para direcionar plasmídeos para o alvo e, então, promover a expressão do gene de interesse nos tecidos desejados do embrião de galinha. Outra técnica estabelecida utiliza RNAi ou morfolinos (discutidos posteriormente neste capítulo) para desligar a expressão gênica (introduzidos corriqueiramente através da eletroporação do embrião inteiro). *Sites úteis* têm sido desenvolvidos para fornecer informações sobre o modelo galinha, especialmente informação genômica e padrões de expressão gênica (birdbase.arizona.edu).

Camundongo

O camundongo de laboratório, *Mus musculus*, foi originalmente utilizado para estudos genéticos, e centenas de mutações que surgiram naturalmente foram identificadas e estão disponíveis para estudo. A maturidade sexual é atingida 1 a 2 meses após o nascimento, facilitando a procriação dos animais mutantes (Fig. 5-9). O período de gestação do camundongo é similar ao da galinha, variando de 19 a 21 dias após a fecundação.

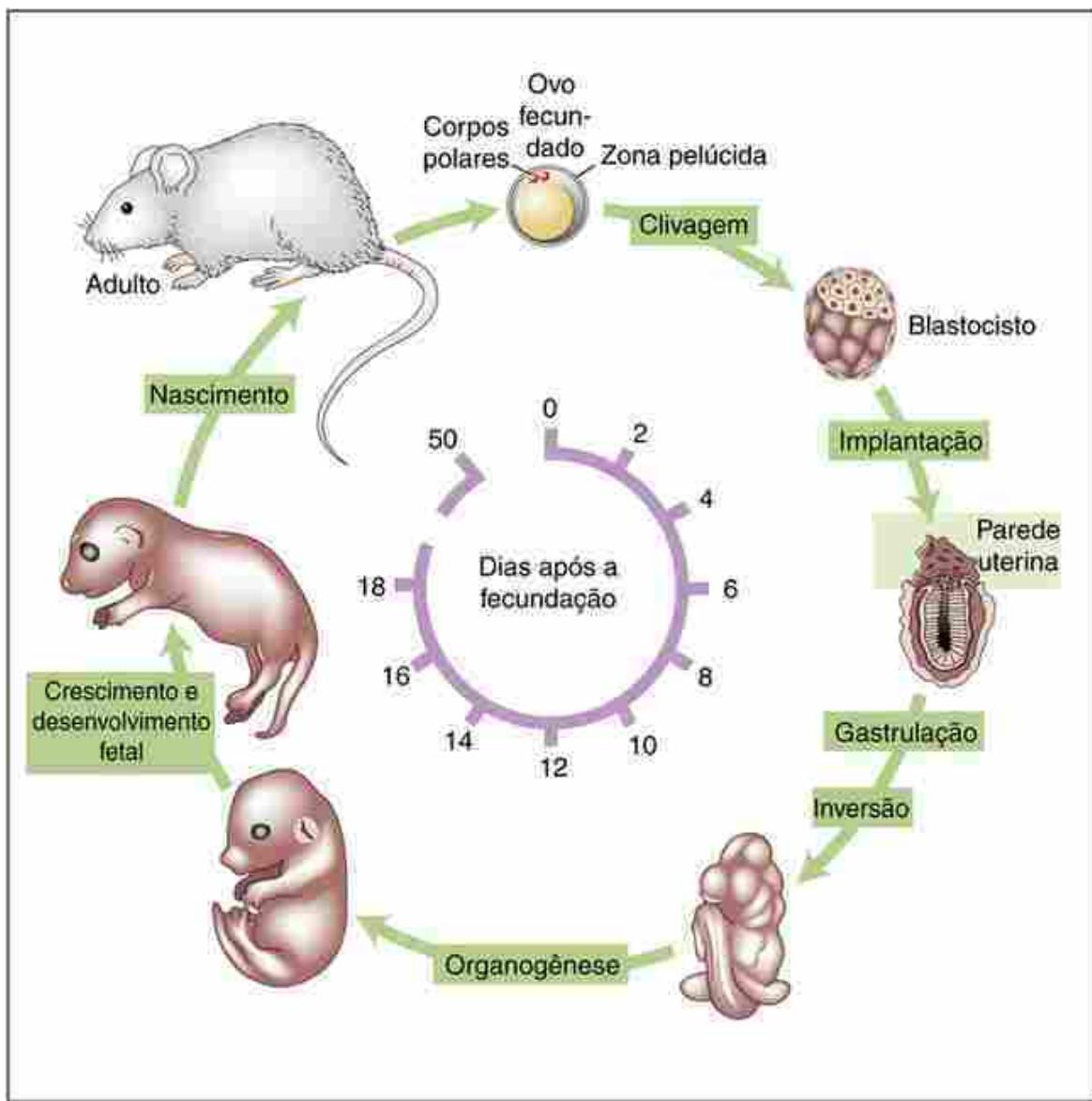


FIGURA 5-9 O ciclo de vida do camundongo.

O ponto forte do modelo camundongo é a disponibilidade de técnicas para produzir **camundongos transgênicos** (abordados posteriormente neste capítulo). Usando recombinação homóloga, é possível inativar (*knock out*) qualquer gene de interesse ou substituir um gene por outro (*knock in*). Cerca de 30% dos genes do camundongo sofreram *knockout* por essa abordagem. Em contraste com a abordagem genética direta usada na *Drosophila*, *C. elegans* e peixe-zebra, a chamada **abordagem genética reversa** usada em camundongos começa com um gene *conhecido*, que é mutado

para determinar sua função durante o desenvolvimento. Em uma variação desta abordagem usando transgênicos *condicionais*, agora é possível utilizar promotores que conferem especificidade a um determinado tecido. Assim é possível conduzir a expressão de um transgene (e também um gene repórter) em tecidos específicos (ou fazer *knockout* em apenas um gene, em um tecido específico), aumentando a precisão do experimento. O genoma do camundongo foi sequenciado e prevê-se que contenha cerca de 30.000 genes. Sites úteis incluem jaxmice.jax.org e ensembl.org/Mus_musculus.

Usando modelos animais para prever risco no humano

Os toxicólogos do desenvolvimento geralmente escolhem modelos animais diferentes dos escolhidos pelos biólogos do desenvolvimento, pois os objetivos de seus estudos são diferentes: predizer o risco da exposição a drogas para os humanos e dos potenciais poluentes ambientais. Assim, tais estudos estão preocupados com as similaridades entre as placenta das modelos animais e humanas (p. ex., Quão similar é a função placentária?) ou farmacodinâmica (p. ex., Quão similar é o metabolismo das drogas?). Os roedores são tipicamente utilizados para estudos iniciais, mas ratos ou coelhos podem ser escolhidos no lugar de camundongos. Esses modelos animais têm uma gestação curta (ratos, 22 dias; coelhos, 31 dias) e oferecem a vantagem de serem grandes, o que torna mais fácil a observação de qualquer resultado raro. Além disso, modelos de primatas não humanos são usados para estudos posteriores, com base nos resultados dos estudos iniciais, conforme exigido. Os modelos de primatas não humanos raramente são usados em estudos da biologia do desenvolvimento.

Técnicas experimentais

O entendimento de como o desenvolvimento normal e o desenvolvimento anormal ocorrem requer o conhecimento *do que* acontece durante o desenvolvimento – isto é, um conhecimento detalhado da **embriologia descritiva**. Entretanto, a embriologia descritiva sozinha não consegue revelar *como* o desenvolvimento acontece. A embriologia descritiva fornece um catálogo de eventos do desenvolvimento que, quando cuidadosamente estudados e refletidos, podem levar à formulação de **hipóteses** sobre como o evento do desenvolvimento ocorre. O investigador, então, projeta e conduz testes para as hipóteses formuladas. As hipóteses são testadas através de uma série de **experimentos** (manipulações específicas que geralmente perturbam o processo do desenvolvimento) comparados com **controles** (manipulações inespecíficas usadas para assegurar que os resultados obtidos a partir das manipulações em particular são específicos e não artefatos). Por meio dessa abordagem as hipóteses são refutadas, modificadas ou apoiadas (nunca verdadeiramente provadas como corretas, mas frequentemente provadas como incorretas). O ciclo continua à medida que novas hipóteses são elaboradas, com base em dados adicionais obtidos através de experimentos, levando a novos testes experimentais para sua veracidade.

Conduzir experimentos nos modelos de embriões em desenvolvimento caracteriza a ciência da **embriologia experimental**. Classicamente, a embriologia experimental tem sido utilizada para definir as bases teciduais e celulares do desenvolvimento por meio de uma série de manipulações microcirúrgicas. Mais recentemente, a embriologia experimental se mesclou com a biologia celular, biologia molecular e a genética, o que permitiu aos pesquisadores definir as bases genético-moleculares do desenvolvimento.

Embriologia experimental clássica

A embriologia experimental clássica envolve três técnicas básicas frequentemente referidas como **cortar**, **colar** e **colorir** ([Figs. 5-10, 5-11](#) e [5-12](#)). Esses tipos de experimentos tratam da questão de saber se um tecido ou célula é **suficiente** e/ou **necessária (requisitada)** para que ocorra um evento em particular do desenvolvimento. Em uma abordagem típica, um biólogo do desenvolvimento pode perguntar: Qual é a origem das células que formam uma região particular do ectoderma que se transforma na lente do olho? Para determinar isso, o ectoderma deve ter o **destino mapeado** no estado de gástrula, com aplicação de corantes fluorescentes em sua superfície (ou seja, colorindo) e então é seguido o movimento das células coradas ao longo de um determinado tempo. Isso não apenas irá mapear o destino das células ectodérmicas da lente, mas também irá revelar com quais tecidos as células ectodérmicas da lente potencialmente interagem (por que elas ficam muito próximas a eles) durante sua movimentação para formar a lente. Como segundo passo, as células precursoras da lente podem ser removidas (extirpadas ou danificadas; ou seja, cortadas) para saber se as células adjacentes podem ocupar o espaço, substituí-las e formar a lente. Se for o caso, isso irá sugerir que o destino das células da lente não é o resultado de sua linhagem, mas talvez necessite de alguma informação instrutiva de tecidos adjacentes. Em outro teste, uma área do ectoderma que não é destinada a formar a lente pode ser removida (cortada) de um embrião receptor (possivelmente de um embrião de galinha) e substituída (colada) à área de um embrião doador (possivelmente de um embrião de codorna) que é destinada a formar a lente. Além disso, o experimento contrário também pode ser realizado: uma área do ectoderma que é destinada a formar a lente pode ser

removida (cortada) de um embrião receptor e substituída (colada) pela área de um embrião que não é destinada a formar a lente. Se nos dois casos a área transplantada do ectoderma mudar seu destino, isto irá novamente sugerir que o destino das células da lente não é resultado de sua linhagem, mas que talvez necessite de alguma informação instrutiva dos tecidos adjacentes. Repetindo esses experimentos em períodos diferentes do desenvolvimento, é possível determinar aproximadamente quando a sinalização pode ocorrer entre os tecidos adjacentes para estabelecer o destino das células ectodérmicas como lente. Um terceiro passo também pode ser realizado. Os tecidos adjacentes às prováveis células da lente podem ser extirpados (cortados) para descobrir se a lente pode se formar em sua ausência. Se não, isso irá novamente sugerir que o destino das células da lente requer alguma informação instrutiva dos tecidos adjacentes, ou seja, que os tecidos adjacentes são *necessários* para a obtenção do destino das células da lente. Mas o padrão-ouro na embriologia experimental é ir um passo a mais; obter o tecido adjacente e transplantá-lo abaixo de outro ectoderma que nunca forma lente no desenvolvimento normal e questionar: O tecido transplantado pode **induzir** a lente? Se for o caso, assim, o experimento revelou que o tecido adjacente é *suficiente* para conferir o destino das células da lente.

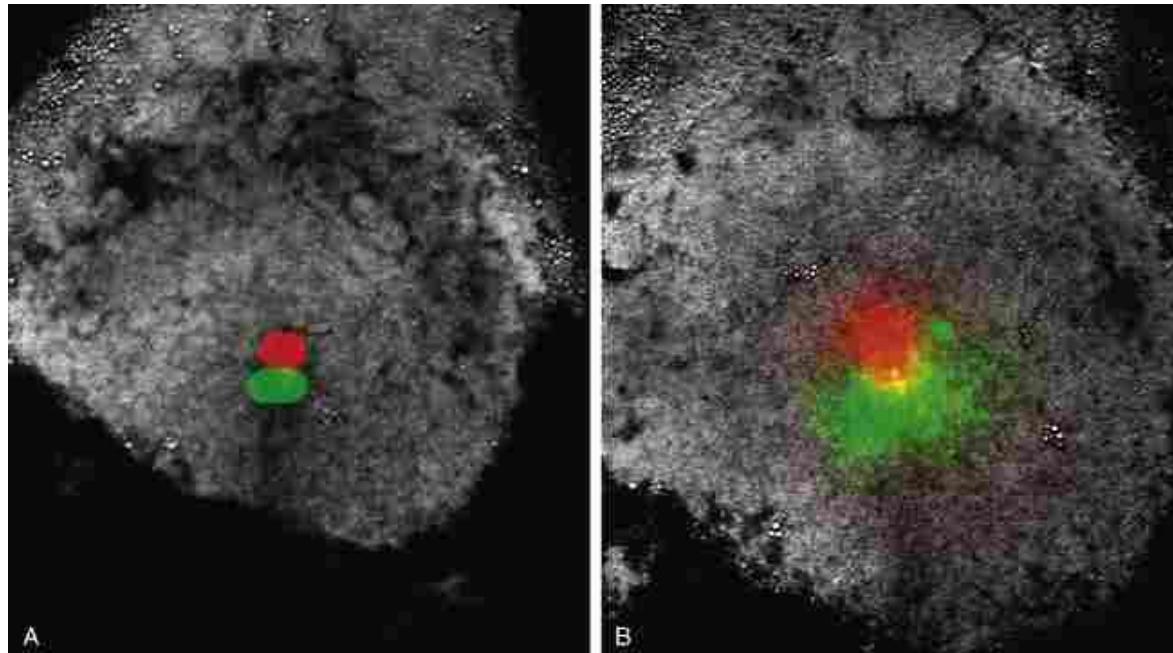


FIGURA 5-10 Uso de corantes fluorescentes para o estudo do mapa de destino das células (*i.e.*, coloração) da linha primitiva durante a gastrulação. Dois corantes foram injetados na linha primitiva. *A*, Imediatamente após a injeção. *B*, Cinco horas após a injeção. As células estão agora deixando a linha primitiva (ingressando) para formar o endoderma e o mesoderma.

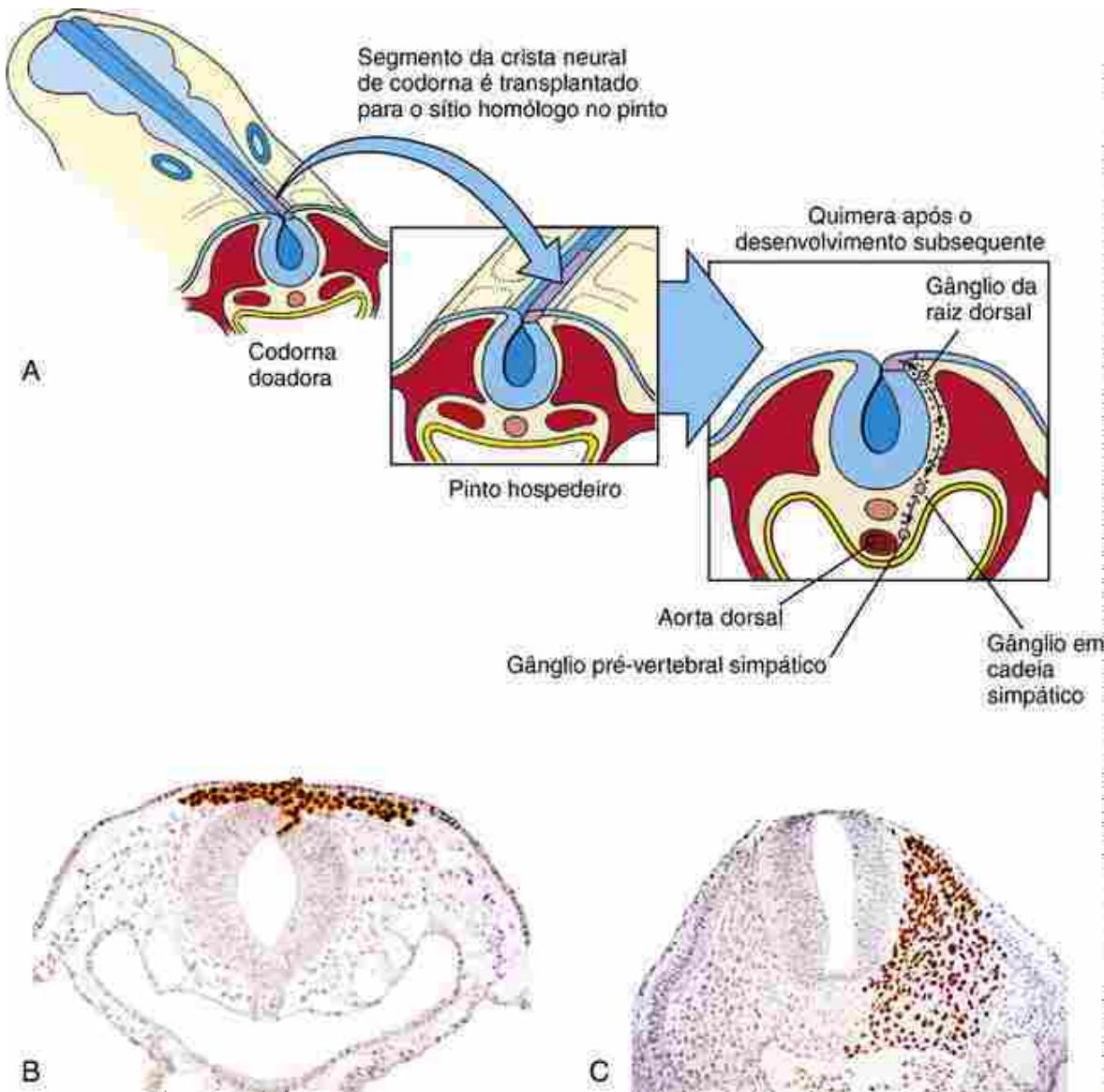


FIGURA 5-11 Quimeras de transplante codorna-pinto. A, Esquema ilustrando o procedimento. Um pequeno pedaço de tecido, neste caso, dorsal do tubo neural, é removido de um embrião de galinha hospedeiro e substituído por um pedaço equivalente de um embrião de codorna doador. No final do experimento, é utilizada a coloração histológica para identificar as diferenças na heterocromatina nuclear das células de galinha e codorna, ou, mais recentemente, têm sido utilizados anticorpos específicos de galinha ou codorna. Assim, o destino das células transplantadas pode ser seguido criando-se mapas de destino prováveis. Esta abordagem tem sido amplamente utilizada para determinar os destinos das células da crista neural que derivam de diferentes níveis craniocaudais ao longo de toda a extensão do tubo neural. B, Secção de uma quimera mostrando que, após a cicatrização do enxerto, as células da crista neural da codorna começam a migrar. As células da codorna podem ser facilmente distinguidas das células do pinto utilizando-se um anticorpo anticodorna. C, Outro exemplo de transplante para gerar uma quimera codorna-pinto. As células somáticas mediais de um embrião de pinto foram substituídas pelas de um embrião de codorna. As células de codorna são distinguidas das células de pinto por meio de um anticorpo anticodorna.

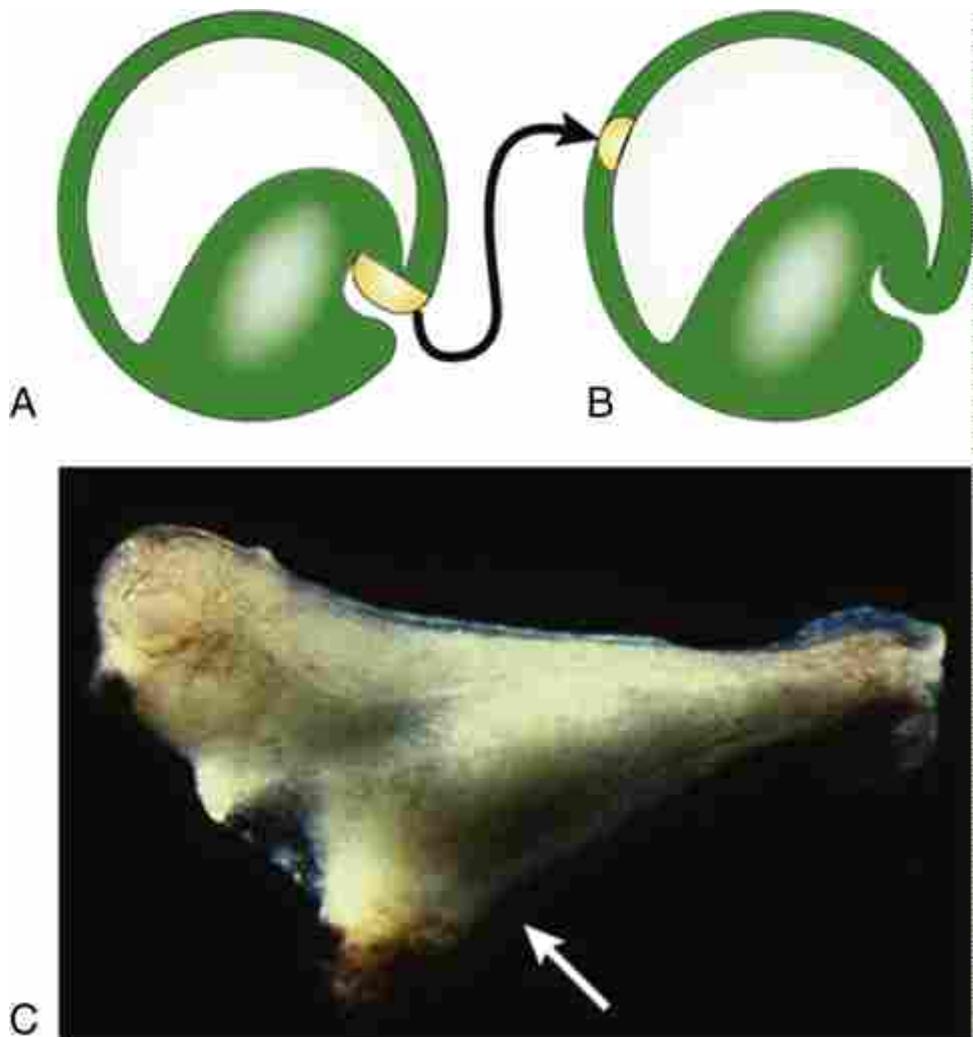


FIGURA 5-12 Embriologia experimental corta-e-cola clássica. *A*, Remoção (i.e., corte) do lábio dorsal do blastóporo de um embrião de anfíbio. *B*, Enxerto (i.e., colagem) do lábio dorsal no ectoderma do futuro ventre de outro embrião. *C*, Um embrião secundário (seta) é induzido no ectoderma ventral pelo lábio dorsal do blastóporo.

A situação anteriormente descrita é comum no desenvolvimento, no qual um tecido atua sobre outro para mudar seu destino. Esse processo é denominado **indução**. Isso requer pelo menos dois tecidos: um **tecido indutor** e um **tecido induzido**. Também é necessário que o tecido induzido seja capaz de responder ao tecido indutor mudando seu destino. Essa habilidade é denominada **competência** e é uma propriedade que é perdida com o tempo. Assim, usando o exemplo mencionado, o transplante de tecido para o ectoderma da *gástrula* pode induzir a lente a partir de células que nunca formariam lente no desenvolvimento normal. Entretanto, a repetição do experimento na fase de *nêurula* pode falhar em induzir a lente, pois o ectoderma pode não ser mais competente para ser induzido.

Nos anos recentes, ficou claro que as **interações indutivas**, assim como as denominadas **interações suppressoras** que evitam que um tecido forme seu tipo “padrão” de tecido (p. ex., os Bmps impedem o ectoderma de seguir seu destino padrão, ectoderma neural; abordado no Cap. 3), depende da secreção de pequenos fatores de crescimento do tecido indutor, onde se ligam a receptores específicos presentes na superfície das células do tecido induzido. As famílias dos fatores de crescimento envolvidos e as cascatas de sinalização acionadas no tecido induzido serão abordadas posteriormente neste capítulo.

Visualizando a expressão gênica

Foram desenvolvidas técnicas para revelar padrões de expressão gênica em embriões em desenvolvimento. Para embriões relativamente jovens (e pequenos), essas técnicas podem ser aplicadas em embriões inteiros intactos (denominados *whole mounts*). Se for preciso maior detalhe tecidual, esses embriões podem posteriormente ser seccionados de forma seriada (em uma sequência) e estudados histologicamente. Apesar de ser mais trabalhoso para os embriões mais velhos, em que a penetração de reagentes pode ser um problema, o tecido pode ser seccionado primeiro e, em seguida, identificado como secções (em vez de *whole mounts*) para revelar os padrões de expressão gênica. São

usadas duas técnicas, uma para visualizar padrões de expressão proteica – imuno-histoquímica – e outra para visualizar padrões de expressão de RNA – hibridização *in situ*.

Ambas as técnicas podem ser usadas em embriões não tratados (controle) para revelar padrões normais de expressão gênica ao longo do tempo. Além disso, elas podem ser usadas em estudos experimentais, geralmente para visualizar marcadores específicos de tipos de tecido. Como no exemplo abordado anteriormente, marcadores específicos de lente podem ser usados para demonstrar que o ectoderma induzido estava, de fato, formando lentes e não alguma outra estrutura ectodérmica que tivesse uma morfologia similar (p. ex., placoide ótico e o rudimento ectodérmico que forma o ouvido interno; abordado no [Cap. 18](#)).

Imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica é utilizada para demonstrar padrões de expressão de proteínas ([Fig. 5-13](#)). A principal limitação desta técnica é que ela necessita de um anticorpo específico para identificar a proteína que o pesquisador quer visualizar. Assumindo que um anticorpo específico esteja disponível, um procedimento típico (existem muitas variações) é fixar os embriões para preservá-los, tratá-los com detergentes para fazer pequenos buracos nas membranas celulares que facilitam a penetração do reagente, tratá-los com um anticorpo específico (p. ex., um anticorpo para a proteína *sonic hedgehog*; geralmente um anticorpo tipo IgG de coelho) e, então, utilizar um anticorpo secundário feito contra o primeiro anticorpo (assumindo que o primeiro, conhecido como *anticorpo primário*, é um IgG de coelho, o segundo deve ser um anti-IgG do coelho feito em cabra). O anticorpo secundário é ligado a um marcador como a peroxidase (revelado através de uma posterior reação de coloração).

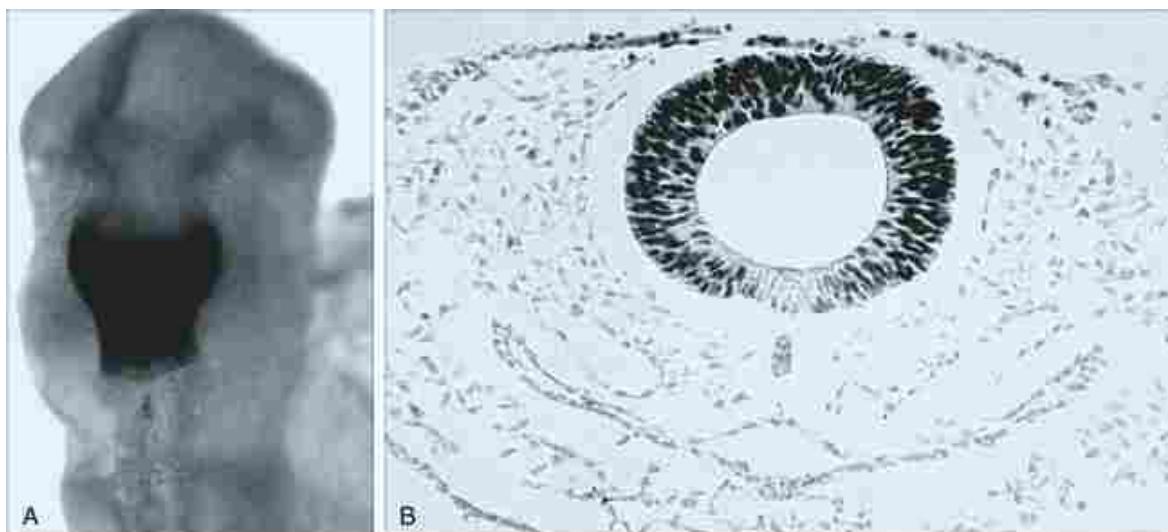


FIGURA 5-13 Uso de anticorpos específicos e imuno-histoquímica para marcar grupos particulares de células. *A*, Cabeça de um embrião de galinha após a marcação com um anticorpo para *engrailed-2*, um fator de transcrição produzido nas células do futuro mesencéfalo/rombencéfalo rostral (denominado região do istmo). *B*, Corte transversal através do mesencéfalo mostrando a marcação no núcleo da maioria das células da região do mesencéfalo (exceto as células no piso da placa sobrejacente à notocorda). Poucas células também estão coradas no ectoderma cutâneo sobrejacente ao mesencéfalo.

Hibridização *in situ*

A hibridização *in situ* é utilizada para demonstrar padrões de expressão de RNA ([Fig. 5-14](#)). A abordagem é similar à usada na imuno-histoquímica, começando com a fixação e o tratamento com detergente. Os embriões são, então, hibridizados com uma sonda específica feita de RNA (denominada ribossonda), que é complementar ao RNAm de interesse (*i.e.*, uma ribossonda antisenso). Quando a ribossonda é preparada, ela é marcada com digoxigenina, uma pequena molécula antigênica obtida da planta *Digitalis*. Após a hibridização e a lavagem para remover a ribossonda não ligada, a digoxigenina (DIG) pode ser detectada essencialmente como descrito anteriormente para a imuno-histoquímica, pela utilização de um anticorpo anti-DIG.



FIGURA 5-14 Uso de ribossomas específicas e de hibridização *in situ* para marcar grupos específicos de células. Todo o embrião de galinha é marcado com a sonda para *Lmx1*, um fator de transcrição. A marcação ocorre em várias áreas do embrião, incluindo grande parte do cérebro e dos membros anteriores e posteriores. É interessante notar que apenas os lados dorsais dos membros anteriores e posteriores são marcados, mas não seus lados ventrais (os lados ventrais não são visíveis na imagem mostrada). O olho, que também aparece marcado nesta foto, não é marcado pela sonda (ele aparece escuro porque contém pigmentação).

Ao examinar os resultados da hibridização *in situ*, é importante manter em mente duas advertências. Primeiro, embora alguns RNAs funcionem no embrião sem serem traduzidos em proteína (p. ex., micro RNAs), para muitos genes, a tradução do seu RNA em proteína é necessária para a sua função. Por exemplo, o RNA *sonic hedgehog* não funciona a menos que seja traduzido na proteína *sonic hedgehog*. Normalmente, a expressão do RNA é usada para inferir a função da proteína traduzida, mas esta pode não ser uma inferência válida, pois os RNAs podem ser transcritos em um momento em particular do desenvolvimento sem serem traduzidos. Segundo, os RNAs marcam as células que transcrevem um gene em particular, mas se a proteína traduzida for secretada e difundida, ela poderá atuar a alguma distância de onde o RNA foi transcrito. Assim, o local da expressão do RNA não necessariamente corresponde ao local onde a proteína atua.

Manipulação da expressão gênica

Uma abordagem poderosa na biologia do desenvolvimento é a alteração da expressão gênica em embriões em desenvolvimento, ou seja, ectopicamente (super)expressar os genes ou bloquear sua expressão (ou função). Expressar genes ectopicamente em um embrião é o equivalente molecular da **embriologia experimental de colagem** clássica, e frequentemente a questão é: O gene de interesse é *suficiente* para fazer com que um evento do desenvolvimento em particular ocorra ([Fig. 5-15](#))? Promover o *knockout* de um gene ou removê-lo é o equivalente molecular da **embriologia experimental de corte** clássica, e frequentemente a questão é: O gene de interesse é *necessário* para fazer com que um evento do desenvolvimento em particular ocorra? As diferenças e as similaridades entre a embriologia experimental clássica e a embriologia experimental molecular são ilustradas nas [Figuras 5-12](#) e [5-15](#), utilizando-se um exemplo específico: indução de um embrião secundário através do transplante do lábio dorsal do blastóporo de um embrião de sapo (o organizador; discutido no [Cap. 3](#)), ou da superexpressão ectópica de moléculas secretadas pelo organizador. Muitas técnicas têm sido desenvolvidas para alterar a expressão gênica. Essas técnicas tiram vantagem dos atributos experimentais únicos que cada sistema modelo oferece. Pelo fato de o **gene-alvo** em camundongos ser considerado a principal abordagem para a manipulação gênica por muitos biólogos do desenvolvimento, a próxima seção enfatiza a manipulação gênica neste sistema modelo.

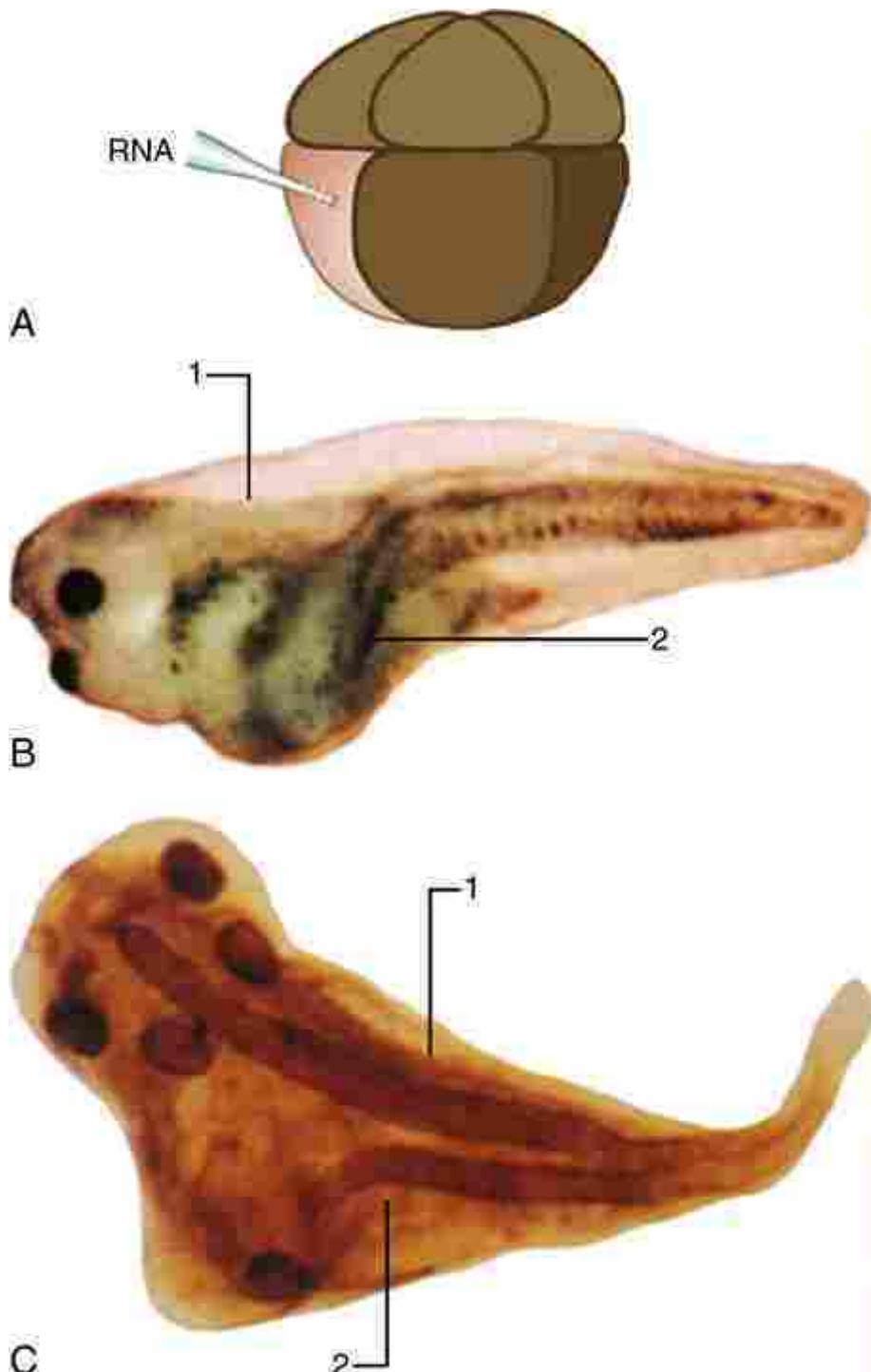


FIGURA 5-15 O equivalente molecular do corta-e-cola da embriologia. *A*, Um blastômero ventral do embrião inicial de *Xenopus* é injetado com o RNA que codifica uma proteína que em geral é expressa especificamente dentro do lábio dorsal do blastóporo. *B, C* (vistas lateral e dorsal, respectivamente), Após o desenvolvimento subsequente, um embrião secundário (2) é induzido pelo gene ectopicamente (*i.e.*, colado) expresso. 1, Embrião primário.

Manipulação do genoma do camundongo

Ao longo dos últimos anos, diversas técnicas genético-moleculares poderosas têm sido desenvolvidas para manipular o genoma do camundongo. Várias linhas de pesquisa se uniram para produzir as técnicas que tornam possível inserir sequências específicas de DNA em seus locais corretos no genoma do camundongo, através de um processo denominado *gene targeting*. Estas técnicas dão aos pesquisadores o poder de alterar e manipular o genoma e investigar a função de qualquer gene de interesse. Incapacitar genes normais específicos (fazendo *knockout* no gene desejado) ou substituir um gene normal por gene mutado (fazendo *knockin* do gene mutado no lugar do gene normal) pode criar modelos animais de doenças genéticas humanas. Além disso, o desenvolvimento da capacidade de corrigir os genes

defeituosos estabelece as bases para o surgimento de técnicas para curar doenças genéticas.

Um **camundongo transgênico** é um camundongo cujo genoma foi alterado pela integração das sequências de DNA do doador. A forma mais direta de criar um camundongo transgênico é injetar diversas cópias da sequência de DNA do doador no pró-núcleo masculino de um ovo fecundado. O pró-núcleo masculino é usado porque é maior do que o pró-núcleo da fêmea (Fig. 5-16). O DNA injetado às vezes se integra de forma estável aos cromossomos do hospedeiro e, em muitos casos, o gene do doador é expresso. Em um experimento pioneiro, por exemplo, o gene do hormônio de crescimento de rato, dependente de zinco, foi introduzido no genoma de uma série de camundongos. Quando o zinco foi adicionado à água de beber para induzir a expressão do gene do hormônio de crescimento do rato, esses camundongos transgênicos cresceram numa taxa duas vezes maior do que a dos animais controle.

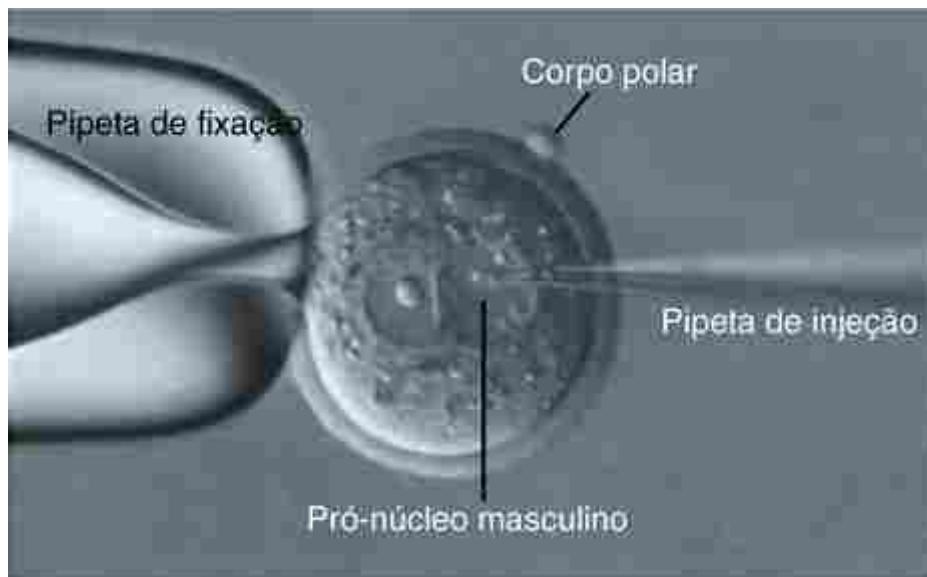


FIGURA 5-16 Um procedimento usado para criar um camundongo transgênico. Um ovócito é mantido no lugar por meio de uma pipeta de sucção (fixação), e é injetado DNA no pró-núcleo masculino, o maior dos dois núcleos, logo após ter ocorrido a fecundação.

Embora seja um método simples, a injeção de DNA no pró-núcleo masculino do ovo fecundado não coloca o gene doador em um local específico no genoma hospedeiro. Entretanto, isso pode ser conseguido inserindo-se o DNA do doador dentro das células obtidas no interior da massa celular do blastocisto, enquanto as raras células em que o DNA do doador se integrou corretamente são identificadas e usadas para criar um tipo especial de animal transgênico denominado **injeção quimera**. Nesta abordagem, os blastocistos são coletados dos ovidutos de fêmeas de camundongos fertilizadas e são cultivados sobre uma camada de fibroblastos em uma placa de cultura. A cultura faz com que um aglomerado de células da massa celular interna projete-se do blastocisto. Esses aglomerados de massa celular interna são coletados e subcultivados para produzir linhagens estáveis de **células-tronco embrionárias (ES)**, que são **totipotentes** (capaz de dar origem a qualquer tecido do corpo).

Sequências de DNA do doador podem ser introduzidas nas células ES em cultura por meio de uma técnica denominada **eletroporação**, em que uma suspensão de células ES é misturada com diversas cópias do DNA do doador e submetidas a uma corrente elétrica. Esta corrente facilita o movimento do DNA do doador através da membrana da célula, tornando possível que o DNA entre no núcleo. Em uma pequena fração dessas células, o DNA introduzido é incorporado por **recombinação homóloga** no local desejado do genoma. Os genes marcadores adequados e as técnicas de triagem são usados para isolar e fazer subcultura destas raras “células-alvo”.

Se as sequências de DNA introduzidas tiverem uma mutação para bloquear a transcrição do gene-alvo, diz-se que o gene foi **knocked-out**. E, também, o alelo contendo a sequência mutada (ou, no fim das contas, o camundongo transgênico contendo a sequência mutada; ver o próximo parágrafo) diz-se que é **nulo** para o gene em particular.

Para criar camundongos transgênicos contendo o novo DNA, grupos de 8 a 12 células ES selecionadas são injetados na cavidade de um blastocisto normal de camundongo, onde se combinam com a massa celular interna e participam da formação do embrião (Fig. 5-17). Os blastocistos resultantes (chamados **quimeras**, pois são compostos de células de duas fontes diferentes) são, então, implantados no útero de uma fêmea de camundongo pseudogravida, onde eles se desenvolvem normalmente. Dependendo de sua localização no disco embrionário, as células-tronco embrionárias podem contribuir com qualquer tecido do camundongo químérico. Quando contribuem para a linhagem germinativa, os genes do doador podem ser passados para os filhotes. Os genes dominantes do doador podem gerar fenótipo nos

filhotes imediatos, mas se os genes do doador forem recessivos (como geralmente são), um programa de procriação consanguínea é usado para produzir uma estirpe homozigótica que possa expressar o fenótipo.

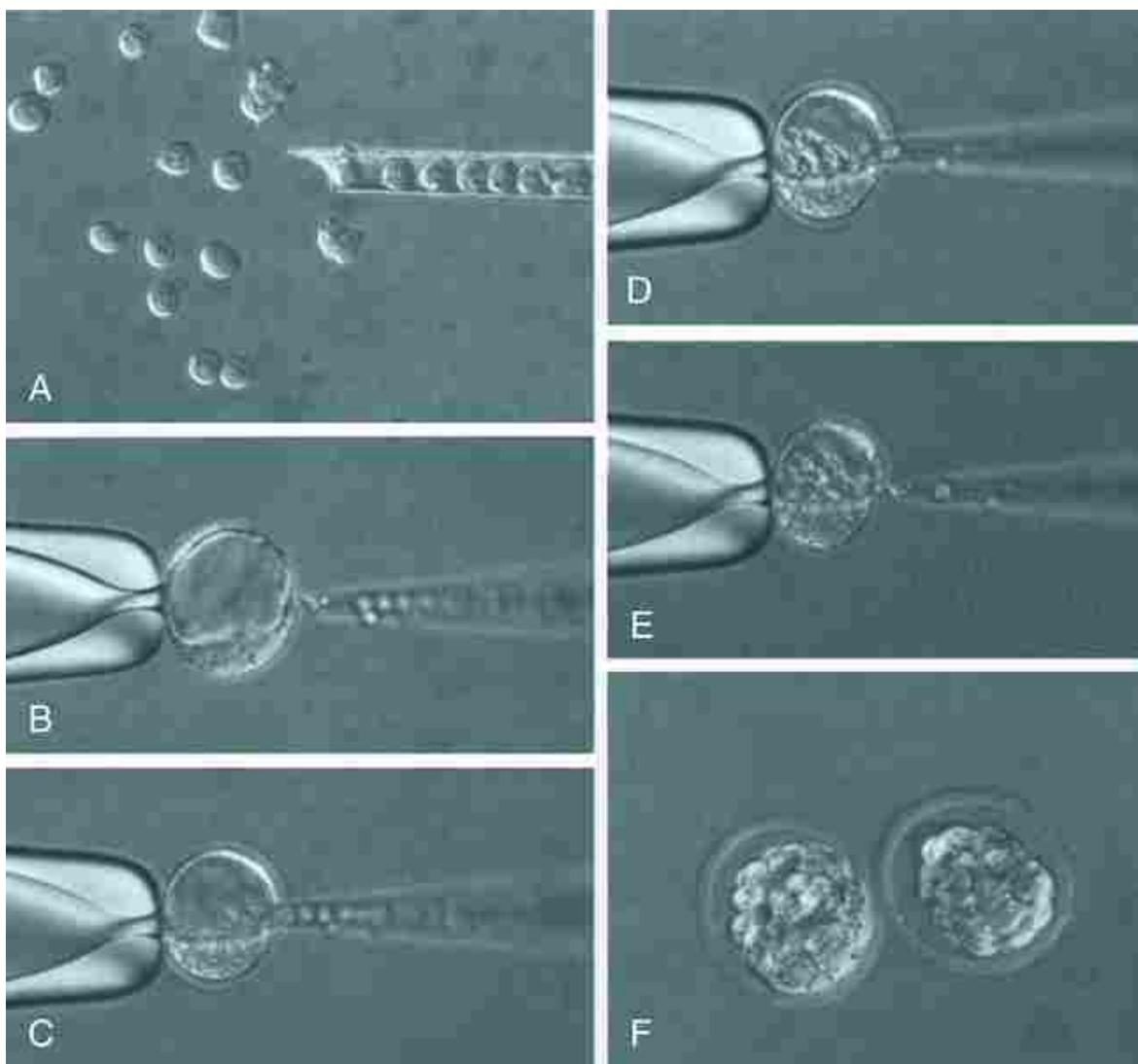


FIGURA 5-17 Um procedimento usado para fazer camundongos químéricos. *A*, Os blastocistos são dissociados em blastômeros individuais, ou, alternativamente, células-tronco embrionárias (ES) derivadas da massa celular interna são coletadas por meio de uma pipeta. *B-E*, Usando uma pipeta de sucção para segurar o blastocisto, as células coletadas são injetadas dentro da blastocele. *F*, As células injetadas se misturam aleatoriamente com as células da massa interna e com as células do trofoblasto, e depois são formados blastocistos novamente reorganizados. Estes são injetados nos cornos uterinos de fêmeas pseudogravidas, onde eles se implantam e se desenvolvem normalmente.

Não é incomum nos estudos de *knockout* de genes em camundongos que eles nasçam aparentemente normais, apesar de não apresentarem um gene que os cientistas teriam previsto (com base, p. ex., nos padrões de expressão gênica) como crucial para o desenvolvimento. Existem três razões prováveis para tal resultado. Primeiro, muitos cientistas acreditam que um camundongo não pode ser normal se ele não tem qualquer gene em particular – isto é, eles acreditam que se o camundongo fosse completa e apropriadamente avaliado, algum defeito (anatômico, bioquímico, fisiológico ou comportamental) seria encontrado. Em outras palavras, eles acreditam que um defeito sutil está presente, podendo facilmente passar despercebido, a não ser que seja feita uma avaliação apropriada. Segundo, como ocorreu a duplicação de genes durante a evolução dos vertebrados, de tal forma que os genes críticos de controle do desenvolvimento de *Drosophila* são representados por vários membros da família nos camundongos, existe **redundância gênica**. Assim, por exemplo, na ausência hipotética, de um dos genes Hox, o animal parece normal porque um segundo (ou terceiro) gene Hox redundante, que ainda é expresso, tem função de sobreposição com o gene que sofreu *knockout*. Terceiro, na ausência da expressão de um gene, a expressão de outro gene pode ser super-regulada. Assim, pode ocorrer **compensação**. Apesar dessas possibilidades, os camundongos que abrigam genes que sofreram *knockout* muitas vezes têm defeitos de desenvolvimento muito óbvios que permitem aos investigadores

formular uma compreensão do(s) papel(es) do gene que sofreu *knockout* no desenvolvimento.

Camundongos transgênicos condicionais também podem ser manipulados de modo que o gene mutado (*knocked-out*) ou inserido (*knocked-in*) seja expresso apenas em determinados tecidos particulares ou apenas em momentos precisos do desenvolvimento. Isso é importante porque, por exemplo, quando um gene, tal como um membro da família do Fgf, que é necessário para a gastrulação e para o subsequente desenvolvimento do ouvido sofre *knockout*, o embrião pode morrer durante a gastrulação. Assim, o papel deste gene no desenvolvimento do ouvido (que ocorre alguns dias depois) não pode ser estudado. Existem duas abordagens gerais para este problema. Primeiro, usando **promotores específicos de tecido** e o **sistema cre-lox**, o gene de interesse pode sofrer *knockout* apenas e especificamente na região que irá formar o ouvido, e não na linha primitiva. Segundo, usando **promotores induzíveis** e o **sistema cre-lox**, o tempo em que o gene sofre *knockout* pode ser adiado até que a gastrulação tenha ocorrido, mas antes do início do desenvolvimento do ouvido. Assim, a solução para a compreensão da atividade tardia de um gene embrionário que também atue mais precocemente de forma letal é usar *knockouts* específicos ao tecido ou ao tempo.

Na primeira abordagem, o gene de interesse é flanqueado com os chamados sítios loxP em um vetor direcionador, e o camundongo transgênico é produzido como foi descrito anteriormente. Um segundo grupo de camundongos transgênicos é construído de forma que um promotor é utilizado para direcionar a expressão de *cre* recombinase no tecido de interesse. (A Cre recombinase é uma recombinase de sítios específicos do DNA, derivada do fago; em um procedimento alternativo, a Flp recombinase, derivada de levedura, é utilizada quando o gene de interesse é flanqueado com a chamada sequência FRT.) Os dois grupos de camundongos transgênicos são reproduzidos, e durante o desenvolvimento o promotor específico do tecido direciona a expressão da Cre recombinase em períodos apropriados e nos tecidos apropriados durante o desenvolvimento. A Cre recombinase atua nos sítios *loxP* flanqueando o gene de interesse, que então é cortado, evitando a sua expressão apenas no tecido de interesse (*i.e.*, existe um controle espacial preciso da inativação gênica).

Na segunda abordagem, um promotor induzível é usado para direcionar a Cre recombinase, e o gene de interesse é cortado apenas na presença de um reagente exógeno aplicado, como o medicamento anticâncer de mama tamoxifeno ou o antibiótico tetraciclina. Assim, no momento desejado da gestação, é injetado tamoxifeno na cavidade peritoneal (abdominal) das fêmeas de camundongos gestantes, que rapidamente se difunde para os cornos uterinos contendo os embriões em desenvolvimento e ativa o promotor induzível. O gene de interesse é removido, por meio da expressão da Cre recombinase, fornecendo um controle temporal preciso da inativação gênica.

O sistema cre-lox também tem sido utilizado com os camundongos transgênicos ROSA26, ou seja, camundongos que expressam durante o desenvolvimento o gene repórter lacZ em todos os seus tecidos (o lacZ codifica a enzima betagalactosidase, cuja atividade pode ser prontamente detectada com uma reação colorimétrica). Entretanto, a expressão do gene lacZ é bloqueada pela presença de um fragmento de DNA de “parada” flanqueado ao loxP. Este fragmento de parada impede a transcrição e a tradução do gene lacZ, mas o lacZ é expresso especificamente na presença da *cre*. Ao cruzar os camundongos que contêm um promotor que direcionam *cre* especificamente para um tecido, com os camundongos ROSA26, serão marcadas (coloridas) as células e seus descendentes que expressam o gene de interesse, tornando possível que sejam seguidos com o passar do tempo para mapear a **linhagem** celular. Assim, esta abordagem é o equivalente da genética molecular para a coloração usada nos experimentos de mapas de destino.

Manipulação da expressão gênica em outros modelos

Uma abordagem comum em embriões de peixes-zebra e *Xenopus* é gerar **animais transgênicos transitórios** injetando as construções de DNA desejadas nos blastômeros iniciais (recentemente, como abordado anteriormente, as técnicas também foram desenvolvidas em *Xenopus [tropicalis]* e peixe-zebra para gerar linhagens de animais transgênicos). Usando este método, os genes podem ser expressos de forma ectópica em tecidos embrionários derivados da linhagem da célula injetada. Alternativamente, as células podem ser injetadas com **morfolinos** (RNA antissenso estabilizado) ou **RNAi** (RNA de interferência e de cadeia dupla). Ambas essas abordagens *derrubam* a expressão do gene em vez de bloqueá-lo completamente.

Recentemente, essas abordagens foram aplicadas em embriões de galinha e às vezes em embriões de camundongo para gerar animais transgênicos transitórios. Como os embriões de galinha e camundongo têm células relativamente pequenas, essas células não podem ser injetadas como as células dos embriões do peixe-zebra e *Xenopus*. Ao invés disso, os genes são introduzidos nas células usando-se vírus projetados ou através da **eletroporação do embrião inteiro** (ou outras técnicas, como a sonoporação e a lipofecção). Fundamentalmente, a eletroporação do embrião inteiro é igual ao processo usado na eletroporação de células em cultura (abordados anteriormente). A eletroporação do embrião inteiro permite que o pesquisador direcione uma sequência de DNA para um tecido em particular, em um determinado período do desenvolvimento, e para estudar seus efeitos quando superexpressos (neste caso, a sequência é o gene inteiro) ou *knocked down* (as sequências consistem em um antissenso, morfolino ou RNAi, especificamente projetado para desligar a expressão do gene de interesse).

Outra abordagem importante, utilizada muito efetivamente para estudar a sinalização de fator de crescimento,

especialmente em *Xenopus*, é injetar **receptores negativos dominantes** (Fig. 5-18). Estes são receptores de fatores de crescimento projetados que contêm o domínio extracelular de ligação ao ligante, que, por sua vez, liga-se ao fator de crescimento, mas não apresenta o domínio intracelular necessário para a sinalização (ou seja, os receptores são truncados). Quando presentes em excesso no espaço extracelular (ou ligados em excesso na superfície da célula), os receptores negativos dominantes se ligam aos fatores de crescimento secretados, evitando que eles se liguem nos receptores intactos, bloqueando assim a sinalização.

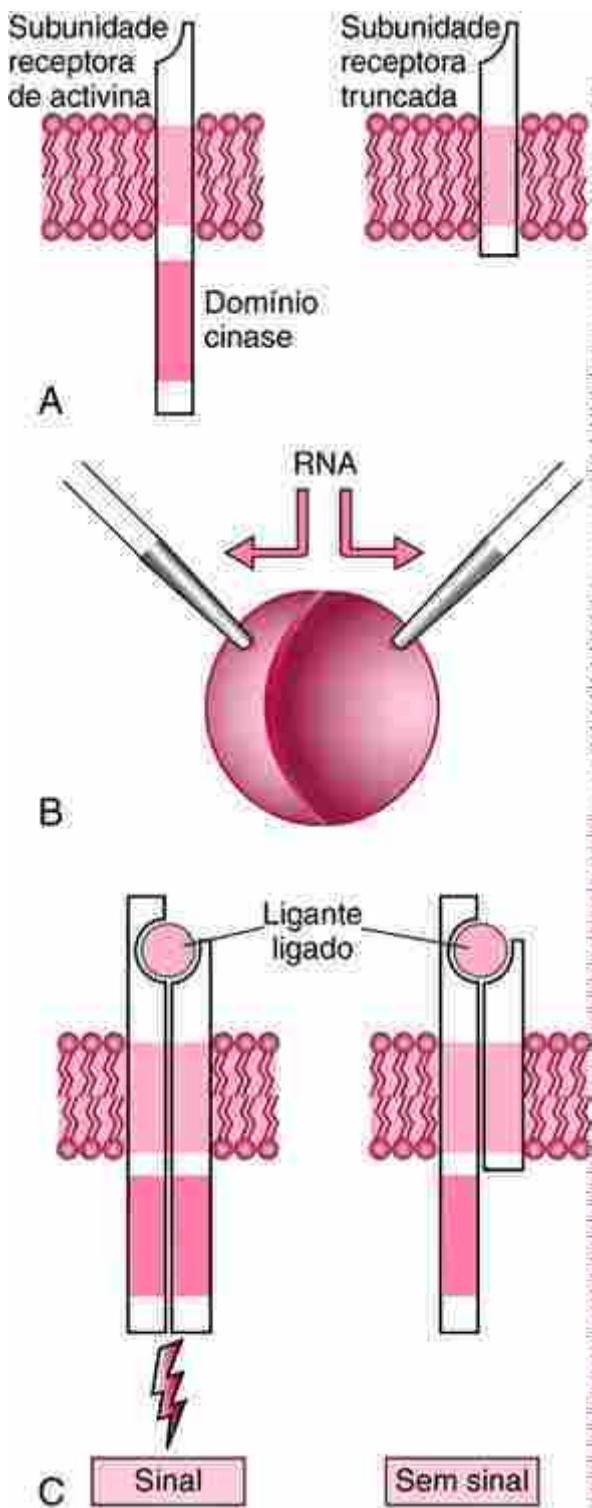


FIGURA 5-18 Equivalente molecular da embriologia experimental corta-e-cola. **A**, Neste exemplo, foram construídos receptores truncados de activina sem o domínio de sinalização intercelular. **B**, O RNA codificando o receptor truncado (dominante negativo) é injetado em um blastômero de um embrião inicial de *Xenopus*. **C**, Pelo fato de a quantidade de mensagem injetada para o receptor truncado ser muito superior em relação à quantidade de mensagem endógena para o tipo selvagem do receptor, a maioria dos receptores em dimerização apresenta uma ou duas subunidades truncadas e, portanto, não podem sinalizar.

Vias de sinalização

Embriões humanos, assim como os dos modelos animais, são padronizados progressivamente durante a embriogênese, em grande parte graças às **interações célula-célula**. Estas interações são uma forma de **comunicação intercelular** que é mediada pela secreção de moléculas de sinalização solúveis que se difundem no espaço extracelular para alcançar as células adjacentes. As **cascatas de sinais** que as células recebem durante o desenvolvimento determinam seu destino.

Assim, genes reguladores que agem precocemente iniciam o desenvolvimento de grupos de células por meio da indução da expressão de outros genes mais tardios da cascata. As atividades desses genes, em seguida, induzem a expressão de outros genes, e assim por diante, até que sejam ativados os genes que codificam as características estruturais e funcionais das células e dos tecidos específicos do embrião. Um número relativamente pequeno de vias de sinalização (menos de 20) atua nessas cascatas. Muitas dessas vias de sinalização foram identificadas pela primeira vez na *Drosophila*. Posteriormente, as famílias de ortólogos dos genes que codificam essas vias de sinalização foram identificadas em vertebrados. Antes das principais vias de sinalizações envolvidas no desenvolvimento dos vertebrados serem discutidas, será abordado um esquema geral das vias de sinalização atuantes no desenvolvimento da *Drosophila*.

Padronizando o embrião de *drosophila*: uma porta de entrada para o entendimento do desenvolvimento humano

Na *Drosophila*, a cascata de sinalização é iniciada por genes expressos antes da fecundação, os chamados **genes de efeito materno** (Fig. 5-19). Esses genes codificam sinais que estabelecem os eixos do embrião da *Drosophila*, a saber, o eixo anteroposterior (eixo craniocaudal em humanos) e o eixo dorsoventral. Na *Drosophila*, os genes de efeito materno codificam proteínas que conferem diferenças em sub-regiões do ovócito, zigoto e embrião inicial, ao longo dos seus respectivos eixos, incluindo **fatores de crescimento** e **fatores de transcrição**. Embora esses **determinantes citoplasmáticos** localizados sejam importantes para o desenvolvimento da *Drosophila* e de alguns vertebrados (como o *Xenopus*), a maioria das evidências sugere que o citoplasma dos ovócitos de mamíferos é relativamente homogêneo em sua composição e que os genes de efeito materno desempenham pouco ou nenhum papel na padronização inicial do embrião de mamífero.

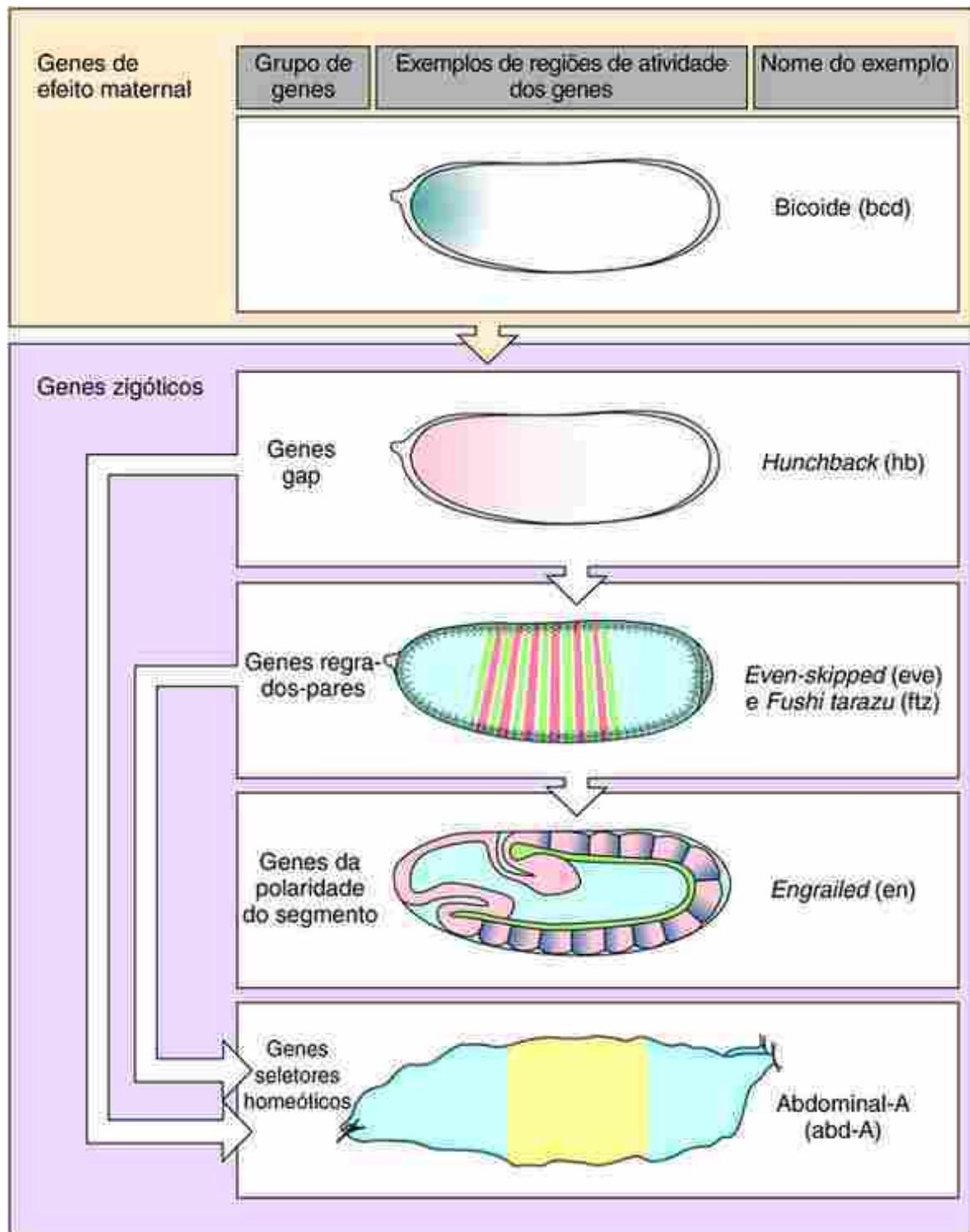


FIGURA 5-19 Genes do processo de padronização inicial de *Drosophila*. Eles são tanto genes de efeito maternal quanto de quatro tipos de genes zigóticos: genes gap, genes regra-dos-pares, genes de polaridade de segmento e genes seletores homeóicos.

Durante o desenvolvimento embrionário precoce, a expressão dos genes de efeito materno é substituída por uma classe de genes denominados **genes zigóticos** (Fig. 5-19). Esses genes são chamados **zigóticos** porque são expressos após a fecundação e envolvem genes herdados tanto da mãe quanto do pai. No gênero *Drosophila* existem quatro classes de genes zigóticos, os quais atuam no estabelecimento básico do plano corporal anteroposterior: **genes gap**, **genes regra-dos-pares**, **genes de polaridade de segmentos** e **genes seletores homeóicos**. Os genes de efeito materno regulam a expressão dos genes gap, os quais, por sua vez, regulam a expressão dos genes regra-dos-pares, que, por sua vez, regulam a expressão dos genes de polaridade de segmentos. Estes genes especificam os segmentos. Os genes de polaridade de segmentos regulam a expressão dos genes seletores homeóicos, que fornecem identidade regional para os diferentes segmentos.

Embora as cascatas de expressão e regulação dos genes zigóticos sejam mais variadas em vertebrados, ortólogos de todas as classes de genes zigóticos de *Drosophila* funcionam durante a padronização dos vertebrados. Assim, o nosso entendimento das bases genético-moleculares da padronização em *Drosophila* tem prestado um importante ponto de entrada para a compreensão do desenvolvimento dos vertebrados, incluindo seres humanos. Em geral, ortólogos em vertebrados dos genes envolvidos na padronização da *Drosophila* constituem dois tipos de moléculas: fatores secretados que agem como **moléculas de sinalização** e **fatores de transcrição**. Os fatores de transcrição “ligam” ou “desligam” outros genes quando aderem nas regiões regulatórias de seus DNAs. Diversos fatores de transcrição contendo sequências de nucleotídeos relacionadas aos dos genes regra-dos-pares, polaridade de segmentos e seletores homeóticos de *Drosophila* foram identificados em mamíferos, e, como no caso da *Drosophila*, alguns desses ortólogos de mamíferos também desempenham papéis na segmentação. Por exemplo, a segmentação do cérebro posterior dos mamíferos (abordado nos [Caps. 9, 10 e 17](#)), os arcos faríngeos da região de cabeça e pescoço (abordados no [Cap. 17](#)) e os somitos do tronco (abordados no [Cap. 4](#)) são regulados pelo menos em parte por esses genes.

Um grupo importante e bem estudado de ortólogos de mamíferos dos genes seletores homeóticos da *Drosophila* contém uma região de DNA altamente conservada de 183 pares de base denominada **homeobox**, que codifica o **homeodomínio** com 61 aminoácidos. O homeodomínio reconhece e se liga a sequências específicas de DNA de outros genes. Por conseguinte, essas proteínas codificadas funcionam como fatores de transcrição que regulam a atividade de muitos genes “subsequentes” na cascata e, como consequência, são muitas vezes citados como **genes de controle mestre**. Em um subconjunto especial, os genes seletores homeóticos de *Drosophila* estão organizados em dois grupos no cromossomo 3 e são coletivamente denominados **complexo homeótico** ou **HOM-C** ([Fig. 5-20](#)). Um ancestral comum deste complexo foi duplicado uma vez e, então, cada complexo resultante foi duplicado novamente durante a evolução dos mamíferos. Os quatro complexos de genes homeobox em mamíferos são chamados **genes Hox**.

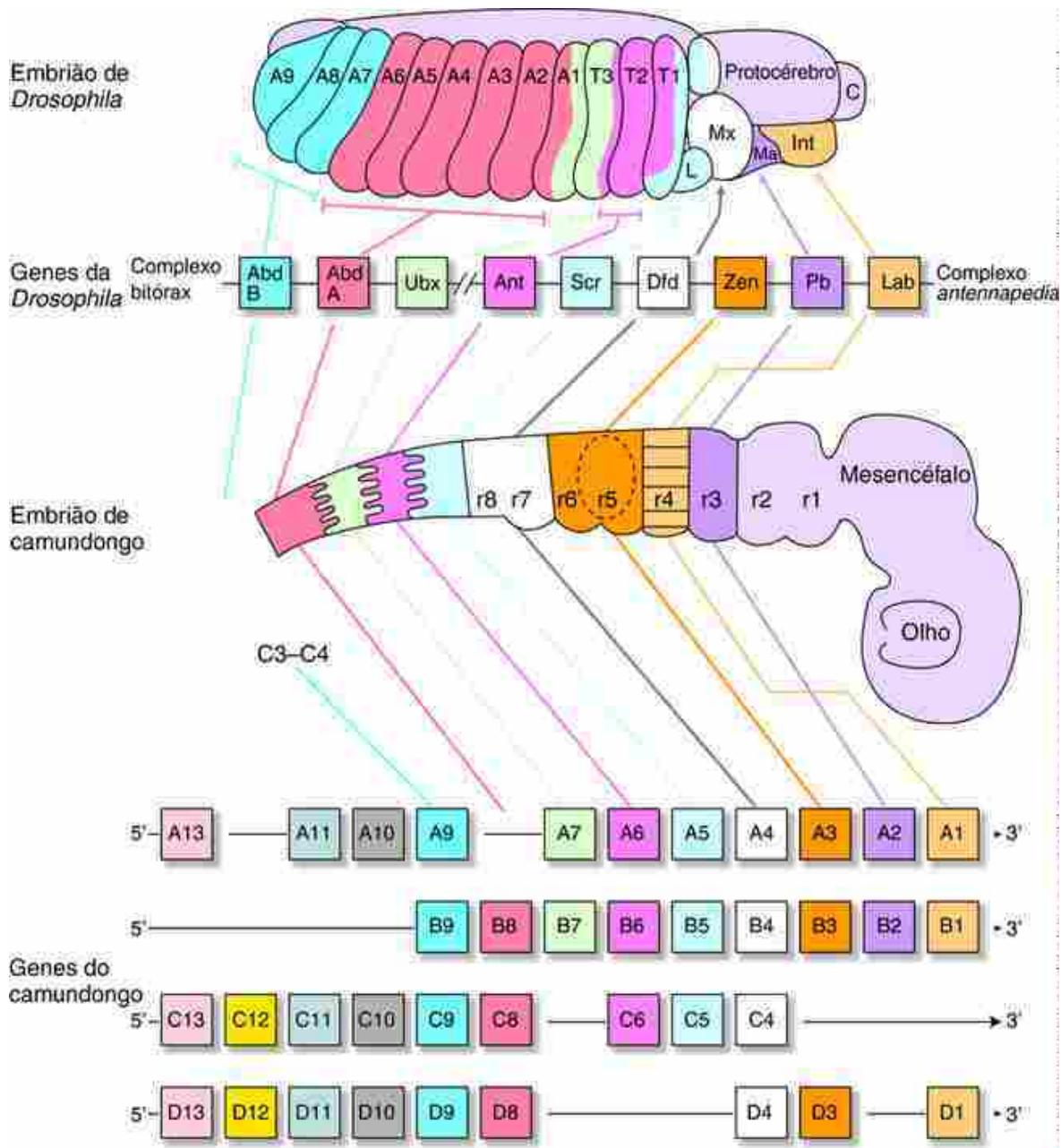


FIGURA 5-20 Alinhamento dos quatro complexos *Hox* de vertebrados com o complexo homeótico de *Drosophila*. O embrião da *Drosophila* tem sete segmentos na cabeça (cinco são rotulados como se segue: C, clípolabrum; Int, intercalary; L, labial; Ma, mandibular; Mx, maxilar), três segmentos torácicos (T1-T3) e nove segmentos abdominais (A1-A9). Os genes que padronizam esses segmentos encontram-se dentro de dois complexos no cromossomo 3: o complexo *antennapedia*, que consiste em labial (Lab), *proboscipedia* (Pb), *deformed* (Dfd), *sex combs reduced* (Scr) e *antennapedia* (Ant); e o complexo bitórax, consistindo em *ultrabitórax* (Ubx), abdominal A (Abd A) e abdominal B (Abd B). Os genes *Hox*, ortólogos dos genes de *Drosophila*, estão presentes em vertebrados, incluindo camundongos e humanos. Existem quatro grupos de genes *Hox* (A-D), com até 13 membros por grupo. O gene de *Drosophila* *Zerknüllt* (Zen) não é expresso nos segmentos da cabeça da *Drosophila*. Ele é ortólogo do gene *Hox* 3 de vertebrado.

Na *Drosophila*, mutações nos genes seletores homeóticos muitas vezes resultam em transformações notáveis de partes do corpo. Uma mutação que resulta em silenciamento do gene *antennapedia* durante o desenvolvimento, por exemplo, faz com que as células, que normalmente formariam antenas, formem pernas, que agora saem da cabeça. De forma similar, uma mutação no gene *Ultrabithorax* resulta em uma transformação homeótica, com o terceiro segmento torácico convertido em segundo segmento adicional, dando origem a uma mosca-de-fruta com quatro asas ao invés de duas normais.

Os genes HOM-C da *Drosophila* e o Hox dos mamíferos foram extremamente conservados durante a evolução aos níveis da organização, sequência, expressão e função dos grupos. Embora os genes *Hox* de mamíferos tenham sido individualmente alterados através da evolução, eles mantêm uma homologia de sequência significativa com os genes HOM-C de insetos. A ordem dos genes *Hox* nos grupos de mamíferos é paralela à observada no HOM-C da *Drosophila*.

As sequências de aminoácido dos homeodomínios codificados pelos genes de *Drosophila* e seus ortólogos em mamíferos, ou genes correspondentes, frequentemente são mais que 90% idênticos. Além disso, tanto em mamíferos quanto em mosca-de-fruta, esses genes exibem a propriedade de **colinearidade**, onde a posição do gene dentro do complexo reflete o seu domínio de expressão no embrião em desenvolvimento. Como mostrado na [Figura 5-20](#), os genes localizados na posição mais a 5' dentro dos complexos são expressão em regiões mais caudais do embrião.

As moscas-de-fruta **transgênicas**, carregando genes experimentalmente adicionados, têm sido utilizadas para demonstrar um nível inesperado de conservação funcional entre os genes HOM-C de *Drosophila* e os *Hox* de mamíferos. Por exemplo, a alteração da expressão do ortólogo de mamífero do gene *antennapedia* da mosca-de-fruta em desenvolvimento também causa a transformação homeótica de antenas em pernas. Isso sugere que tanto os genes de *Drosophila* quanto os de mamíferos são capazes de reconhecer os mesmos genes-alvo na sequência e iniciar a mesma cascata genética. É interessante notar que a alteração da expressão do gene *antennapedia* da *Drosophila* ou do gene correspondente em mamífero resulta na formação ectópica de pernas de *Drosophila* e não em pernas de mamífero. Isto ocorre porque, dentro do contexto genético da mosca-de-fruta, os genes-alvo na sequência apenas são capazes de programar o desenvolvimento de uma perna de mosca-de-fruta.

Padronização do embrião de vertebrado

Como discutido na seção anterior, a padronização de um embrião de vertebrado ocorre através de cascatas de sinalização geradas por famílias de genes ortólogos envolvidos na padronização da *Drosophila*. Um esquema geral para ilustrar como tal padronização ocorre é mostrado na [Figura 5-21](#). Uma célula indutora (em vertebrados, o que tipicamente acontece é um grupo de células ao invés de uma única célula) secreta uma pequena molécula sinalizadora, ou **fator de crescimento**. Esse fator difunde-se através da matriz extracelular para a célula induzida (em vertebrados, novamente, tipicamente um grupo de células ao invés de uma única célula), onde se liga a um **receptor** na superfície da célula. A ligação ativa (geralmente através da **fosforilação** de proteínas intracelulares) uma cascata de sinalização intracelular (uma série de **proteínas de transdução de sinais**), que no final resulta no movimento de fatores de transcrição para dentro do núcleo, onde eles se ligam nas regiões específicas do DNA e alteram a transcrição. Isso, por sua vez, pode resultar na diferenciação celular para formar um tipo celular específico. Muitas vezes, a transcrição alterada leva à secreção de novos fatores de crescimento, que modificam o destino de outras células ou fornecem uma resposta de controle negativo à secreção de fatores de crescimento vindos da célula indutora.

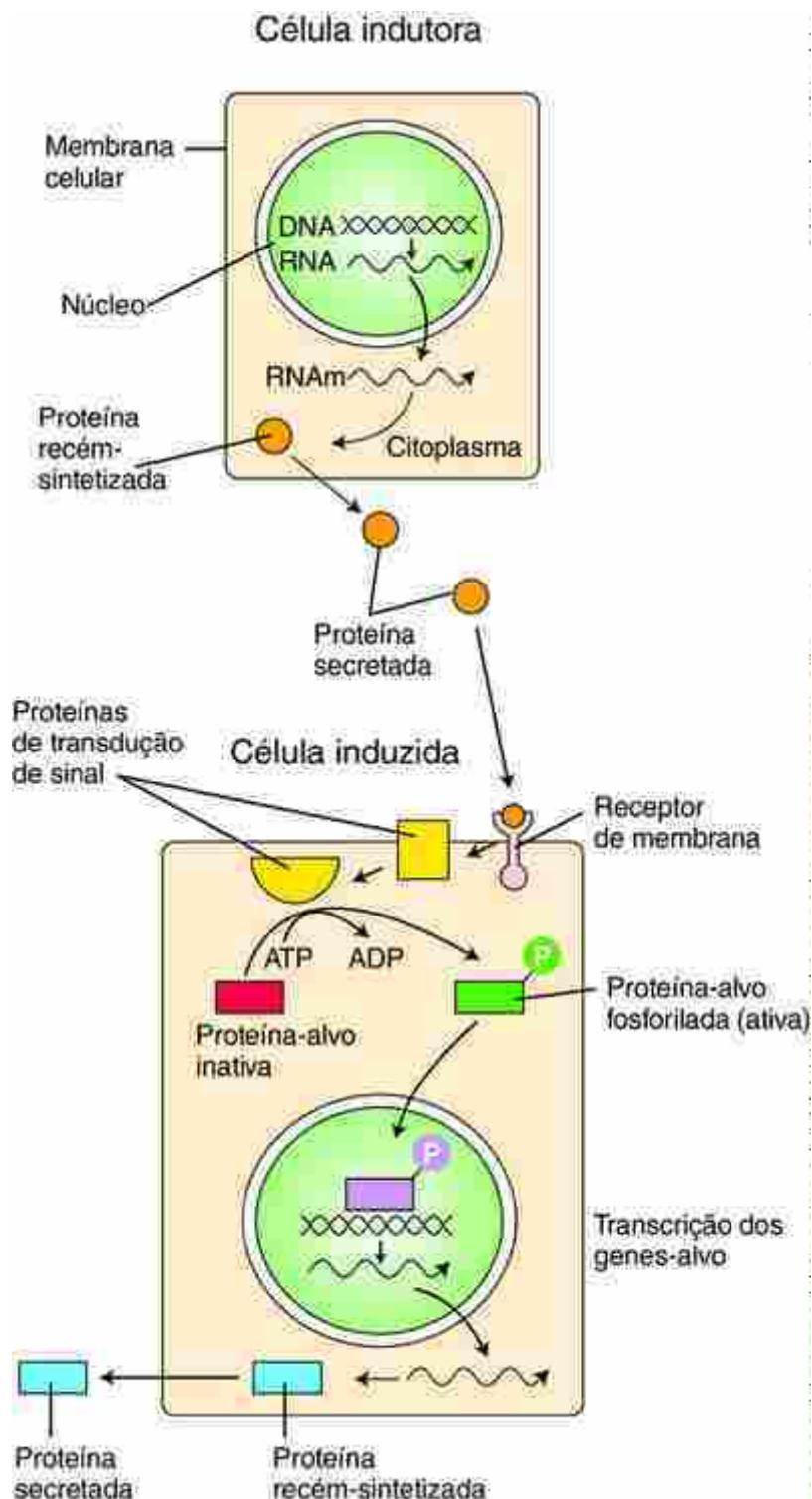


FIGURA 5-21 Uma cascata genérica de transdução de sinal. As células indutoras influenciam suas vizinhas secretando pequenas proteínas (fatores de crescimento), que se difundem para as células adjacentes (células induzidas) e ligam-se aos receptores da membrana. Isso inicia uma cascata de sinalização intracelular por meio de uma série de proteínas de transdução de sinais e eventos de fosforilação. As proteínas fosforiladas entram no núcleo, onde alteram a expressão gênica, levando à síntese de novas proteínas.

A seguir, algumas das principais vias de sinalização conhecidas por desempenhar papéis específicos no desenvolvimento de vertebrados (e abordadas em maior detalhe nos capítulos apropriados) serão brevemente retratadas. Uma característica de cada uma dessas vias é a sua complexidade. O propósito desta seção é ajudar você a colocar os principais personagens no contexto, de modo que você tenha uma compreensão mais global sobre a sinalização, considerando que você encontra membros específicos dessas vias (p. ex., *sonic hedgehog*) em diversos capítulos. Cada uma das vias de sinalização foi amplamente simplificada para abordar apenas os componentes principais vistos em outro momento no livro. Sete vias principais de sinalização serão abordadas: sinalização Wnt,

sinalização *hedgehog*, sinalização TGF- β , sinalização por tirosina cinase, sinalização *Notch*, sinalização por integrina e sinalização por ácido retinoico. Além disso, as relações entre moléculas de adesão celular, integrinas e citoesqueleto serão brevemente abordadas. A vasta gama de processos do desenvolvimento regulados por vias de sinalização é refletida pela ampla gama de distúrbios do desenvolvimento que resultam de mutações nestas vias. Exemplos de tais distúrbios estão listados a seguir.

Sinalização wnt

Wnts dos vertebrados são ortólogos do *wingless* de *Drosophila*, um gene de polaridade de segmentos. Wnts são secretados pelas células para o meio extracelular e ligam-se aos receptores de Wnt (*frizzleds*; receptores de sete passagens transmembranares) sobre as superfícies de outras células. Em mamíferos existem 19 Wnts e 10 receptores *frizzleds*.

A ligação de um Wnt a um receptor *frizzled* inicia uma cascata de sinalização intracelular envolvendo três vias: a **via Wnt canônica**, a via de polaridade celular planar (abordada no [Capítulo 4](#)) e a via de sinalização de cálcio. A via canônica é a melhor estudada e será a única abordada aqui ([Fig. 5-22](#)). Ela requer o correceptor Lrp5/6 (Proteínas da família do Receptor de LDL 5/6). Na via Wnt canônica, na ausência de Wnts, a β -catenina citoplasmática (um componente do complexo de adesão catenina/caderina) interage com um complexo de proteínas, incluindo a axina (produto do gene de camundongo *fused*, que regula o desenvolvimento do eixo embrionário), a APC (polipose adenomatosa do colo), o Gsk3 (uma cinase do tipo serina/treonina) e o CK1 (caseína-cinase 1). Esta interação causa a proteólise da β -catenina e impede a sinalização Wnt.

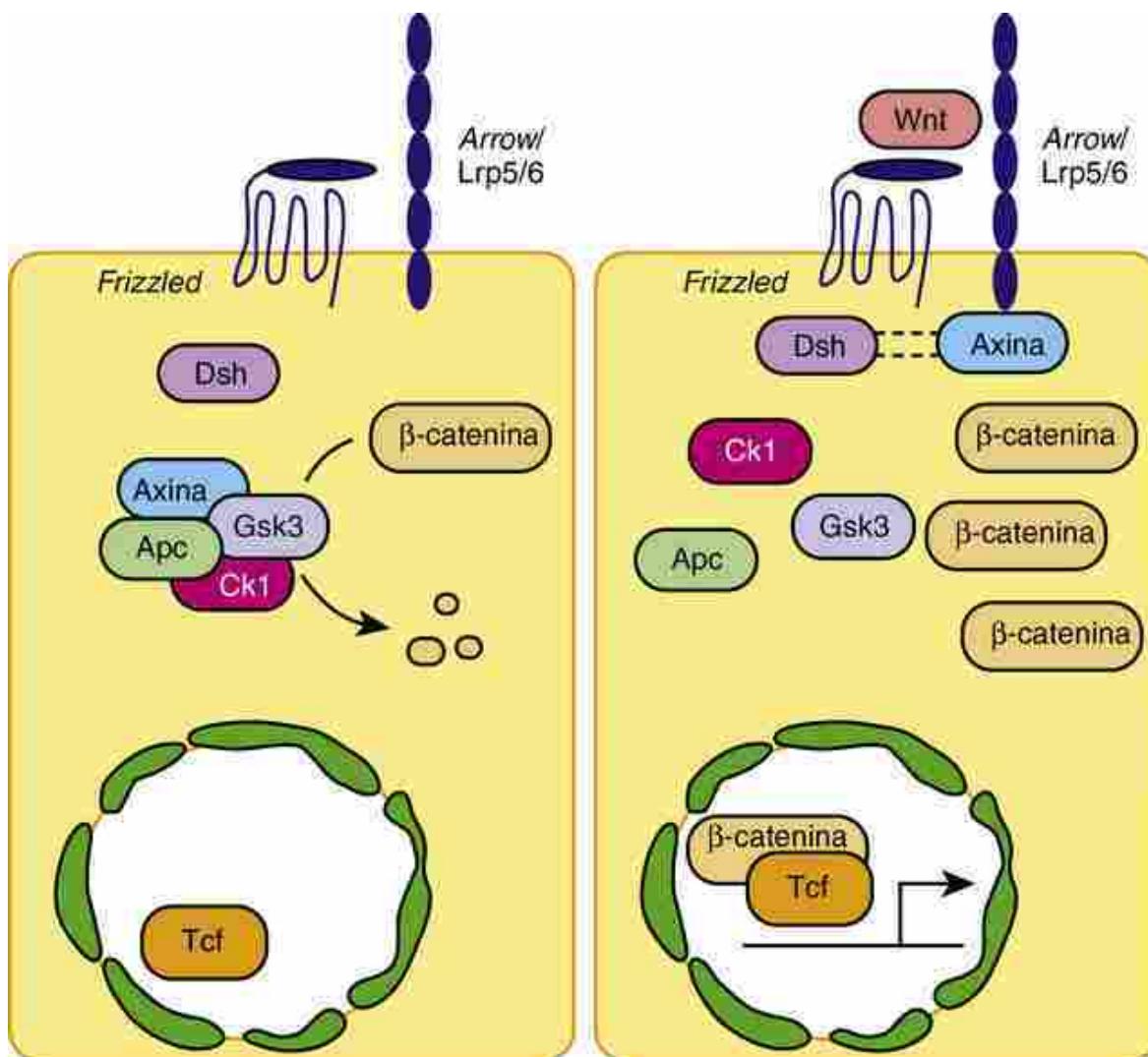


FIGURA 5-22 Via de sinalização Wnt canônica. Na ausência da sinalização Wnt (esquerda), a β -catenina é degradada, mas na presença da sinalização Wnt (direita), a β -catenina se acumula e entra no núcleo, onde, em parceria com Tcf/Lef, altera a expressão gênica (i.e., os genes-alvo do Wnt são ativados). A seta no núcleo indica transcrição.

No entanto, na presença de Wnts ligado ao complexo *frizzled*/Lrp5/6, um sinal é transduzido para o *dishevelled* (Dsh) e a axina que evita a degradação da β -catenina. A β -catenina acumula no citoplasma e difunde-se para o núcleo, onde atua como co-ativador transcricional, ligando-se ao correpressor transcricional Tcf/Lef. Esta ligação deixa de suprimir a expressão de genes responsivos ao Wnt, resultando em nova transcrição e assim caracterizando a sinalização Wnt.

Além de se ligar aos receptores *frizzled*, o Wnt pode se ligar a proteínas solúveis extracelulares chamadas sFrps (proteínas secretadas similares ao *frizzled*). Quando isso acontece, eles não podem mais se ligar aos receptores *frizzled*. Assim, os sFrps atuam como inibidores de ocorrência natural para a sinalização Wnt. As proteínas *Dick-kopfs* são outras proteínas extracelulares que antagonizam a sinalização Wnt (especificamente na via Wnt canônica). Elas o fazem se ligando ao Lrp5/6 e não ao Wnt. *Cerberus* é outro inibidor de Wnt que atua extracelularmente ligando-se ao Wnt. Além de inibir a sinalização Wnt, *cerberus* bloqueia a sinalização do nodal e do Bmp – ambos são membros da família TGF- β , abordados posteriormente neste capítulo.

Defeitos na sinalização Wnt que resultam em doenças humanas incluem cânceres (APC, β -catenina, AXIN1, -2), osteoartrite dos quadris (*FRIZZLED1*), retinopatia (*FRIZZLED4*), tetra-amelia autossômica recessiva (ausência de todos os quatro membros; *WNT3*), doenças ósseas e oculares (*LRP5*) e anomalias geniturinárias (*WNT4*).

Sinalização *hedgehog*

Três genes *hedgehog* ortólogos de *Drosophila* são expressos em mamíferos: *sonic hedgehog*, *indian hedgehog* e *desert hedgehog*. Além desses três genes *hedgehog*, os peixe-zebra expressam dois outros genes *hedgehog* chamados *equidna hedgehog* e *tiggywinkle hedgehog*. A seguir, apenas a sinalização *sonic hedgehog* (Shh) é abordada, por causa do seu papel no desenvolvimento de diversos sistemas diferentes no embrião do vertebrado e porque se sabe mais sobre o papel da sinalização Shh durante o desenvolvimento do que sobre qualquer outro membro da família *hedgehog* (Fig. 5-23).

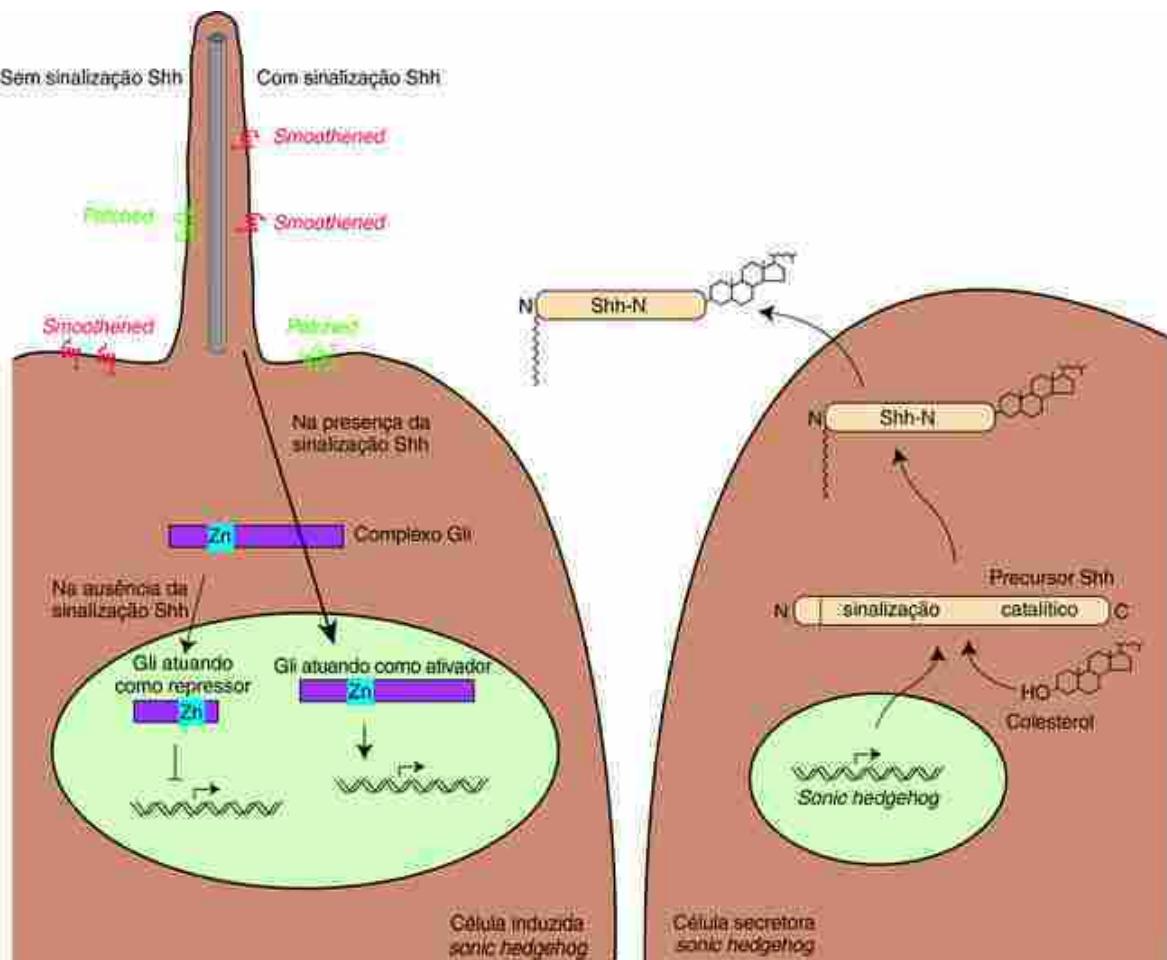


FIGURA 5-23 Via de sinalização *sonic hedgehog*. As células receptoras de *sonic hedgehog* (Shh) (células no lado esquerdo da ilustração) contêm duas proteínas transmembranares, *patched* e *smoothened*, que ocupam locais diferentes quando a sinalização Shh não está ocorrendo (lado esquerdo da célula esquerda): o *patched* reside dentro do cílio primário da célula, e o *smoothened* reside dentro da membrana plasmática não ciliada. Quando a sinalização Shh está ocorrendo, a célula secretora de Shh (célula no lado direito da ilustração) sintetiza uma molécula precursora que é clivada em fragmentos N- e C-terminal, e o colesterol é adicionado ao fragmento N-terminal, que é então secretado. Este fragmento se liga ao *patched* da célula receptora de Shh e faz com que o *patched* se move para fora do cílio e para dentro da membrana plasmática, permitindo que o *smoothened* trafegue para o cílio primário (no lado direito da célula esquerda). Esse processo, por sua vez, ativa uma cascata de sinalização envolvendo o *smoothened* (que na ausência da ligação do fragmento N-terminal é impedido pelo *patched* de entrar no cílio) e também um complexo de zinco (Zn) que contém Gli. Existem tanto repressores quanto ativadores do tipo Gli, e suas quantidades relativas controlam quais genes-alvo são expressos na presença e na ausência da sinalização Shh.

O Shh é traduzido como uma proteína precursora de 45-kDa, que é clivada posteriormente no citoplasma em um domínio N-terminal de 20-kDa e um domínio catalítico C-terminal de 25-kDa. Conforme esses domínios se formam, o colesterol se liga ao domínio 20-kDa, em um processo importante para a subsequente secreção e atividade sinalizadora da proteína Shh. Após a secreção no espaço extracelular, o domínio 20-kDa se liga a um receptor transmembranar denominado *patched*. Na ausência da proteína Shh, o *patched* interage com outra proteína sinalizadora transmembranar, a *Smoothened*, que inibe a sinalização *smoothened*, reprimindo a expressão dos genes-alvo do *smoothened*.

Em contraste, na presença da proteína Shh, o *Smoothened* não é mais inibido. Em vez disso, é transportado para um cílio primário (não móvel) que se projeta da superfície da célula e se acumula na membrana ciliar. Isso ativa uma cascata de sinalização intracelular que resulta na ativação transcricional dos genes-alvo. É interessante notar que a sinalização *smoothened* em mamíferos envolve três proteínas (denominadas proteínas Gli), que funcionam como ativadores ou repressores transpcionais. Essas proteínas são ortólogas da Ci, da *Drosophila* ou proteína *cubitus interruptus*. Em vertebrados, a combinação das proteínas Gli expressas em uma célula, como resultado da sinalização Shh, determina o destino desta célula.

Defeitos na sinalização SONIC em humanos resultam em diversos distúrbios, incluindo **câncer** (*PATCHED*); defeitos na linha média, incluindo **holoprosencefalia** (SHH; GLI2, -3 e *PATCHED*); **polidactilia** (dedos duplicados; SHH; GLI2, -3 e *PATCHED*); defeitos craniofaciais e **fistula traqueoesofágica** (GLI3) e disgenesia gonadal (*DESERT HEDGEHOG*).

Sinalização tgf-β

A superfamília do Tgf- β é uma família grande de proteínas, que sinalizam através de receptores com o domínio citoplasmático de cinase serina/treonina. O membro mais conhecido no gênero *Drosophila* é a proteína decapentaplégica. Muitos membros desta família desempenham papéis importantes no desenvolvimento dos vertebrados, como as proteínas morfogenéticas óssea (Bmps), a ativina, o Vg1 e o nodal. Além disso, diversos inibidores da sinalização por Bmp são expressos no desenvolvimento inicial e estão envolvidos em eventos importantes, como a indução neural e o estabelecimento da assimetria direita/esquerda, como descrito no [Capítulo 3](#). Incluídos neste grupo estão a *chordin*, *noggin*, *follistatin*, *lefty* e *cerberus*.

A sinalização Bmp tem sido estudada em detalhes ([Fig. 5-24](#)). A cascata da sinalização é iniciada quando um Bmp em particular no meio extracelular (vários Bmps foram identificados) liga-se a um receptor Bmp transmembranar (Bmpr). O receptor é constituído por heterodímeros e homodímeros de receptores TGF- β , conhecidos como tipo I e tipo II. A ligação, por sua vez, resulta na fosforilação de outra família com nove proteínas denominadas Smads (ortólogos das proteínas de *Drosophila* Mad ou *mothers against decapentaplegic*). As Smads fosforiladas entram então no núcleo, onde atuam como coativadores e correpressores transpcionais. Defeitos na sinalização TGF- β que resultam em distúrbios em humanos incluem câncer e hipertensão pulmonar (BMPR2) e uma vasta gama de distúrbios vasculares e esqueléticos (NOGUINA, TGF- β 1, RECEPTORES TGF- β e uma proteína de ligação a TGF- β denominada ENDOGLINA).

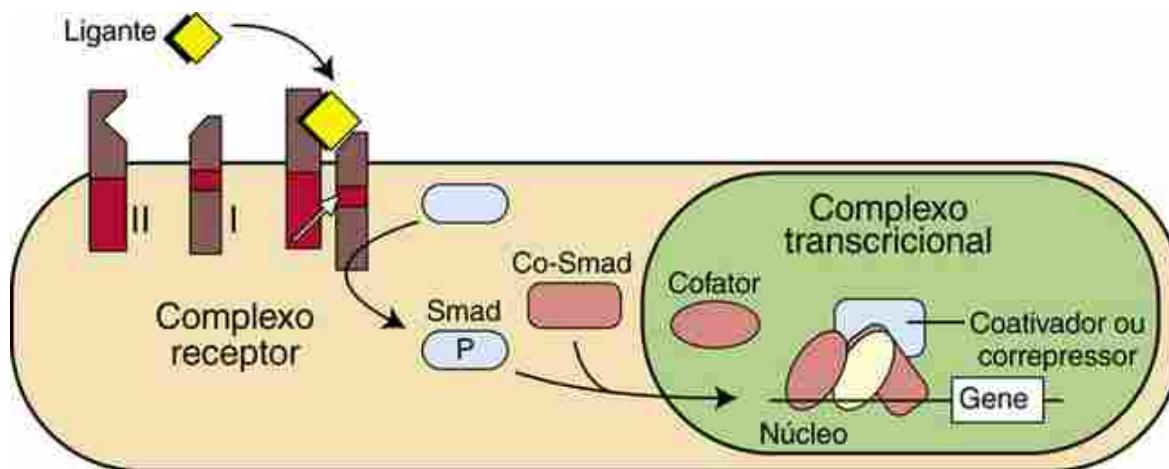


FIGURA 5-24 Via de sinalização TGF- β . A ligação do ligante ativa a dimerização do receptor e a fosforilação do Smad. O Smad fosforilado, junto com o Co-Smad, transloca-se para o núcleo para alterar a expressão dos genes-alvos.

Sinalização por tirosina cinase

Diversas famílias de fatores de crescimento se ligam a receptores que têm um domínio tirosina cinase citoplasmático. Neste grupo estão incluídos os fatores de crescimento fibroblásticos (Fgfs), o fator de crescimento epidérmico (Egf), os fatores de crescimento do tipo insulina (Igfs), os fatores de crescimento derivados de plaquetas (Pdgfs), o fator de crescimento de hepatócito/fator de dispersão (Hgf/Sf), o fator de crescimento vascular endotelial (Vegf), a neuregulina e as efrinas. Além disso, o *Steel* (fator de célula-tronco) sinaliza por meio do receptor c-kit com tirosina cinase e funciona na migração dos pré-melanócitos ([Fig. 5-3](#)) (abordado no [Cap. 4](#)). Por causa da complexidade da família da tirosina cinase, apenas os Fgfs ([Fig. 5-25](#)) e efrinas serão abordadas aqui como exemplos de fatores de crescimento que sinalizam por meio de receptores com um domínio tirosina cinase. A sinalização por Fgf e por efrina são abordadas em detalhe neste livro.

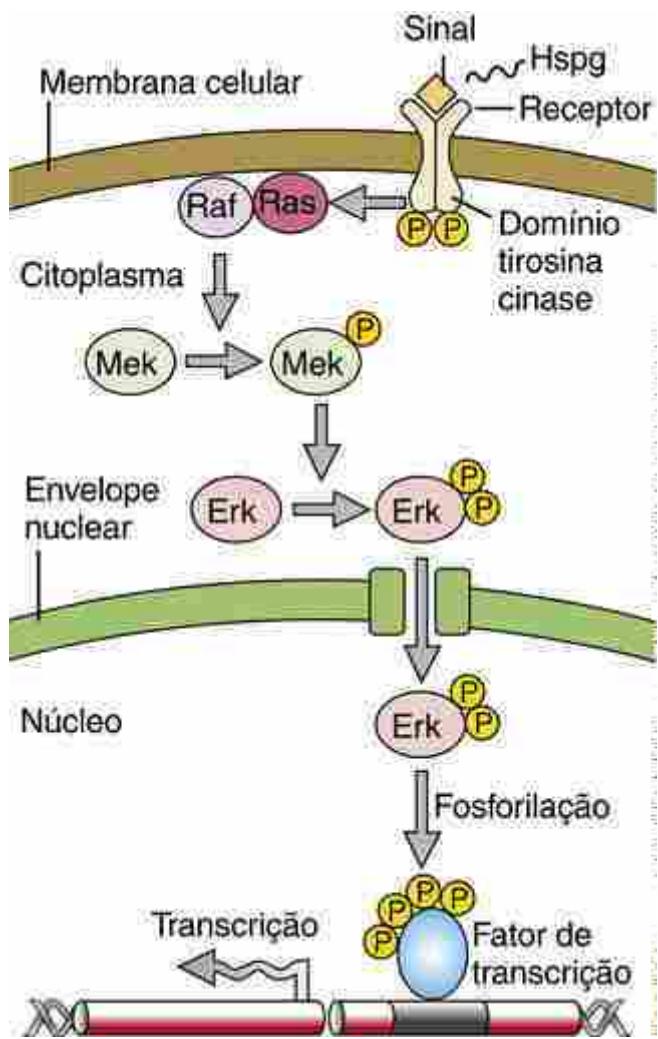


FIGURA 5-25 Via de sinalização Fgf. Os Fgfs ligam-se aos receptores de Fgf, auxiliados pela apresentação promovida pelo proteoglicano sulfato de heparina (Hsgp). Isso ativa Ras, assim como uma cascata de fosforilação que sequencialmente fosforila Raf, Mek e Erk. O Erk fosforilado se transloca para o núcleo, onde regula a expressão dos genes-alvo.

Nos mamíferos, a família Fgf é constituída por 22 membros (numerados de 1 a 23, e, dependendo da espécie, pode haver a presença ou ausência de Fgf15 e Fgf19; isto é, mamíferos não têm Fgf19, enquanto aves não têm Fgf15). Os ligantes Fgf se ligam aos receptores Fgf (Fgfrs), numerados de 1 a 4. Os Fgfrs1-3 sofrem *splicing* alternativo e cada um forma duas isoformas, resultando em seis Fgfrs mais Fgfr4, um total de sete receptores. A presença do proteoglicano sulfato de heparina é necessária para a apresentação do ligante ao receptor e sua subsequente ligação. A ligação induz uma heterodimerização ou homodimerização do receptor e a ativação de uma pequena GTPase Ras. A ligação também inicia uma cascata de fosforilação, conhecida como cascata Erk/Mapk (do inglês: cinase regulada por sinal extracelular/proteína cinase ativada por mitógeno), em que três cinases são fosforiladas em sequência: Mapk cinase cinase (Mapkkk – também chamada Raf); Mapk cinase (Mapkk – também chamada Mek); e Map cinase (também chamada Erk). O Erk fosforilado é translocado para o núcleo para fosforilar e ativar fatores de transcrição, regulando assim a sobrevivência, crescimento e diferenciação da célula. A sinalização Fgf induz a expressão de *sprouty* (há pelo menos quatro membros da família em mamíferos), um inibidor intracelular da sinalização Fgf que estabelece um circuito de autocontrole para limitar a quantidade da sinalização Fgf.

Defeitos na sinalização Fgf resultam em distúrbios em humanos que afetam particularmente o sistema esquelético e envolve mutações no FGFR1-3. Essas mutações são abordadas em detalhes em outros capítulos deste livro. Algumas das mutações mais frequentes incluem **síndrome de Pfeiffer** (mutação no FGFR1 ou no FGFR2; resulta em craniossinostose com defeitos nos membros), **síndrome de Apert** (mutação no FGFR2; resulta em craniossinostose e fusão grave dos dedos – sindactilia), **síndrome de Crouzon** (mutação no FGFR2; resulta em craniossinostose sem defeitos nos membros), **displasia tanatofórica** (mutação no FGFR3; resulta em displasia esquelética grave e geralmente é letal ao nascimento) e **acondroplasia** (mutação no FGFR3; resulta em nanismo).

As efrinas são uma família de proteínas que se ligam aos chamados receptores Eph. O nome “Eph” é derivado da linhagem celular da qual o primeiro membro da família foi isolado – a linhagem de carcinoma hepatocelular humano

produtora de eritropoetina. O nome efrina é derivado de proteína que interage com o receptor da família Eph. Tanto as efrinas quanto os receptores Eph são classificados em subgrupos A e B. São elas: efrinas A1 a A5, B1 a B3 e Ephs A1 a A8 e B1 a B6. Os tipos A e B de receptores Eph têm um domínio extracelular que liga ao ligante, um domínio transmembranar e um domínio tirosina cinase intracelular. Como visto, eles são similares a outros receptores da família tirosina cinase. Entretanto, os ligantes de efrina que se ligam a esses receptores são diferentes dos outros ligantes que se ligam aos receptores de tirosina, como os Fgfs. Neste caso, em vez de serem secretadas para o meio extracelular, eles continuam ligados na superfície da célula que os produz.

As efrinas do tipo A são ancoradas na superfície celular pela união com GPI (glicosilfosfatidilinositol), enquanto as efrinas tipo B cruzam a membrana celular. Assim, a sinalização ocorre apenas entre células imediatamente adjacentes.

Outra diferença importante com a sinalização com efrina é que ela ocorre bidirecionalmente, isto é, a ligação do ligante ao receptor não só resulta em cascata de sinalização dentro da célula contendo o receptor Eph, mas também causa a sinalização na célula contendo a efrina ativada pelo Eph.

Um distúrbio humano que resulta de defeitos na sinalização com EFRINA é a **síndrome da displasia craniofrontonasal**. Esta síndrome envolve uma mutação no EPH-RIN-B1. Embora esta mutação afete o desenvolvimento dos ossos do crânio e da face, diversos outros defeitos ocorrem, como hérnia umbilical; anomalias geniturinárias; anomalias na pele, unhas e cabelo; e atraso no desenvolvimento.

Sinalização notch

Como na sinalização com efrina, a sinalização Notch só pode ocorrer entre células que estão muito pertoumas das outras (Fig. 5-26). As proteínas Notch (numeradas de 1 a 4 em mamíferos) são formadas por receptores transmembranares que contêm um domínio extracelular com repetições do tipo EGF para ligação do ligante e um domínio intracelular rico em repetições de Ankirina para sinalização intracelular. Assim como as efrinas, os ligantes para os receptores notch não são secretados no meio extracelular; em vez disso, eles são proteínas transmembranares da família DSL, assim denominada por causa dos ligantes delta e serrate do gênero *Drosophila* (a família DSL tem múltiplos genes delta e jagged em vertebrados) e Lag2 de *C. elegans*. Embora esses ligantes sejam proteínas transmembranares, seu domínio extracelular pode ser clivado por proteases (como a protease kuzbanian), o que torna possível a difusão para as células adjacentes.

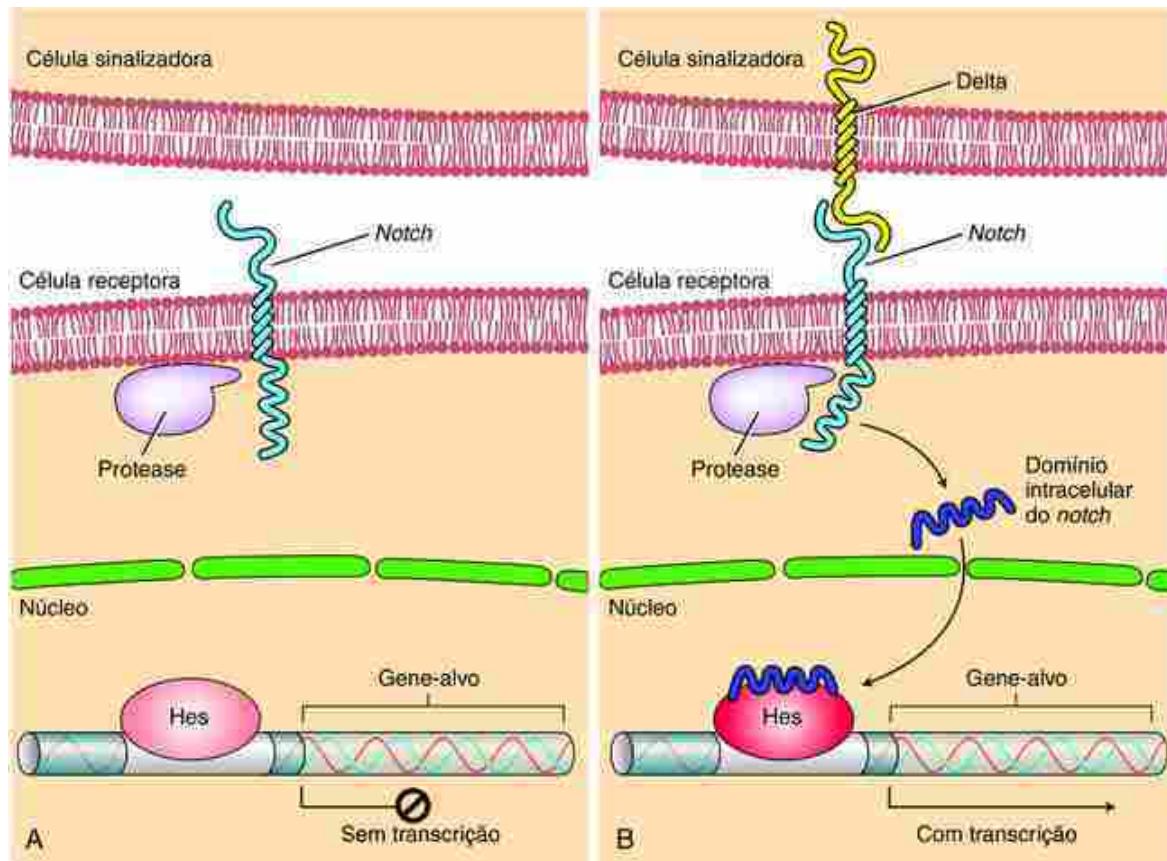


FIGURA 5-26 Via de sinalização notch. A, Na ausência de um ligante, como delta, em uma célula adjacente, a sinalização notch não ocorre e os genes-alvo de notch não são regulados. B, Na presença de um ligante, como delta, em uma célula adjacente, ocorre a sinalização notch com o ligante produzido pela célula sinalizadora ligando-se a um receptor notch na célula adjacente. A ligação ativa uma protease que cliva a porção (o domínio intracelular) do receptor notch, que, por sua vez, transloca-se para o núcleo, onde regula a expressão dos genes-alvo de notch, em conjunto com o Hes.

A sinalização notch é regulada extracelularmente através de ações que modificam o notch e seus ligantes. Em mamíferos, três glicosiltransferases com nomes extravagantes regulam a sinalização notch: *lunatic fringe*, *manic fringe* e *radical fringe*.

A ligação dos ligantes *jagged/serrate* ou delta nos receptores notch inicia a sinalização notch. Através da proteólise, o domínio intracelular do notch é clivado e migra para o núcleo, onde interage com proteínas Hes (ortólogos das proteínas hairy e *enhancer of split*) e/ou proteínas aparentadas ao Hes (Hesr). Este complexo regula a expressão dos repressores transpcionais básicos hélice-volta-hélice (bHLH). Assim, como mencionado nos Capítulos 10 e 18, a seleção e diferenciação de neurônios e células gliais de suporte, a partir de grupos de células precursoras, envolve o processo de **inibição lateral** mediada pela sinalização notch. Como resultado, as células que passam pela sinalização notch reprimem a expressão dos genes de diferenciação neuronal (por exemplo, genes bHLH) e, consequentemente, diferenciam-se como células do tipo não neuronais.

Um distúrbio humano que resulta de defeitos na sinalização NOTCH é a **síndrome de Alagille** (também chamada **displasia arterio-hepática**). Esta síndrome, causada por mutação dos genes JAGGED1 ou NOTCH2, afeta o sistema esquelético, cardiovascular e gastrointestinal (a síndrome de Alagille é mencionada em diversos capítulos deste livro). Outro distúrbio esquelético humano associado a defeito na sinalização NOTCH é a **disostose espondilocostal** (DELTA-3, LUNATIC FRINGE; abordados no Cap. 8). Mutações na sinalização NOTCH estão associadas ao desenvolvimento de câncer, a saber, a mutação do NOTCH1 é a causa de mais de 50% dos casos de leucemia linfoblástica aguda de células T.

Sinalização por integrina

Os espaços entre as camadas de tecido e entre as células das camadas de tecido são cheios de uma rica matriz extracelular. Esta matriz é composta por diversas proteínas. Os epitélios são revestidos por membrana basal, formada principalmente por colágenos (especialmente o tipo IV), laminina e fibronectina. Vários grandes complexos de proteoglicanos são mais amplamente distribuídos dentro e entre os espaços teciduais. Eles incluem sindecan, perlecan, heparan sulfato e sulfato de condroitina.

As células aderem a outras utilizando junções intercelulares, como junções comunicantes, oclusivas e

moléculas de adesão celular dependentes e independentes de cálcio. As moléculas de adesão dependentes de cálcio são as caderinas, como as N-caderinas (caderina neural), E-caderina (caderina epitelial) e P-caderina (caderina placentária). As moléculas de adesão independentes de cálcio pertencem ao grupo das CAMs – por exemplo, N-CAM (molécula de adesão celular neural); V-CAM (molécula de adesão celular vascular); e Pe-CAM (molécula de adesão celular endotelial plaquetária). As células também se aderem a matriz. Esta adesão envolve integrinas, que fornecem uma ligação entre a matriz extracelular e a rede de citoesqueleto da célula.

As integrinas formam heterodímeros das subunidades transmembranares alfa e beta, ligadas não covalentemente ([Fig. 5-27](#)). Existem pelo menos quinze subunidades alfa e oito subunidades beta, mas aparentemente não formam todas as combinações com as vinte e três subunidades. Coletivamente, os dois heterodímeros de cada integrina formam um domínio de ligação para ligantes contidos nas moléculas da membrana basal, como laminina e fibronectina. Um desses domínios é a sequência RGD (arginina-glicina-aspartato). Após a ligação deste domínio ao seu ligante, a sinalização é transduzida aos **microfilamentos** citoplasmáticos via proteínas ligantes, como alfa-actinina, vinculina e talina. Esta sinalização provoca rearranjos do citoesqueleto, que por sua vez causam mudanças na forma, tamanho e mobilidade da célula.

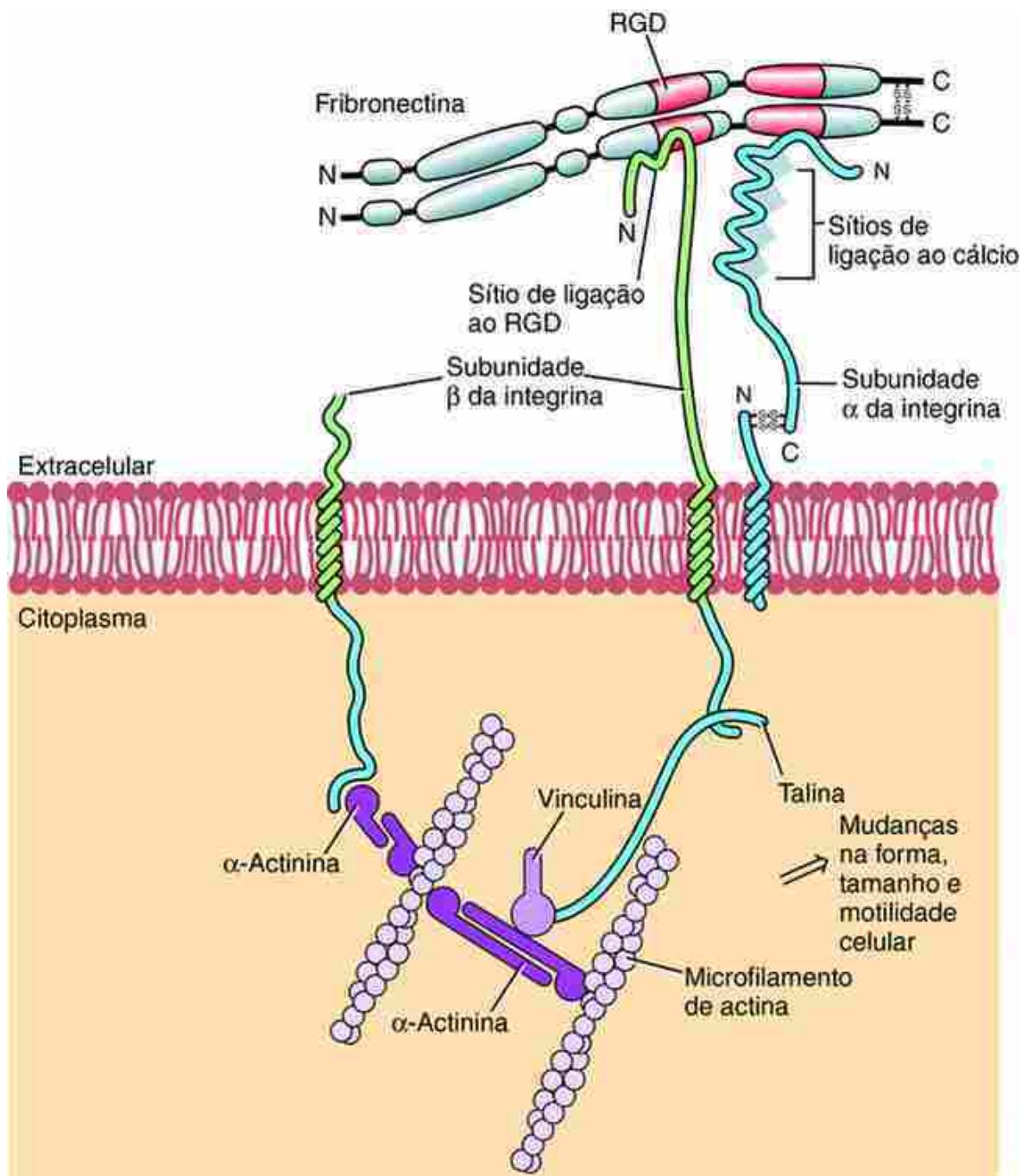


FIGURA 5-27 Via de sinalização por integrina. Integrinas formam ligações transmembranares críticas entre moléculas da matriz extracelular, como fibronectina, e o citoesqueleto de actina intracelular (microfilamentos). RGD, arginina-glicina-aspartato.

Defeitos na sinalização por integrina resultam em distúrbios humanos que afetam a pele e tecidos conjuntivos. Estes incluem **epidermólise bolhosa** (pele bolhosa) com **atresia pilórica** (INTEGRINA β 4) e cânceres de intestino, mama e órgãos reprodutivos femininos.

Sinalização do ácido retínoico

O ácido retínoico é um regulador poderoso do início do desenvolvimento e acredita-se que atue para determinar o destino celular de maneira dependente da sua concentração. Como ele difunde através do meio extracelular, com sua concentração diminuindo conforme aumenta a distância do tecido de sua síntese, o gradiente de concentração pode se formar através de um rudimento inicial de órgão, como o broto dos membros superiores e inferiores. Este gradiente parece fornecer uma **informação posicional** para as células, estabelecendo diferentes destinos celulares em variadas áreas do rudimento de um órgão. Desta forma, o ácido retínoico é considerado como sendo um **morfógeno** – uma substância difusível que determina o destino celular durante o desenvolvimento de uma maneira dependente da concentração.

O ácido retinoico é derivado da vitamina A (retinol). O retinol passa através da membrana celular, a partir do meio extracelular e se liga às proteínas de ligação citoplasmática chamadas de proteínas celulares ligantes de retinol (CRBPs) (Fig. 5-28). Dentro do citoplasma, o retinol é enzimaticamente convertido (pela retinol desidrogenase) em retinal e então em ácido retinoico (pela retinaldeído desidrogenase), que é a forma ativa. O ácido retinoico rapidamente liga-se em outras proteínas de ligação no citoplasma, as proteínas celulares ligantes de ácido retinoico (CRABPs). O ácido retinoico é então liberado das CRABPs e entra no núcleo, onde se liga aos receptores de ácido retinoico (RARs). Estes receptores são aparentados aos receptores de hormônios esteroides e tireoides. Um segundo grupo de receptores, os receptores X retinoides (RXRs), é menos compreendido. Tanto os RARs quanto os RXRs existem em três isoformas: as isoformas alfa, beta e gama.

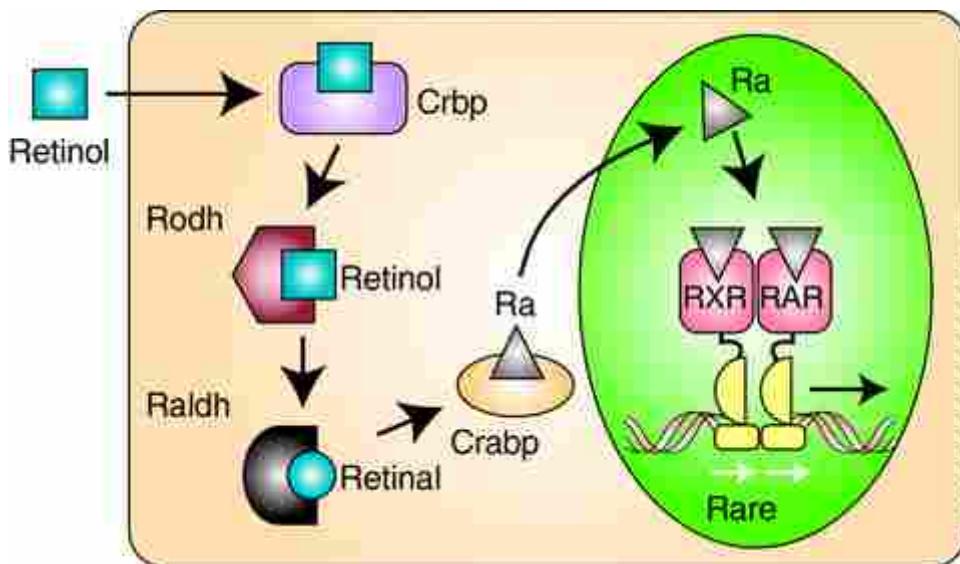


FIGURA 5-28 Via de sinalização do ácido retinoico (Ra). A vitamina A ou retinol sofre metabolização e gera a forma biologicamente ativa, o ácido retinoico (all-trans). Este metabolismo é mediado por uma série de enzimas, como a retinol desidrogenase (Rodh) e a retinaldeído desidrogenase (Raldh). O retinol é transportado durante seu metabolismo no citoplasma por uma proteína de ligação, a Crbp. O ácido retinoico é transportado para o núcleo por outra proteína de ligação, a Crabp, onde se liga aos receptores (RXR e RAR). Isso resulta na ativação de elementos de resposta ao ácido retinoico (Rare) e na regulação da expressão dos genes-alvo.

Os RARs, assim como os receptores de hormônios esteroides e tireoides, são fatores de transcrição dependentes de ligantes. Com a ligação do ligante, o RAR se liga ao elemento de resposta do ácido retinoico (Rare) dentro de promotores de genes, regulando assim a expressão dos genes-alvo. Muitas centenas de genes são conhecidas por serem reguladas pela sinalização por ácido retinoico.

A sinalização por ácido retinoico pode ser perturbada em humanos por agentes ambientais e farmacológicos. **Accutane®** e **etretinato (Tegison®)**, drogas ingeridas oralmente para o tratamento de acne grave, causam tanto anomalias craniofaciais quanto de membros superiores e inferiores em bebês caso sejam utilizados pelas mães durante a gestação.

Células-tronco embrionárias e clonagem

As técnicas para manipular e estudar o desenvolvimento do camundongo, abordadas anteriormente neste capítulo, foram modificadas para o uso em humanos, particularmente para contornar problemas reprodutivos. Como abordado no Capítulo 1, os ovócitos e os espermatozoides humanos agora são rotineiramente manipulados durante a fertilização *in vitro*. Outras técnicas usadas em camundongo também podem ser modificadas para o uso em humanos. Por exemplo, as **células-tronco embrionárias de camundongo** (denominadas **células ES**), derivadas da massa celular interna do blastocisto do camundongo, podem ser cultivadas e transplantadas em tecidos (como no pâncreas de camundongos diabéticos) ou ainda geneticamente manipuladas para formar animais transgênicos. Similarmente, as células ES humanas podem ser derivadas da massa celular interna do blastocisto humano. Tais células são potencialmente valiosas para a reposição de tecidos em pessoas que sofrem de diversas doenças, como doença cardíaca, diabetes juvenil, doenças de Alzheimer e Parkinson, assim como lesões paralisantes na medula espinal. Estudos em modelos animais e alguns estudos clínicos em humanos em geral sustentam essa possibilidade. Por definição, as **células-tronco** são células capazes de se autorenovar sob condições apropriadas e produzir células filhas

que podem se diferenciar em diversos tipos celulares. Assim, as células-tronco são **totipotentes** (*i. e.*, capazes de formar todos os tipos celulares) ou **pluripotentes** (isto é, capazes de formar muitos, mas não todos os tipos celulares). Um exemplo de célula-tronco de adulto (do bulbo do folículo piloso) é abordado na primeira seção “No Laboratório de Pesquisa” do [Capítulo 10](#).

Em 2006, foi desenvolvida uma técnica para produzir um tipo diferente de célula-tronco chamada **célula-tronco pluripotente induzida (IPS)**. Neste procedimento, uma mistura de fatores é transfetada para as células obtidas a partir de um modelo animal ou paciente, por exemplo, fibroblastos da pele. Foram usados quatro fatores nos primeiros experimentos que produziram células-tronco pluripotentes: Oct4 (também conhecido como Pou5F1) ([Cap. 1](#)), Sox2 ([Cap. 1](#)), Klf4 e c-Myc. Nos experimentos posteriores, foi mostrado que os dois últimos fatores poderiam ser substituídos por outros dois: nanog e Lin-28. Em fibroblastos humanos, os últimos dois fatores poderiam ser substituídos pela droga ácido valproico, um inibidor de histona desacetilase. Entretanto, o Oct4 e o Sox2, que são fatores de transcrição normalmente expressos pela massa celular interna do blastocisto e no embrião inicial, são sabidamente marcadores da pluripotência celular, necessários para produzir células IPS (nanog também é um marcador de pluripotência celular e é expresso no estágio inicial do embrião, como descrito no [Cap. 1](#)).

A técnica para estabelecer células IPS foi modificada de diversas maneiras e tem sido usada em diversos organismos e tipos celulares nos últimos cinco anos. Ao que parece, as células IPS podem ser geradas a partir de essencialmente qualquer tipo celular, de essencialmente qualquer mamífero. Estas células oferecem diversas vantagens, já que podem ser produzidas fácil e rapidamente em grande quantidade sem sacrificar os embriões; elas podem ser usadas para gerar células-tronco específicas de cada animal ou paciente, evitando a rejeição imunológica das células enxertadas. Várias linhagens podem ser geradas a partir de células manipuladas com a finalidade de estabelecer modelos específicos para cada doença, por exemplo, para testes de medicamentos.

Muitos artigos são publicados a cada ano na mídia popular a respeito da “clonagem de humanos”. Dois tipos de clonagens são distinguidos pelos cientistas, e é importante que o público entenda suas diferenças: **clonagem terapêutica** e **clonagem reprodutiva**. A clonagem, que já foi conseguida em diversas espécies de plantas e animais, refere-se à produção de um ou mais indivíduos que são geneticamente idênticos ao organismo original (genes também podem ser clonados). Tanto a clonagem terapêutica quanto a clonagem reprodutiva começam com um ovócito não fecundado da espécie escolhida (digamos, um camundongo) e envolve o processo de **transferência nuclear de células somáticas (SCNT)**. Neste processo, o pró-núcleo da fêmea é removido do ovócito (geralmente usando-se uma pipeta de sucção) e, então, é substituído por um núcleo diploide obtido de uma célula doadora extraída de um animal adulto. Em alguns casos, tais ovos gerados desenvolvem-se até blastocistos. Na clonagem *terapêutica* as células ES são derivadas da massa celular interna de tal blastocisto e, então, são transplantadas no tecido do doador adulto, para substituir um tipo celular defeituoso (como as células beta das ilhotas pancreáticas de um camundongo diabético). Como o núcleo usado para SCNT foi obtido do mesmo animal que recebeu as células ES, tanto as células quanto o animal são geneticamente idênticos, eliminando o problema de rejeição do tecido. É claro que, com o advento das células IPS, elas poderiam ser usadas no lugar da clonagem terapêutica para o transplante tecidual, eliminando também o problema de rejeição tecidual. Entretanto, as vantagens e desvantagens das células ES *versus* células IPS para cada tipo de tecido são atualmente desconhecidas, sobretudo em humanos.

Em contraste com a clonagem terapêutica, na clonagem *reprodutiva* o blastocisto que resulta da SCNT é transplantado para o útero de uma fêmea pseudográvida (mãe de aluguel). Se acontecer a embriogênese normal, irá nascer um **clone**, isto é, um filhote geneticamente idêntico ao doador. O clone mais famoso é a ovelha **Dolly**, nascida em 1995. Não foram relatados casos comprovados de clonagem reprodutiva humana, apesar de aparecerem de vez em quando na imprensa popular histórias alegando que os seres humanos foram clonados reprodutivamente; além disso, há divertidas histórias e filmes.

Embriologia na Prática

A variabilidade é a lei da vida

Um empresário da internet de 60 anos de idade visita seu médico e ele pede uma **análise do sequenciamento do genoma inteiro (WGS)**. Ele diz: “Eu tenho os meios e o desejo de ser proativo em relação a personalizar minhas decisões no campo da assistência médica”. Ele também deseja ter conhecimento sobre “variantes genéticas acionáveis” para suas filhas adultas e seus filhos.

É realizado o sequenciamento do genoma inteiro, pelo qual todos os 9 bilhões de pares de bases do seu material genético são simultaneamente sequenciados e comparados com a sequência de Referência do Genoma Humano para definir as diferenças no seu genoma (variantes genéticas). Essas variantes são analisadas e divididas em grupos de acordo com o significado clínico: variantes clinicamente acionáveis, variantes de significado clínico desconhecido e variantes benignas (**polimorfismos genéticos**).

Após 12 semanas, o homem retorna ao seu médico para aconselhamento pós-teste. O relatório contém diversos resultados úteis para a saúde do homem, incluindo informação sobre risco cardiovascular, variantes que afetam a eficácia de medicamentos e/ou toxicidade (**farmacogenômica**) e sobre o estado da portabilidade de diversas doenças recessivas.

Entre os resultados está uma variante no gene que codifica a TROPONINA T (TNNT2) cardíaca, um gene associado a morte súbita cardíaca (SCD) e início de cardiomiopatia hipertrófica (HCM). Esta variante é declaradamente nova (não foi vista anteriormente na população) e é predita por algoritmos *in silico* (no computador) de ter um efeito deletério sobre a função da proteína TNNT2. Mas como a variante não havia sido vista especificamente em outros pacientes com SCD/HCM, ela foi incluída no relatório como uma “variante de significado desconhecido”, e a correlação com o fenótipo do paciente foi recomendada. Somando a ansiedade do paciente, nova revisão da história familiar do paciente revelou dois indivíduos em gerações passadas que “inesperadamente morreram jovens” de causas desconhecidas.

A preocupação com o significado dessa variante na TNNT2 motivou seu encaminhamento a um cardiologista, para uma avaliação cardiológica completa, incluindo eletrocardiograma, ecocardiograma, ressonância magnética cardíaca e teste de estresse – todos os resultados foram normais. No entanto, devido ao início insidioso da doença associada a mutações na TNNT2, houve discussão sobre a necessidade de um cardioversor-desfibrilador implantável (ICD), que o homem recusou.

Depois de 2 anos, período no qual o homem foi monitorado de perto para detectar sinais de hipertrofia cardíaca, o médico recebeu um relatório do laboratório afirmando que a variante da TNNT2 agora tinha sido reclassificada como “benigna” com base na sua presença em um número crescente de indivíduos controle normais na base de dados do laboratório. Esta informação foi transmitida para o paciente, que ficou um pouco aliviado.

Disse Sir William Osler: “A variabilidade é a lei da vida”. Em nenhum lugar esta afirmação se comprovou mais verdadeira do que na enorme variação encontrada dentro de cada um de nossos genomas. A comparação do código genético de quaisquer dois indivíduos produz entre 3 e 6 milhões de diferenças, das quais muitas são mutações únicas ou “privadas”, e muitas outras apresentam-se mais presentes, embora raras na população. Essas variantes são encontradas nas regiões codantes dos genes responsáveis por doenças tão comumente que não é uma questão de saber *se* um teste WGS vai encontrar variantes de significado clínico desconhecido em um paciente, mas *quantos* serão encontrados e *como* essas variantes devem ser monitoradas clinicamente. Como o caso demonstra, deve-se tomar muito cuidado na interpretação e aplicação do WGS na medicina clínica.

Leituras sugeridas

- Andersen, P., Uosaki, H., Shenje, L. T., Kwon, C. Non-canonical Notch signaling: emerging role and mechanism. *Trends Cell Biol.* 2012; 22:257–265.
- Cohen, D. E., Melton, D. Turning straw into gold: directing cell fate for regenerative medicine. *Nat Rev Genet.* 2011; 12:243–252.
- Eichmann, A., Simons, M. VEGF signaling inside vascular endothelial cells and beyond. *Curr Opin Cell Biol.* 2012; 24:188–193.
- Gallet, A. Hedgehog morphogen: from secretion to reception. *Trends Cell Biol.* 2011; 21:238–246.
- Goetz, S. C., Anderson, K. V. The primary cilium: a signalling centre during vertebrate development. *Nat Rev Genet.* 2010; 11:331–344.
- Guruharsha, K. G., Kankel, M. W., Artavanis-Tsakonas, S. The Notch signalling system: recent insights into the complexity of a conserved pathway. *Nat Rev Genet.* 2012; 13:654–666.
- MacDonald, B. T., Tamai, K., He, X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell.* 2009; 17:9–26.
- Massagué, J. TGF β signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012; 13:616–630.
- Walsh, D. W., Godson, C., Brazil, D. P., Martin, F. Extracellular BMP- antagonist regulation in development and disease: tied up in knots. *Trends Cell Biol.* 2010; 20:244–256.
- Wickstrom, S. A., Fassler, R. Regulation of membrane traffic by integrin signaling. *Trends Cell Biol.* 2011; 21:266–273.

CAPÍTULO 6

Desenvolvimento Fetal e o Feto como um Paciente

Resumo

O período gestacional de seres humanos, desde a fecundação até o nascimento, é geralmente de 266 dias, ou 38 semanas. Conforme mencionado na Introdução, o **período embrionário**, durante o qual a maioria dos principais sistemas de órgãos é formada, termina no final da 8^a semana de gestação. O restante da gestação constitui o **período fetal**, que é dedicado principalmente à maturação dos sistemas de órgãos e ao crescimento. Por conveniência, o período de gestação de 9 meses é dividido em três **trimestres** de 3 meses. No momento não é possível manter vivos os fetos nascidos antes de cerca de 22 semanas de gestação. As taxas de sobrevivência de fetos que nascem entre 22 e 28 semanas tem aumentado progressivamente (a partir de cerca de 15% nas 22 semanas a cerca de 90% em 28 semanas), mas até um terço deles têm alguma morbidade significativa que afeta a sua sobrevivência a longo prazo.

Tanto o embrião, durante a 3^a até a 8^a semana, quanto o feto recebem nutrientes e eliminam seus resíduos metabólicos através da **placenta**, um órgão que apresenta tanto componentes maternos quanto fetais. A placenta madura consiste em uma massa de **vilosidades** fetais, como penas que se projetam para um **espaço intervilososo** revestido com sinciotrofoblasto fetal e preenchido com o sangue materno. O sangue fetal nos vasos das vilosidades troca materiais com o sangue materno através da parede da vilosidade. No entanto, a troca de nutrientes não é a única função da placenta; o órgão também secreta uma infinidade de hormônios, incluindo os esteroides sexuais que mantêm a gravidez. Os anticorpos maternos atravessam a placenta para entrar no feto, onde fornecem proteção contra infecções fetais e neonatais. **DNA fetal livre das células** também atravessa a placenta e pode ser detectado no plasma do sangue materno. Infelizmente, compostos teratogênicos e alguns microrganismos também atravessam a placenta. A placenta cresce juntamente com o feto; ao nascimento, ela pesa cerca de um sexto do peso do feto.

O desenvolvimento da placenta começa quando a implantação do blastocisto induz a **reação decidual** no endométrio materno, fazendo com que o endométrio se torne um tecido cheio de nutrientes, altamente vascularizado, denominado **decídua**. Pelo segundo mês, o embrião em crescimento começa a projetar-se no lúmen uterino. O lado saliente do embrião é coberto com uma fina cápsula de decídua chamada **decídua capsular**, que mais tarde se desintegra conforme o feto preenche o útero. A decídua subjacente ao polo **embrionário** imerso do embrião – o polo em que o disco embrionário e o pedúculo de ligação estão aderidos – é denominada **decídua basal**, que forma a face materna da placenta em desenvolvimento. O restante da decídua materna é denominado **decídua parietal**.

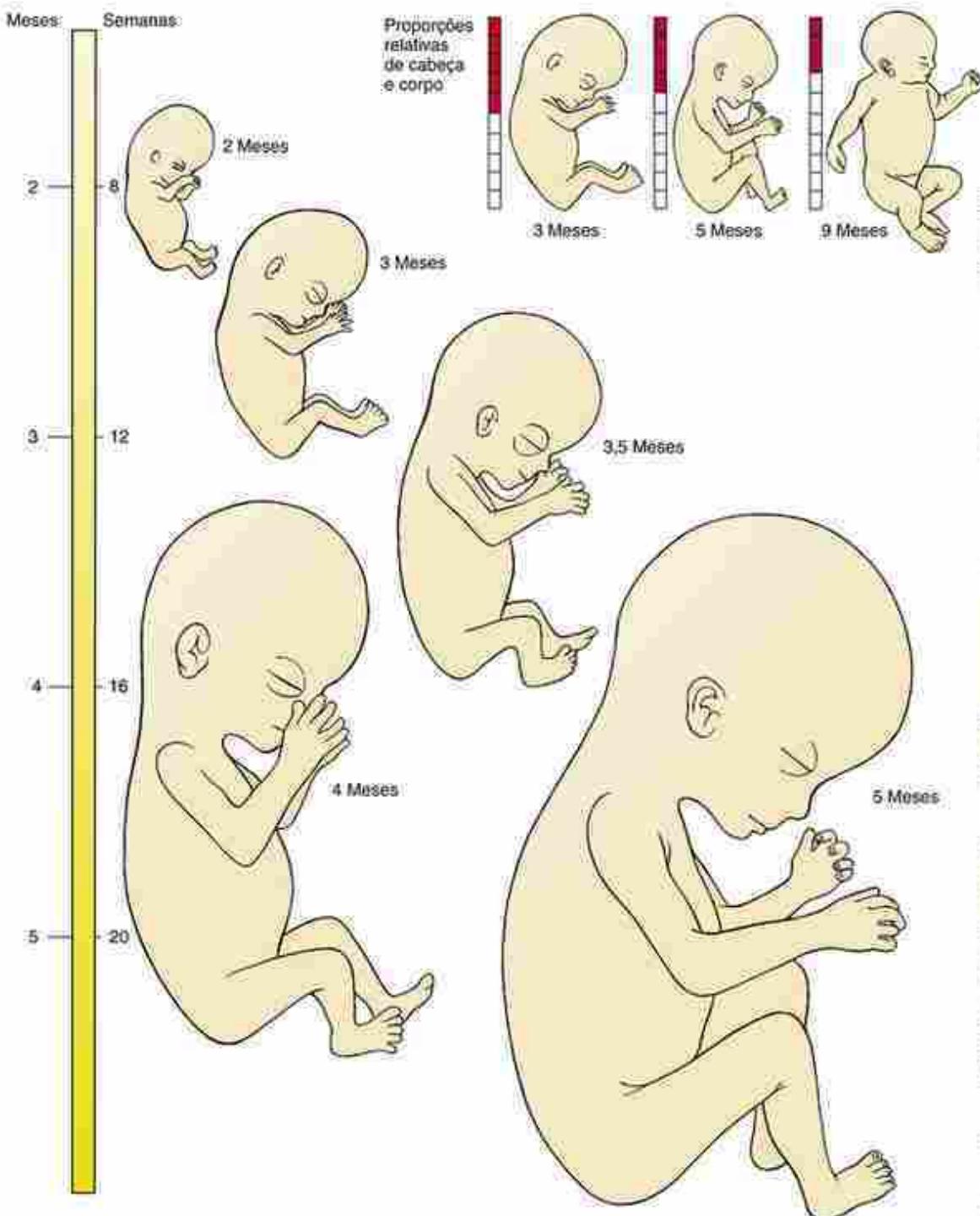
O **cordão umbilical** se forma como resultado do dobramento do corpo. Durante este processo, o âmnio, que iniciou sua formação na margem dorsal do ectoderma do disco embrionário, é deslocado ventralmente para envolver todo o embrião, tendo origem a partir do **anel umbilical** em torno da raiz do ducto vitelínico e do pedúculo de ligação. O âmnio também se expande até preencher o espaço coriônico e se fundir com o córion. À medida que o âmnio se expande, ele envolve o pedúculo de ligação e o pescoço do saco vitelínico em uma bainha da membrana amniótica. Essa estrutura composta torna-se o cordão umbilical.

Como abordado no [Capítulo 2](#), o espaço intervilososo da placenta origina-se como lacunas dentro do sinciotrofoblasto, que se anastomosam com capilares maternos e tornam-se repletas de sangue materno por volta da 12^a semana de gestação. As **vilosidades-tronco** crescem a partir do córion fetal para esses espaços. Cada vilosidade tem um núcleo de mesoderma extraembryônário que contém vasos sanguíneos e uma “pele” exterior de duas camadas, o citotrofoblasto e o sinciotrofoblasto. As vilosidades originalmente cobrem todo o córion, mas ao final do 3º mês elas estão restritas à área do polo embrionário que se torna o local da placenta madura. Esta parte do córion é denominada **córion frondoso**; o córion liso restante é o **córion liso**. As vilosidades continuam a crescer e ramificar ao longo da gestação. O espaço intervilososo é subdividido em 15 a 25 **cotilédones**, que são compartimentos parcialmente separados por paredes em forma de cunha feitas de tecido placentário, chamadas **septos placentários**, que crescem para dentro a partir da face materna da placenta.

Os gêmeos formados pela divisão de um único embrião (gêmeos monozigóticos) podem compartilhar membranas

fetais em graus variados. Em contraste, os gêmeos formados pela fertilização de dois ovócitos (dizigóticos) sempre se implantam separadamente e desenvolvem conjuntos independentes de membranas fetais. A partilha de membranas pode ter consequências negativas quando existem conexões vasculares entre as duas placenta. Embora raro, isso pode resultar no comprometimento vascular de um feto e na consequente perda dele, ou mesmo de ambos os fetos.

Os avanços na análise dos produtos fetais no soro materno, na segurança e na sofisticação das técnicas para amostragem de tecidos fetais, e no uso de novas técnicas de imagem para examinar o feto estão rapidamente fornecendo novas abordagens para o diagnóstico pré-natal e o tratamento de doenças congênitas. Nossa capacidade cada vez melhor de diagnosticar e tratar doenças no útero e em recém-nascidos muito prematuros levanta questões éticas e legais que exigem profundo debate. Questões dessa natureza sempre surgem na vanguarda de novas técnicas médicas. O que é um pouco incomum, neste caso, é a extrema velocidade com que estão avançando tanto a nossa compreensão da biologia do desenvolvimento quanto a nossa prática clínica, juntamente com o fato de que as decisões sobre, e soluções para as questões médicas resultantes afetam uma nova categoria de paciente: o feto. O estudo e tratamento do feto constituem o campo da **pediatria pré-natal** ou **fetologia**.



Linha do tempo.
Desenvolvimento fetal.

Caso Clínico

Um jovem casal é atendido em uma seção de **ultrassonografia** de rotina do meio gestacional (20^a semana) durante a sua primeira gravidez. A ultrassonografista está mostrando a criança ao casal, um menino, quando faz uma pausa. Depois de alguns minutos, ela diz que pode haver “anormalidades”, e então ela vai pedir ao médico para dar uma olhada. Depois de analisar os exames, o perinatologista (um subespecialista obstétrico que oferece atendimento para a mãe e o feto em gestações de alto risco) chega e explica que o feto tem **oligo-hidrâmnio** (muito pouco líquido amniótico), **hidronefrose** (ureteres e rins dilatados), e **megacisto** (bexiga dilatada). Ele declara sua suspeita de que o menino tem uma obstrução da saída da bexiga devido a uma condição denominada **válvula**.

uretral posterior. Ele diz aos pais que essa é uma anormalidade da uretra que impede a excreção de urina normal e faz com que a urina se mantenha na bexiga, ureteres e rins. Ele diz que esse acúmulo pode danificar os rins, e a falta de líquido amniótico pode impedir os pulmões de se desenvolver normalmente. O médico diz ainda que, se não tratada, a criança irá desenvolver uma condição denominada **sequência de Potter**. Os pais são avisados de que, se nada for feito, a criança vai morrer no momento do nascimento como resultado da **insuficiência respiratória**.

A **amniocentese** é realizada para análise cromossômica subsequente, que mostra um cariótipo 46, XY normal, e em uma segunda ultrassonografia não são encontradas outras anormalidades estruturais. O casal é encaminhado para um centro com experiência em **cirurgia fetal** para corrigir a válvula uretral posterior. Depois de pesar os riscos da cirurgia contra a probabilidade de morte pós-natal devido à **hipoplasia pulmonar**, o casal opta por se submeter à colocação de um cateter vesicoamniótico (que desvia a urina da bexiga para a cavidade amniótica) com 22 semanas de gestação. O procedimento vai bem, e uma ultrassonografia de acompanhamento mostra a descompressão da bexiga e sistema coletor urinário. A gravidez é acompanhada de perto para procurar possíveis sinais do mau funcionamento da derivação, infecção, vazamento de líquido amniótico e parto prematuro. O menino nasce na 36^a semana de gestação, e a cirurgia é feita para criar uma vesicostomia (abertura da bexiga para a parede abdominal), com a cirurgia de reconstrução urinária planejada no futuro.

A sequência de Potter pode ter várias causas. Outros cenários clínicos que resultam nesta sequência são dados na “Embriologia na Prática” e “Caso Clínico” do [Capítulo 15](#).

Durante o período fetal, os sistemas de órgãos embrionários maturam e o feto cresce

Os capítulos anteriores focaram no **período embrionário**, o período durante o qual os órgãos e sistemas do corpo são formados ([Fig. 6-1A](#)). O **período fetal** que sucede a partir da 8^a semana até o nascimento, por volta da 38^a semana, é dedicado à maturação desses sistemas de órgãos e ao crescimento ([Fig. 6-1B](#); [Tabela 6-1](#)). O feto cresce a partir de 14 g no início do período fetal (final do segundo mês) para cerca de 3.500 g ao nascimento – um aumento de 250 vezes. A maior parte desse peso é adquirida no 3º trimestre (7 a 9 meses), apesar de o feto crescer em comprimento principalmente no 2º trimestre (4 a 6 meses). O crescimento do feto é acompanhado por mudanças drásticas na proporção: na 9^a semana, a cabeça do feto representa cerca da metade do seu **comprimento cabeça-nádegas** (a “altura do feto sentado”), enquanto ao nascimento ela representa cerca de um quarto do comprimento cabeça-nádegas.

Tabela 6-1
Crescimento fetal

Idade Gestacional (Meses Completos de Desenvolvimento)	Comprimento CN ¹ Aproximado (cm/in)	Peso/Massa Aproximados (g/oz)
2	5,5/2	14/0,5
3	12/4,5	100/3,5
4	16,5/6,5	300/10,5

Comprimento CC ² aproximado (cm/in) Peso/massa aproximados (g/lb)		
5	30/12	600/1,3
6	37,5/15	1.000/2,2
7	42,5/16,5	1.700/3,8
8	47/18,5	2.600/5,8
9	51/20	3.500/7,5

¹Comprimento CN (cabeça-nádega).

²Comprimento CC (cabeça-calcanhar).

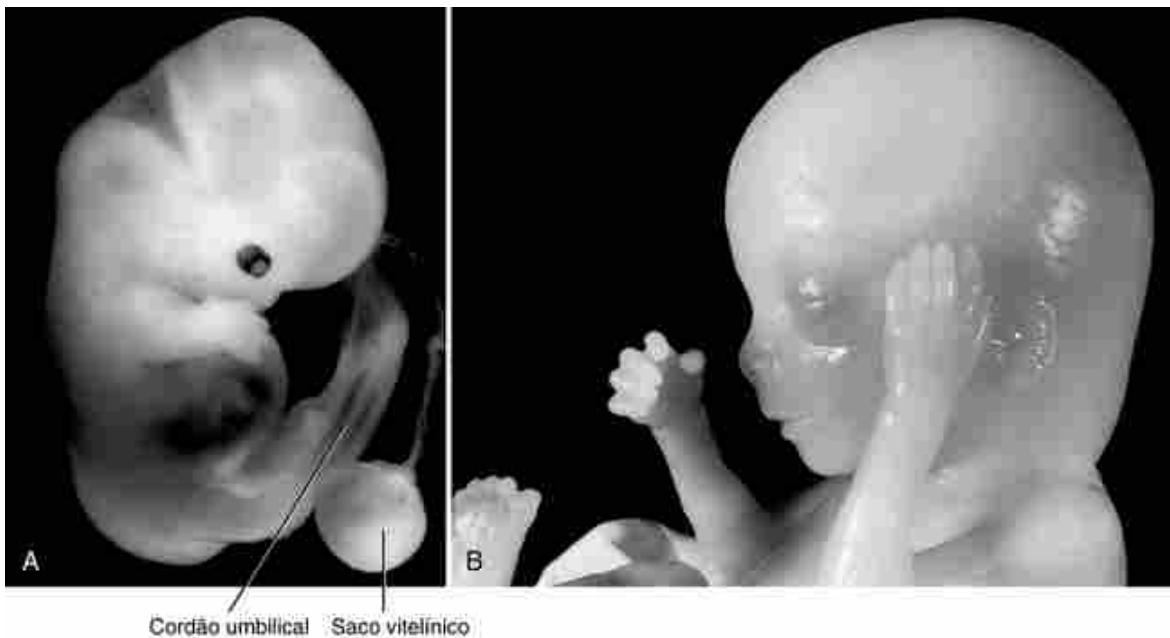


FIGURA 6-1 Imagens de embriões humanos. A, Embrião com cerca de 7 semanas de gestação mostrando o cordão umbilical e o saco vitelínico. B, Cabeça de um feto com cerca de 16 semanas de gestação.

Embora todos os sistemas de órgãos estejam presentes pela 8^a semana, só alguns deles são funcionais. As exceções mais importantes são o coração e os vasos sanguíneos, que começam a circular o sangue durante a 4^a semana. Mesmo assim, a reconfiguração do sistema circulatório fetal, descrita no Capítulo 13, não está completa até os 3 meses. Os sistemas sensoriais também demoram. Por exemplo, os ossículos auditivos não estão livres para vibrar até pouco antes do nascimento, e embora a retina neural do olho se diferencie durante o 3^º e 4^º meses, as pálpebras permanecem fechadas até os 5 a 7 meses, e os olhos não conseguem focar corretamente até várias semanas após o nascimento.

Diversos órgãos não terminam seu amadurecimento até após o nascimento. O exemplo mais claro é o sistema reprodutivo e as características sexuais associadas, que, como na maioria dos animais, não terminam seu desenvolvimento até que o indivíduo tenha idade suficiente para estar apto a reproduzir com sucesso. Em seres humanos, um número relativamente grande de outros órgãos também estão imaturos no nascimento. Isso explica o prolongado período da infância em que os seres humanos necessitam de cuidados, em comparação com muitos mamíferos. O órgão com maturação mais lenta nos seres humanos – o que, em grande parte, define o ritmo da infância e da adolescência – é o cérebro. Tanto o cérebro quanto o cerebelo são muito imaturos ao nascimento.

No Laboratório de Pesquisa

Como o crescimento dos órgãos e o crescimento do corpo são controlados durante a embriogênese

O que impede o crescimento contínuo de um órgão, ou do próprio feto, uma vez que atinge um determinado tamanho é uma questão em grande parte sem resposta. A circulação de hormônios e a disponibilidade de nutrientes no útero claramente desempenham um papel importante no crescimento, mas como o crescimento é regulado de modo que o tamanho ótimo seja obtido para permitir que os vários sistemas de órgãos funcionem de uma forma coordenada? Três fatores são conhecidos por desempenhar um papel integrante na limitação do crescimento dos órgãos. Dois desses fatores, a via de TOR, que detecta a disponibilidade de nutrientes e regula o crescimento, e o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (Igf-1), foram abordados no capítulo de Introdução no contexto do envelhecimento. Além de exercerem um papel no envelhecimento, sabe-se agora que as mutações em um alelo de Igf-1, o que, presumivelmente, regulam o funcionamento do fator de crescimento, estão ligadas ao tamanho de diferentes raças de cães domésticos. Por exemplo, cães pequenos, como Chihuahuas, têm uma variante de gene que os torna pequenos, e cães de grande porte, como grandes dinamarques, têm outra que os torna grande. Esta correlação entre o tipo de variante e o tamanho do corpo ficou evidente quando 3.000 cães de quase 150 raças foram geneticamente avaliados.

O terceiro fator conhecido para limitar o crescimento é uma via descoberta recentemente denominada via **hippo**. A sinalização hippo envolve uma cascata de cinase (ou quinase; a sinalização cinase é descrita no Cap. 5) com vários outros membros com nomes extravagantes, tais como *warts*, *yorkie*, *salvador* e *mats*. Quando vários membros

desta via estão mutados, em organismos tão diversos quanto *Drosophila* e camundongo, ocorre o crescimento excessivo dos órgãos ou tecidos.

Desenvolvimento da placenta

À medida que o blastocisto se implanta, ele estimula uma resposta no endométrio uterino denominada **reação decidual**. As células do **estroma** do endométrio (a camada de tecido endometrial que está subjacente ao epitélio do endométrio que reveste a cavidade uterina) acumulam lipídios e glicogênio, e são então denominadas **células deciduais**. O estroma se espessa e torna-se altamente vascularizado, e o endométrio como um todo é então denominado **decídua**.

No final do período embrionário, o lado **abembrionário** do embrião em crescimento (o lado oposto ao polo embrionário, onde o disco embrionário e o pedúculo de ligação se unem) começa a projetar-se para dentro da cavidade uterina ([Fig. 6-2](#)). Esta parte saliente do embrião é coberta por uma fina cápsula de endométrio denominada **decídua capsular**. O polo embrionário imerso do embrião é sustentado por uma zona de decídua denominada **decídua basal**, que vai participar da formação da placenta madura. As áreas restantes da decídua são denominadas **decídua parietal**. No 3º mês, conforme o crescimento do feto começa a preencher o ventre, a decídua capsular é pressionada contra a decídua parietal, e no 5º e 6º meses, a decídua capsular desintegra. A essa altura, a placenta está completamente formada e tem superfícies fetais e maternas distintas ([Fig. 6-3](#)).

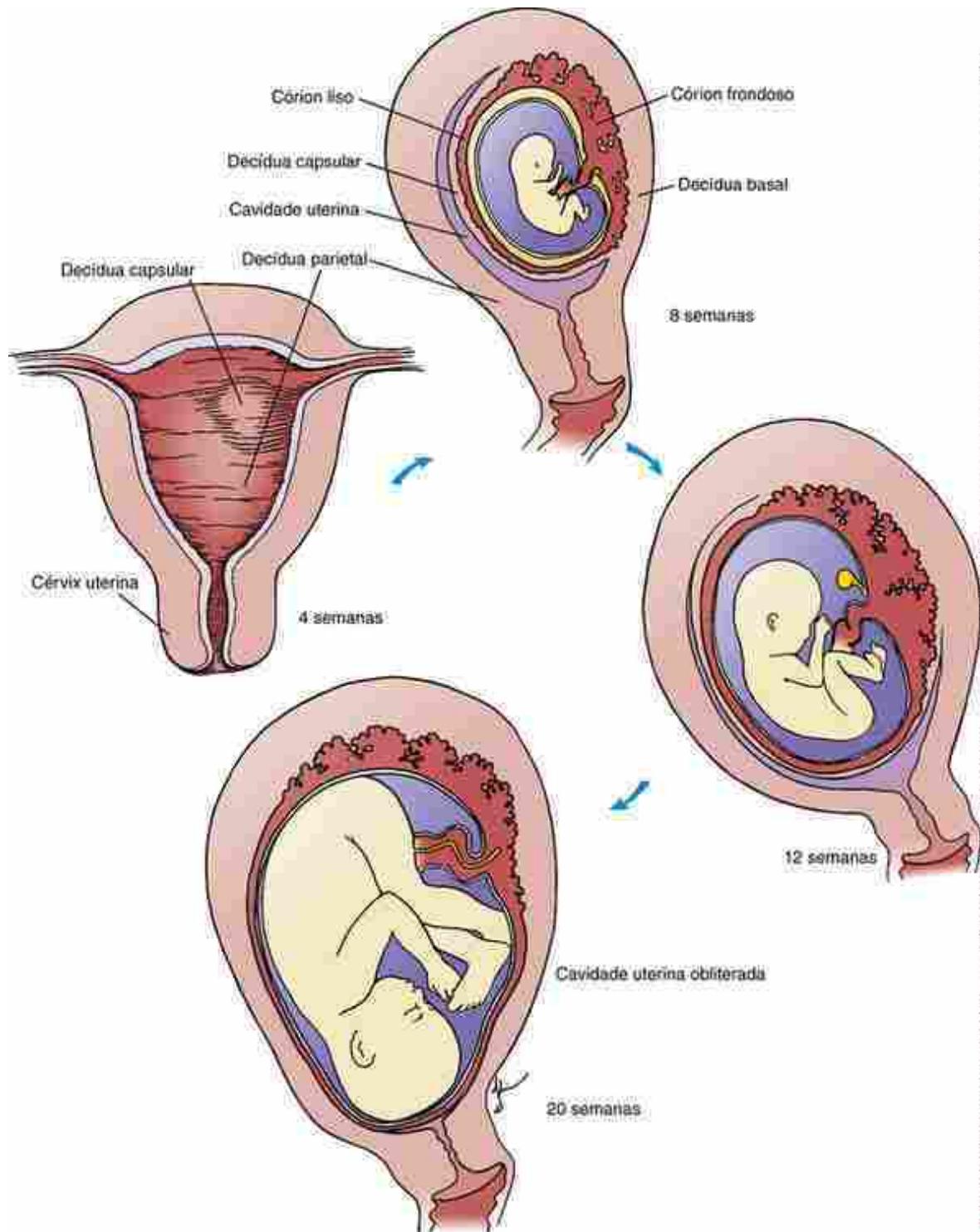


FIGURA 6-2 Desenvolvimento do córion e da decídua durante os primeiros 5 meses. A decídua é dividida em três porções: a decídua capsular recobrindo o conceito em crescimento, a decídua basal subjacente à placenta e a decídua parietal revestindo o restante do útero. Note que a cavidade uterina original está obliterada por volta da 20^a semana devido ao crescimento do feto e à expansão da cavidade amniótica.

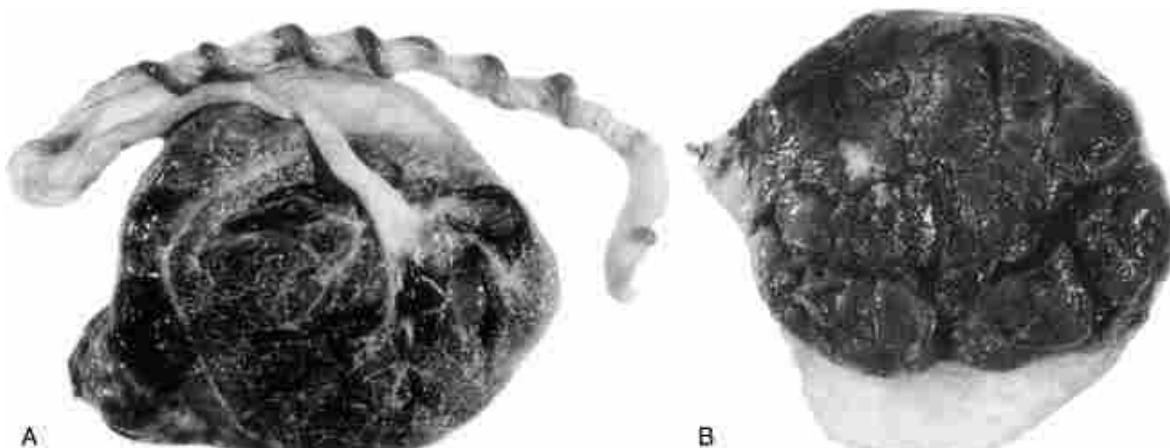


FIGURA 6-3 Placenta humana. *A*, Lado fetal da placenta madura com cordão umbilical ligado. *B*, Lado materno da placenta madura mostrando vários cotilédones.

Como abordado no [Capítulo 2](#), o desenvolvimento do sistema circulatório uteroplacentário começa no final da 2^a semana, conforme as cavidades denominadas lacunas trofoblásticas se formam no sincictiotrofoblasto do córion e se anastomosam com os capilares maternos. No final da 3^a semana, os vasos sanguíneos fetais começam a se formar no pedículo de ligação e no mesoderma extraembrionário. Enquanto isso, o mesoderma extraembrionário que reveste a cavidade coriônica prolifera para formar as **vilosidades-tronco terciárias** que se projetam para as lacunas trofoblásticas, tornando-se cheias de sangue após 10 semanas. No final da 4^a semana, as vilosidades-tronco terciárias cobrem a totalidade do córion. A hipóxia, ou o menor teor de oxigênio nos tecidos da decídua, é fundamental para a invasão do trofoblasto normal.

À medida que o embrião começa a crescer no lúmen uterino durante o 2º mês, as vilosidades do lado abembrionário saliente do córion desaparecem ([Fig. 6-2](#)). Esta região do córion é agora chamada de **córion liso**, ou **chorion laeve**, enquanto a porção do córion associada à decídua basal mantém as suas vilosidades e é chamada de **córion frondoso** (do latim *frondosus*).

As vilosidades da placenta continuam a crescer durante a maior parte do restante da gestação. Começando na 9^a semana, as vilosidades-tronco terciárias se alongam pela formação das **vilosidades mesenquimais** terminais, que se originam como brotos de sincictiotrofoblasto (**brotos trofoblásticos**) semelhantes às vilosidades-tronco primárias em secção transversal ([Fig. 6-4](#)). Essas extensões terminais das vilosidades-tronco terciárias, denominadas **vilosidades intermediárias imaturas**, alcançam seu tamanho máximo na 16^a semana. As células da camada citotrofoblastica tornam-se mais dispersas nessas vilosidades, deixando lacunas nesta camada da parede da vilosidade.

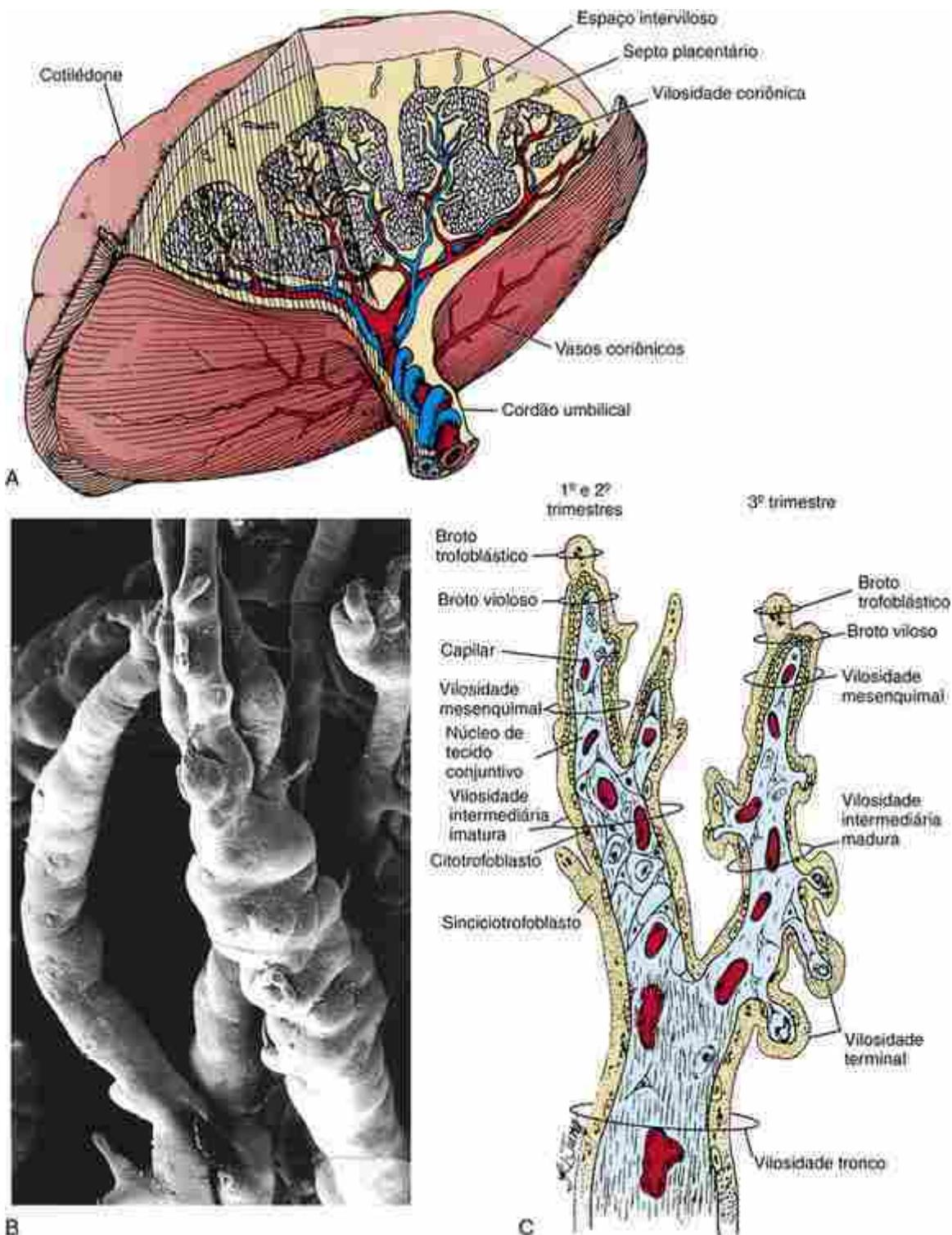


FIGURA 6-4 Desenvolvimento da placenta. **A**, Esquema da placenta. **B**, Micrografia eletrônica de varredura das vilosidades da placenta (coriônica). **C**, Esquema mostrando uma vilosidade tronco (primária), que se ramificou em duas vilosidades (secundárias) (vilosidade intermediária imatura, à esquerda, durante o 1^º e 2^º trimestres; vilosidade intermediária madura, à direita, durante o 3^º trimestre). Nota-se que a vilosidade intermediária madura carrega várias vilosidades terminais (terciárias).

Começando próximo ao final do 2^º trimestre, as vilosidades-tronco terciárias também formam numerosos ramos laterais finos denominados **vilosidades intermediárias maduras**. As vilosidades intermediárias maduras que se formam primeiro acabam sua formação pela 32^a semana, e, em seguida, começam a produzir pequenos ramos secundários semelhantes a nódulos, denominados **vilosidades terminais**. Estas vilosidades terminais completam a estrutura da **árvores vilosa placentária**. Foi sugerido que as vilosidades terminais não são formadas pelo crescimento ativo do sinciciotrofoblasto, mas sim por capilares vilosos dobrados e enrolados que se inflam contra a parede da vilosidade.

Uma vez que o **espaço intervilososo**, no qual as vilosidades se projetam, é formado a partir das lacunas trofoblásticas que crescem e coalescem, ele é coberto por ambos os lados com sinciciotrofoblasto (Fig. 6-4). A face materna da placenta, denominada **placa basal**, contém este sinciciotrofoblasto cobrindo uma camada de suporte da decidua basal. No lado fetal, as camadas do córion formam a **placa coriônica** da placenta.

Durante o 4º e 5º meses, as paredes da decidua, semelhantes a cunhas, denominadas **septos placentários (deciduais)** crescem no espaço intervilososo do lado materno da placenta, separando as vilosidades em 15 a 25 grupos denominados **cotilédones** (veja septos nas Figs. 6-3B e 6-4). Uma vez que os septos placentários não se fundem com a placa coriônica, o sangue materno pode circular livremente de um cotilédone para outro.

Desenvolvimento do cordão umbilical

Como descrito no Capítulo 4, o **dobramento do corpo** separa o embrião em formação de suas **membranas extraembrionárias**. Conforme este processo ocorre e o embrião cresce, o âmnio mantém o ritmo, expandindo-se até que ele englobe todo o embrião, exceto na área umbilical, onde o pedículo de ligação e o saco vitelínico emergem (Fig. 6-5). Entre a 4ª e a 8ª semana, um aumento na produção de líquido amniótico faz com que o âmnio inche até que tome completamente o espaço coriônico (Fig. 6-6). Quando o âmnio entra em contato com o córion liso, as camadas de mesoderma extraembrionário que cobrem as duas membranas se fundem frouxamente. Assim, a cavidade coriônica desaparece, com exceção de algumas vesículas rudimentares.

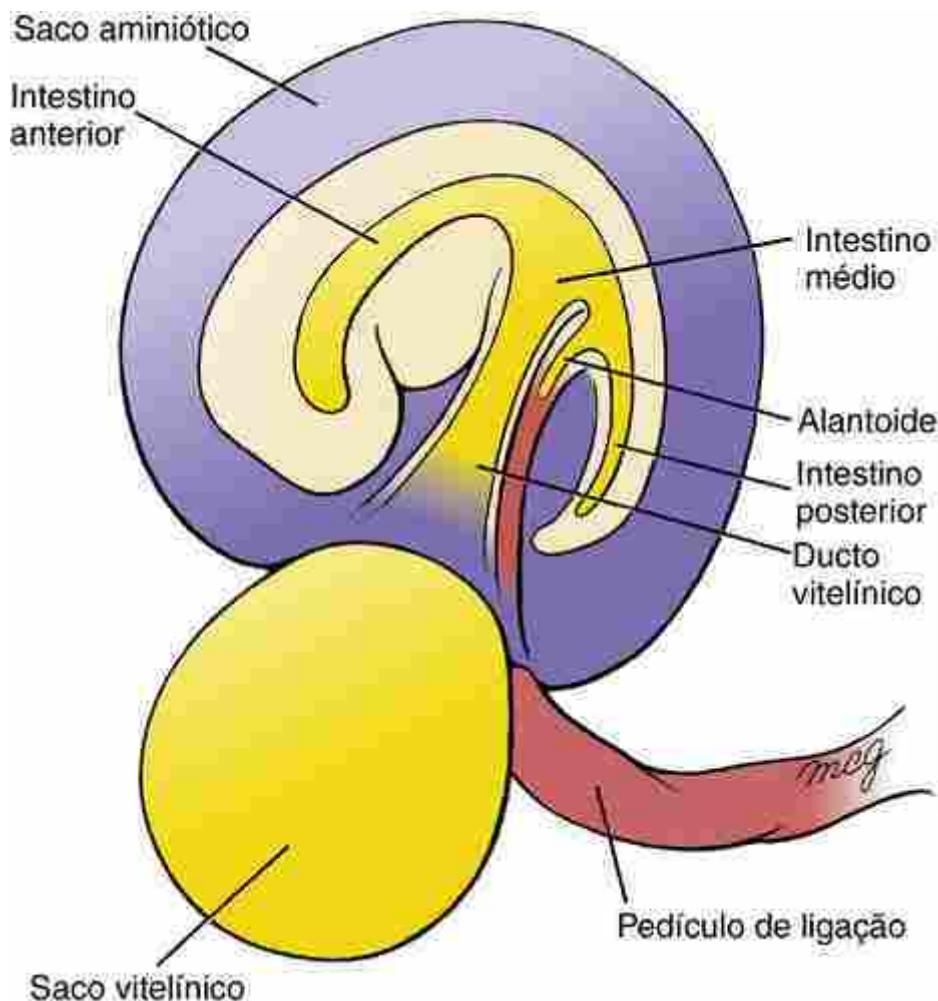


FIGURA 6-5 Gênese do cordão umbilical. O dobramento do embrião e a expansão da cavidade amniótica traz o pedículo de ligação e o saco vitelínico em conjunto para formar o cordão umbilical. À medida que o âmnio cresce, uma camada de membrana amniótica vai gradualmente envolvendo o cordão umbilical.

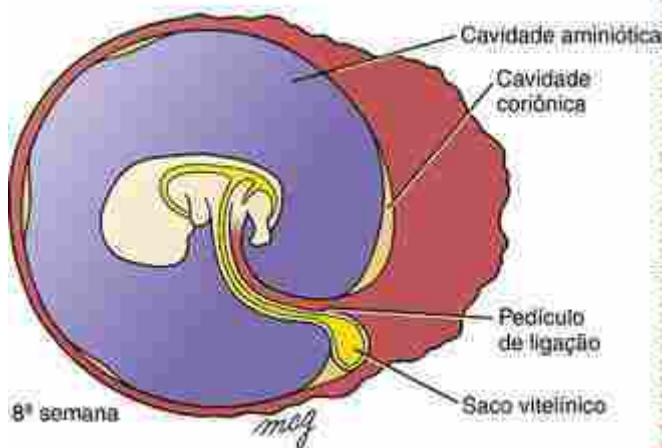
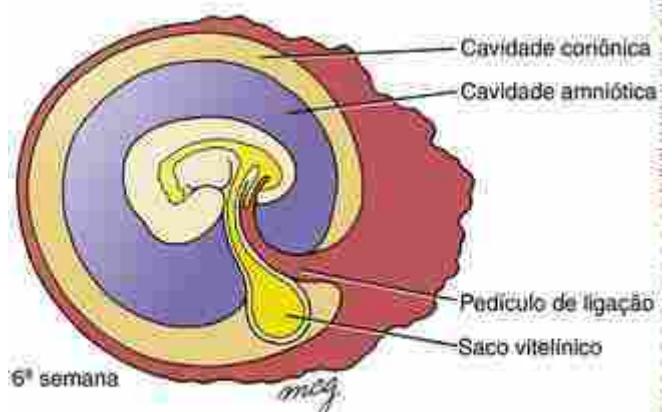
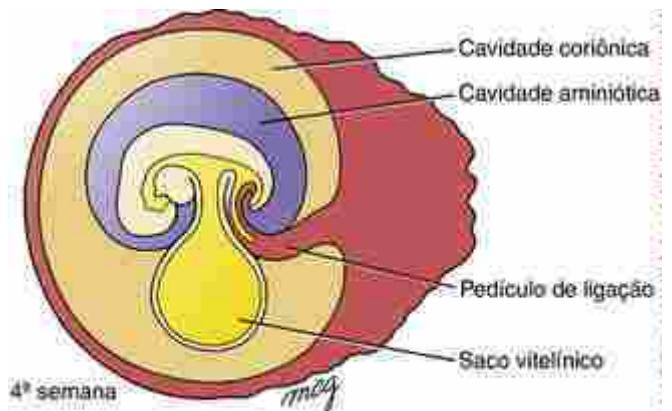


FIGURA 6-6 A cavidade amniótica, expandindo-se rapidamente, preenche de líquido e oblitera a cavidade coriônica entre a 4^a e a 8^a semana.

Após o dobramento embrionário completo, o âmnio se origina a partir do **anel umbilical** que circunda a base do ducto vitelínico e do pedúculo de ligação. Portanto, a expansão progressiva do âmnio cria um tubo de membrana amniótica que envolve o pedúculo e o ducto vitelínico. Esta estrutura composta agora é denominada **cordão umbilical** (Figs. 6-1A, 6-3A). À medida que o cordão umbilical se alonga, o ducto vitelínico se estreita e o corpo em forma de pera do saco vitelínico permanece no interior da bainha umbilical. Normalmente, tanto o saco vitelínico quanto o ducto vitelínico desaparecem no nascimento.

A principal função do cordão umbilical é fazer circular o sangue entre o embrião e a placenta. As artérias e veias umbilicais se desenvolvem no pedúculo para realizar esta função (abordada no Cap. 13). O âmnio expandido cria uma câmara espaçosa e sem peso na qual o feto poderá crescer e se desenvolver livremente. Se o fornecimento de líquido amniótico for inadequado (a condição conhecida como **oligo-hidrâmnio**), a cavidade amniótica anormalmente

pequena poderá restringir o crescimento fetal, o que poderá resultar em malformações graves e **hipoplasia pulmonar** (discutida na seção “Caso Clínico” neste capítulo).

Troca de substâncias entre o sangue materno e fetal na placenta

O sangue materno entra nos espaços intervilosos da placenta através de cerca de cem **artérias espiraladas**, banha as vilosidades, e deixa-o pelas **veias endometriais**. A placenta contém aproximadamente 150 mL de sangue materno, e este volume é substituído por cerca de 3 a 4 vezes por minuto. Os nutrientes e o oxigênio passam do sangue materno através das camadas de células das vilosidades para o sangue fetal, e os resíduos metabólicos, como dióxido de carbono, ureia, ácido úrico e bilirrubina (um produto de degradação da hemoglobina), passam reciprocamente do sangue fetal para o sangue materno.

As proteínas maternas sofrem endocitose e são degradadas pelo trofoblasto, a menos que se liguem aos receptores (p. ex., imunoglobulina [Ig] G, transcobalamina II). Os anticorpos atravessam a placenta para entrar na circulação fetal; desta forma, a mãe dá ao feto imunidade passiva limitada contra uma variedade de infecções, como difteria e sarampo. Esses anticorpos persistem no sangue do bebê por vários meses após o nascimento, guardando o bebê contra doenças infeciosas até que seu próprio sistema imunológico amadureça.

Eritroblastose fetal

A transferência de anticorpos da mãe para o feto não é benéfica em um exemplo bastante comum: quando os anticorpos são direcionados contra um factor Rh na membrana dos glóbulos vermelhos fetais, causando hemólise (dissolução) das células vermelhas do sangue fetal. Os **fatores Rh** são um grupo de moléculas de superfície, geneticamente determinadas, que estão presentes na membrana plasmática das células vermelhas do sangue da maioria (mas não de todos) dos indivíduos. Aqueles cujas células sanguíneas carregam um fator Rh são **Rh +**; indivíduos cujas células de sangue não têm um fator Rh são **Rh-**. Os fatores Rh provocam uma forte resposta imunológica em indivíduos Rh-. Se uma mãe Rh- carrega um feto Rh+ e o sangue fetal vazia na circulação materna, a mãe vai produzir anticorpos contra os glóbulos vermelhos fetais. A passagem significativa de sangue fetal através da placenta para a circulação materna normalmente ocorre apenas no momento do nascimento, de modo que os anticorpos resultantes não se formam a tempo de causar danos ao feto que os induziu. No entanto, se a mesma mãe engravidar de um segundo feto Rh+, seus anticorpos anti-Rh poderão atravessar a placenta e destruir os glóbulos vermelhos fetais, causando anemia no feto e no recém-nascido. Esta condição é denominada **doença hemolítica do recém-nascido** ou **eritroblastose fetal**. Este último nome vem do fato de que a destruição das células vermelhas do sangue estimula uma produção compensatória de um grande número de glóbulos vermelhos fetais nucleados imaturos denominados **eritroblastos**. Outra consequência, por vezes fatal, da doença é a **hidropsia fetal**: acúmulo de água no feto. Além disso, a destruição de células vermelhas do sangue libera grandes quantidades de bilirrubina (um produto da degradação da hemoglobina) na circulação fetal. Esta substância pode ser depositada no cérebro em desenvolvimento, levando a dano cerebral e, em alguns casos, à morte.

Os efeitos da eritroblastose fetal podem ser evitados realizando-se transfusões de sangue Rh- para o feto no útero e para o recém-nascido, de modo que os anticorpos maternos encontrem menos células para destruir. Uma abordagem preventiva mais econômica é administrar anticorpos anti-Rh (RhoGam) para a mãe Rh- imediatamente após o nascimento de cada bebê Rh+. Esses anticorpos destroem glóbulos vermelhos fetais Rh+ na circulação materna antes que eles estimulem o sistema imunológico da mãe, impedindo a produção de anticorpos anti-Rh.

Transferência de dna fetal livre de células para o plasma materno

Recorde-se que o lado fetal da placenta, incluindo a cobertura externa das vilosidades da placenta e todo o espaço interviloso, é revestido por uma camada de sincictiotrofoblasto derivada da camada externa do blastocisto ([Fig. 6-4C](#)). A apoptose (morte celular programada) normalmente ocorre em todo o sincictiotrofoblasto durante a gestação, liberando DNA fetal, que entra na circulação materna. Aproximadamente 10% do DNA que flui livremente no plasma materno é fetal. Assim, utilizando PCR (reação em cadeia da polimerase), o DNA fetal pode ser detectado no plasma materno, começando em torno da 7^a semana de gestação e continuando até o nascimento, após o qual é rapidamente eliminado. O PCR do DNA fetal no plasma materno permite o diagnóstico genético pré-natal precoce e preciso do feto. Recentemente, foi mostrado que o sequenciamento de todo o genoma de um feto poderia ser obtido desta forma não invasiva usando-se “os benefícios de uma colher de chá de sangue materno”. Atualmente, o DNA fetal no plasma materno é utilizado para diagnosticar trissomias ([Cap. 1](#)) no feto em desenvolvimento no útero.

Esta análise de DNA fetal também pode ser utilizada para a identificação do sexo do feto próximo ao final do 2º mês de gestação, ao se verificar a presença ou ausência do SRY e de outros genes presentes no cromossoma Y (descrito no [Cap. 16](#)). Usando a amniocentese ou a biópsia de vilo coriônico (abordado mais tarde neste capítulo), os fetos podem

ser sexados perto do final do 3º para o 4º mês de gestação (ou seja, 1 a 2 meses mais tarde). No entanto, ambos os procedimentos são invasivos e têm um risco elevado de até 1% para induzir aborto. Finalmente, os fetos podem ser sexados e são rotineiramente sexados pela ultrassonografia não invasiva (discutida mais tarde neste capítulo). No entanto, a ultrassonografia só pode ser feita ainda mais tarde, ou seja, a partir de 18 a 20 semanas de gestação.

Sob quais condições seria relevante determinar o sexo do feto o mais cedo possível? Dois exemplos são convincentes. Primeiro, se um casal já tem um filho com uma doença genética rara que normalmente afeta apenas meninos, como a distrofia muscular ou hemofilia, eles ficarão naturalmente preocupados com a possibilidade de ter um segundo filho com uma doença. A sexagem precoce do feto iria aliviar essa preocupação mais cedo se o feto for uma menina. Em segundo lugar, como abordado mais adiante neste capítulo, as mulheres em risco de carregar uma criança com hiperplasia adrenal congênita (HAC) podem ser submetidas a um tratamento preventivo durante a gestação com o potente corticosteroide dexametasona e, assim, reduzir a masculinização da genitália externa nos fetos femininos afetados. Se o feto for um menino, tal tratamento poderá ser interrompido sem efeito deletério sobre o feto.

A placenta permite a passagem de alguns patógenos virais e bacterianos

Embora a placenta seja razoavelmente impermeável a microrganismos, vários vírus e bactérias podem atravessá-la e infectar o feto. Como o feto não possui um sistema imunológico funcionando e sua proteção se baseia exclusivamente em anticorpos maternos, muitas vezes ele é inapto no combate a infecções. Portanto, uma doença que é branda para a mãe pode danificar ou matar o feto. Os tipos de microrganismos que podem atravessar a placenta e infectar o feto podem ser lembrados pelo acrônimo TORCH: *Toxoplasma gondii* (um protozoário que pode ser transmitido aos seres humanos a partir da caixa de areia dos gatos e do solo); outros agentes, como **parvovírus** (um vírus que causa erupções cutâneas em crianças em idade escolar; a forma canina deste vírus não infecta seres humanos); *Treponema pallidum* (a bactéria que causa a sífilis, que pode resultar na morte fetal ou anomalias); *Coxsackievírus* (uma causa da meningite asséptica); o **vírus da varicela-zóster** (o agente da varicela); **vírus da rubéola** (o agente da rubéola ou sarampo alemão); **citomegalovírus** (a infecção por este vírus em adultos e em crianças pode ser assintomática); e **vírus herpes simplex** (o vírus que causa aftas e verrugas genitais).

O citomegalovírus (CMV) causa uma das infecções virais mais comuns no feto. Em um estudo, 1,6% a 3,7% das mulheres testadas a partir de grupos de alta renda e de baixa renda, respectivamente, apresentaram infecção primária por CMV, com risco de transmissão intrauterina de 30% a 40%. Se o CMV infectar o embrião no início do desenvolvimento, ele poderá induzir o aborto; a infecção que ocorre mais tarde pode causar uma grande variedade de anomalias congênitas, incluindo cegueira, microcefalia (cabeça pequena), perda auditiva e retardamento mental.

O hiv pode ser transmitido através da placenta durante o parto ou na amamentação

O **vírus da imunodeficiência humana (HIV)** é o agente da **síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS)** e síndromes relacionadas. Este vírus, por vezes, pode atravessar a placenta da mãe infectada para infectar o feto. É importante notar que 25% a 40% dos bebês são HIV-positivos se suas mães forem HIV-positivas e permanecem sem tratamento com terapias anti-HIV; mas com o tratamento adequado (abordado mais adiante), este número pode ser tão baixo quanto 1%. A diferença na taxa de transmissão de 25% a 40% em grávidas não tratadas está relacionada à placenta, se ela apresenta correceptores específicos para a família específica do HIV e se expressa o vírus ativo. O HIV é normalmente transmitido durante o processo do nascimento ou no leite materno durante a amamentação. Lactentes com infecção perinatal pelo HIV podem parecer saudáveis ao nascer, mas eles geralmente desenvolvem a AIDS aos 3 anos de idade. Assim como em adultos, a doença destrói lentamente um componente crucial do sistema imunológico e deixa o lactente vulnerável a infecções recorrentes. Infecção da glândula parótida, diarreia, bronquite e infecção do ouvido médio crônica são comuns em crianças com AIDS. A pneumonia causada pelo protozoário parasita *Pneumocystis carinii*, uma infecção característica de adultos com AIDS, é um sintoma particularmente alarmante em crianças: o tempo médio de sobrevida de bebês com diagnóstico de AIDS e pneumonia por *Pneumocystis carinii* é de 1 a 3 meses. A infecção pelo HIV-1 também está correlacionada a um aumento da taxa de baixo peso ao nascimento, morte fetal intrauterina e parto prematuro.

Em 2005, estimava-se que mais de 40 milhões de pessoas no mundo estavam infectadas pelo HIV. De acordo com os Centros para Controle e Prevenção de Doenças, aproximadamente a partir de 1984 (quando a epidemia de AIDS começou nos Estados Unidos) a 1993, um total aproximado de 15 mil crianças infectadas pelo HIV nasceram de mulheres HIV-positivas nos Estados Unidos (cerca de 6 a 7 mil mulheres infectadas pelo HIV dão à luz todos os anos nos Estados Unidos). De 1984 a 1992, o número de bebês nascidos com AIDS aumentou a cada ano, mas entre 1992 e 1996 este número diminuiu para 43%. Essa redução ocorreu por causa de uma série de fatores, incluindo maior assistência pré-natal, testes de HIV antes ou durante a gestação e administração de medicamentos antirretrovirais,

como a zidovudina (ZDV), para mulheres HIV-positivas durante a gravidez e no parto, assim como o tratamento pós-natal com os mesmos medicamentos para os bebês nascidos de mulheres HIV-positivas.

Teratógenos atravessam a placenta

Os **teratógenos** são substâncias do ambiente (*i.e.*, não genéticas) que são capazes de provocar um **defeito de nascimento** quando embriões ou fetos são expostos em momentos críticos do desenvolvimento a doses (concentrações) suficientemente elevadas. O estudo do papel dos fatores ambientais no distúrbio do desenvolvimento é conhecido pelo infeliz nome **teratologia**, que significa, literalmente, o estudo (desenvolvimento) de monstros. Vários **princípios de teratologia** surgiram, mas aqui apenas três são cobertos por causa de sua relevância direta para os defeitos congênitos humanos. O primeiro princípio da teratologia que vamos discutir é que uma estrutura embrionária é geralmente suscetível a teratógenos apenas durante **períodos sensíveis críticos** específicos, que normalmente correspondem a períodos de ativa diferenciação e morfogênese. Assim, um agente teratogênico potente pode não ter nenhum efeito sobre o desenvolvimento da estrutura de um embrião se for administrado antes ou após o período crítico, durante o qual essa estrutura é suscetível à sua ação. As linhas do tempo no início dos capítulos deste livro geralmente definem os períodos sensíveis dos tecidos e sistemas de órgãos correspondentes. Durante as primeiras 8 semanas de desenvolvimento, ocorrem os principais eventos da organogênese. Assim, este é o período durante o qual o feto é mais vulnerável aos teratógenos.

Um segundo princípio da teratologia é que uma estrutura embrionária é suscetível a uma **dose crítica** de teratógeno durante o seu período crítico específico de sensibilidade. Assim, nos estudos teratológicos, uma **curva dose-resposta** é construída para um teratógeno suspeito, no qual a menor dose não tem nenhum efeito e a dose mais elevada é letal para o embrião.

Um terceiro princípio da teratologia é de que a suscetibilidade ao teratógeno depende da **constituição genética** do embrião ou do feto em desenvolvimento. Por exemplo, se dois embriões da mesma idade forem expostos à mesma dose de agente teratogênico, um poderá desenvolver malformações cardíacas graves, enquanto o outro poderá permanecer inalterado. A base molecular para essa diferença de sensibilidade poderia, por exemplo, ser uma diferença genética na taxa na qual os sistemas de enzimas dos dois embriões detoxificam o teratógeno. Assim, há uma **interação gene-ambiente** para a suscetibilidade aos defeitos de nascimento que varia de embrião para embrião.

Nem sempre é fácil identificar um composto quando ele é um teratógeno. Duas abordagens são usadas: **estudos epidemiológicos**, que tentam relacionar a exposição pré-natal a um composto suspeito com a ocorrência de várias anomalias congênitas em seres humanos (os chamados estudos retrospectivos); e estudos nos quais o composto é administrado a **animais experimentais** gestantes e a prole é verificada para anormalidades (chamados estudos prospectivos). No entanto, muitas vezes é difícil reunir dados epidemiológicos suficientes para obter um resultado claro, e, além disso, os resultados dos estudos em animais não são necessariamente aplicáveis aos seres humanos. Essas dificuldades são agravadas pelo fato de que a maioria das anomalias congênitas tem uma etiologia multifatorial, isto é, sua patogênese depende (1) da composição genética do indivíduo (o terceiro princípio da teratologia discutido no parágrafo anterior), e (2) da exposição ao teratógeno (ou seja, a dose, o segundo princípio da teratologia discutido no parágrafo anterior). Finalmente, as malformações de uma dada estrutura em geral podem ser causadas apenas durante o período sensível crítico (primeiro princípio da teratologia discutido no parágrafo anterior).

Muitas drogas terapêuticas são conhecidas por serem teratogênicas; estas incluem retinoides (vitamina A e seus análogos), o anticoagulante varfarina, os anticonvulsivantes ácido valproico e fenitoína, e certo número de agentes quimioterápicos utilizados para tratar o câncer. Embora, como dito anteriormente, as drogas mais teratogênicas exerçam seus principais efeitos durante o período embrionário, deve-se ter cuidado na administração de certos anestésicos e outros medicamentos, mesmo no final da gravidez ou a termo, pois eles podem pôr em risco a saúde do feto.

Algumas drogas “recreativas” também são teratogênicas; elas incluem o tabaco, o álcool e a cocaína. As manifestações da síndrome do álcool fetal são abordadas no [Capítulo 5](#). A cocaína, usada por números alarmantes de mulheres grávidas (a droga afetou 300.000 a 400.000 recém-nascidos nos anos 1990 nos Estados Unidos), atravessa facilmente a placenta e pode causar dependência no feto em desenvolvimento. Em algumas das principais cidades dos Estados Unidos, mais de 20% dos bebês nasceram de mães que abusaram de cocaína. Infelizmente, a dependência fetal de cocaína pode ter efeitos permanentes sobre o indivíduo, embora estudos sugiram que a intervenção precoce com suporte emocional e educacional intensivos nos primeiros anos de vida pode ser útil.

As mulheres grávidas que usam cocaína têm frequência mais elevada de morbidade (doença) e mortalidade (morte) fetal do que as mulheres grávidas que não usam. O consumo de cocaína está associado não só a baixo peso ao nascimento, mas também a algumas anomalias específicas do desenvolvimento, incluindo infarto do córtex cerebral e várias malformações cardiovasculares. No entanto, muitas vezes é difícil isolar a cocaína como o teratógeno responsável por um determinado efeito, porque as mulheres que usam cocaína muitas vezes também usaram outras drogas, incluindo maconha, álcool, tabaco e heroína.

Filhos de mães que abusam de cocaína podem nascer prematuros e viciados, assim como as mães que consomem cocaína têm elevada frequência de **trabalho de parto prematuro**. O trabalho de parto prematuro ocorre em 25% das mulheres que têm teste de urina positivo para cocaína na admissão no hospital para o trabalho de parto, mas isso ocorre em apenas 8% das mulheres que não tiveram o teste positivo para cocaína na admissão. Dois mecanismos foram propostos para explicar como a cocaína poderia causar parto prematuro: a cocaína, um potente constrictor dos vasos sanguíneos, pode causar o descolamento das membranas da placenta (separação prematura da placenta do útero), pelo fechamento parcial do fluxo de sangue para a placenta, ou, como há evidências de que a cocaína afeta diretamente a contratilidade do miométrio uterino (camada muscular), ela pode tornar o miométrio hipersensível aos sinais que iniciam o trabalho de parto.

Restrição do crescimento intrauterino

A **restrição do crescimento intrauterino (IUGR)**, frequentemente chamada de **pequeno para a idade gestacional (PIG)**, é uma condição em que o crescimento fetal é nitidamente retardado. A PIG acarreta um risco maior de morbidade e mortalidade perinatal, assim a PIG é um defeito de nascença que ameaça a vida. Um recém-nascido é considerado PIG se pesar menos de 2.500 g a termo, ou ficar abaixo do percentil 10 para a idade gestacional. Existem muitas causas para PIG, incluindo a exposição a teratógenos, tais como infecções virais ou bacterianas congênitas, anomalias cromossômicas fetais (p. ex., síndrome de Down), fatores maternos (como **pré-eclâmpsia**, uma condição que afeta cerca de 5% das gestações, caracterizada por elevada pressão arterial e proteína na urina) e fatores placentários (como **placenta prévia**, ou placenta de “implantação baixa”, uma condição na qual o blastocisto se implanta perto do colo uterino e a placenta cobre uma parte da sua abertura). Ao contrário de muitos outros defeitos congênitos abordados ao longo do livro, a PIG é um defeito congênito que envolve todo o feto, ao invés de apenas um órgão ou sistema de órgãos.

Diabetes e obesidade materna

Tanto o diabetes quanto a obesidade materna durante a gravidez constituem fatores de risco para defeitos congênitos no feto. Assim, a saúde da mãe e o ambiente materno resultante têm impacto no desenvolvimento do feto (Fig. 6-7). Cerca de 1 em cada 200 mulheres em idade fértil têm diabetes antes da gravidez (diabetes preexistente) e outros 2% a 5% desenvolvem diabetes durante gravidez (diabetes gestacional). Mulheres com diabetes preexistente são 3 a 4 vezes mais propensas a ter um filho com um importante defeito de nascença do que as mulheres não diabéticas. Tais defeitos são extensos e incluem defeitos do tubo neural e defeitos cardíacos. Mulheres com diabetes gestacional geralmente não têm um aumento da frequência de crianças com defeitos congênitos. No entanto, se o diabetes em cada grupo for mal administrado durante a gravidez, o risco de dar à luz um bebê muito grande (com mais de 4,5 kg) é aumentado. Estes bebês podem ter maior risco para a obesidade e diabetes mais tarde na vida. A obesidade materna (definida nos Estados Unidos como um índice de massa corporal superior a 30 kg/metro quadrado) também é um fator de risco para defeitos congênitos. Fetos nascidos de mulheres obesas são 2 a 3,5 vezes mais propensos a ter defeitos do tubo neural (abordado no Cap. 4), malformações cardíacas e onfalocele (abordadas nos Caps. 4 e 14) do que aqueles nascidos de mulheres com peso médio.

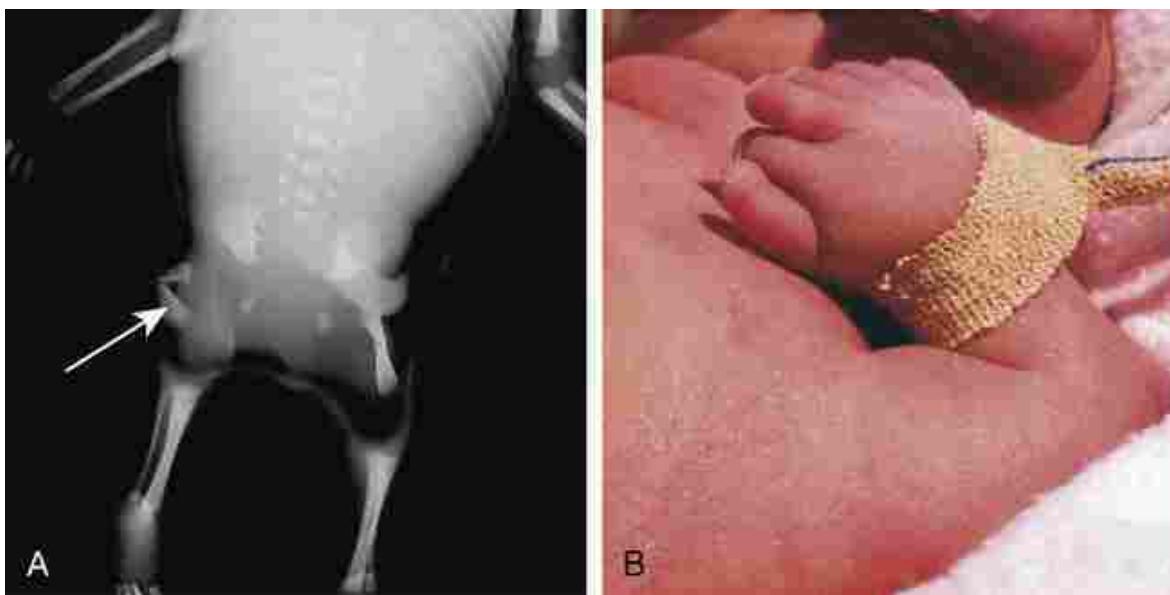


FIGURA 6-7 Defeitos congênitos em recém-nascidos de mães diabéticas apresentando embriopatia diabética. *A*, Imagem de raios X mostrando membros inferiores anormais em um feto natimorto. Nota-se a pelve rompida e os fêmures pequenos e dobrados (seta). *B*, Foto mostrando polidactilia pré-axial (seis dedos) na mão de uma criança.

A placenta produz diversos hormônios importantes

A placenta é um produtor extremamente prolífico de hormônios. Dois de seus principais produtos são os hormônios esteroides estrogênio e progesterona, que são responsáveis pela manutenção do estado gestacional e na prevenção do aborto espontâneo ou parto prematuro. Como descrito no [Capítulo 1](#), o corpo lúteo produz progesterona e estrogênio durante as primeiras semanas de gestação. No entanto, pela 11^a semana, o corpo lúteo degenera e a placenta assume o seu papel.

Durante os 2 primeiros meses de gestação, o sinciotrofoblasto da placenta produz o hormônio glicoproteico **gonadotrofina coriônica humana (hCG)**, que mantém a atividade secretora do corpo lúteo. Uma vez que este hormônio é produzido apenas pelo tecido fetal e é excretado na urina da mãe, ele é utilizado como base para testes de gravidez. No entanto, também é produzido em abundância pela mola hidatidiforme (ver a seção “Na Clínica” do [Capítulo 2](#), intitulado “Molas hidatidiformes”), e a persistência do hormônio após 2 meses de gestação pode indicar uma gravidez molar.

A placenta produz uma gama extremamente ampla de outros hormônios proteicos, incluindo, para nomear apenas alguns, lactogênio placentário humano (hPL), tirotropina coriônica humana, corticotropina coriônica humana, fatores do crescimento semelhantes à insulina, prolactina, relaxina, hormônio liberador de corticotropina e endotelina. É interessante notar que o hPL transforma a mãe de uma utilizadora de carboidratos para uma utilizadora de ácidos graxos, poupando, assim, os carboidratos para o conceito.

Adicionalmente aos hormônios proteicos, as membranas da placenta sintetizam as **prostaglandinas**, uma família de compostos derivados a partir de ácidos graxos, que desempenham uma variedade de funções em vários tecidos do corpo. As prostaglandinas placentárias parecem estar intimamente envolvidas na manutenção da gestação e no início do trabalho de parto. O sinal que indica o início do trabalho de parto parece ser uma redução na relação de progesterona diante do estrogênio, mas o efeito deste sinal pode ser mediado por uma elevação dos níveis de prostaglandinas produzidas pela placenta.

Produção e reabsorção do líquido amniótico

Como descrito no [Capítulo 4](#) e neste capítulo, o dobramento embrionário transforma o âmnio de uma pequena bolsa no lado dorsal do disco embrionário em um saco que envolve completamente o embrião. Por volta da 8^a semana, o saco amniótico expandido preenche completamente a cavidade coriônica inicial e se funde com o córion. A expansão do âmnio é devida principalmente a um aumento na quantidade de **líquido amniótico**. O volume de líquido amniótico aumenta no 7^o mês e, em seguida, diminui um pouco nos últimos 2 meses. No nascimento, o volume de líquido amniótico é cerca de 1 L.

O líquido amniótico, que tem composição muito semelhante à do plasma sanguíneo, é inicialmente produzido pelo

transporte de líquidos através da própria membrana amniótica. Depois de aproximadamente 16 semanas, a urina fetal também faz uma contribuição importante para o líquido amniótico. Se o feto não excretar urina – por causa da **agenesia renal** bilateral (ausência de ambos os rins; discutida no [Cap. 15](#)) ou porque o trato urinário inferior está obstruído (**válvulas uretrais posteriores**; discutido no “Caso Clínico” neste capítulo e no [Cap. 15](#)) –, o volume de líquido amniótico será muito baixo (uma condição denominada **oligo-hidrâmnio**), e a cavidade amniótica, em consequência, será muito pequena. Uma cavidade amniótica pequena pode limitar o crescimento do feto (resultando em deformações; discutidas no [Cap. 5](#)) e causar várias malformações congênitas, mais notoriamente a hipoplasia pulmonar (discutida na seção “Caso Clínico” neste capítulo e no [Cap. 11](#)).

Como o líquido amniótico é produzido constantemente, ele também deve ser reabsorvido constantemente. Isso é realizado sobretudo pelo intestino fetal, que absorve o líquido ingerido pelo feto. O líquido em excesso é, então, devolvido para a circulação materna através da placenta. As malformações que impedem o feto de engolir o líquido, por exemplo, anencefalia ou atresia de esôfago (discutidas nos [Caps. 4](#) e [14](#), respectivamente), resultam em um excesso de líquido amniótico – uma condição denominada **hidrâmnio** ou **poli-hidrâmnio**.

Gêmeos

A ocorrência de gêmeos é natural (*i.e.*, excluindo as técnicas de reprodução assistida [TRA], nas quais, como descrito no [Capítulo 1](#), múltiplos blastocistos são rotineiramente introduzidos no útero) em cerca de 3% dos nascimentos. Gêmeos que se formam por meio da divisão de um único embrião original são denominados **gêmeos monozigóticos** ou **ídênticos**; este tipo de gêmeos ocorre raramente (ou seja, cerca de 0,4%, naturalmente). Estes gêmeos compartilham uma composição genética idêntica. Portanto, eles são parecidos à medida que crescem. Em contraste, os gêmeos **dizigóticos** (*i.e.*, **gêmeos fraternos**) surgem a partir de ovócitos separados produzidos durante o mesmo ciclo menstrual. Este tipo de gêmeos é bem mais frequente (cerca de 1,2%, mas aumenta com a idade materna de 0,3% aos 20 anos para 1,4% em idades entre 35 e 40, e parece ter uma base genética). Os embriões de gêmeos dizigóticos se implantam separadamente e se desenvolvem em membranas fetais separadas (âmnio, córion e placenta). Em contraste, os gêmeos monozigóticos podem compartilhar nenhuma, algumas ou todas as suas membranas fetais, dependendo do momento do desenvolvimento do embrião inicial no qual este se divide para formar os gêmeos.

Se a divisão ocorrer durante a clivagem – por exemplo, se os dois blastômeros produzidos pela primeira divisão da clivagem se separem –, os blastômeros dos gêmeos monozigóticos se implantarão separadamente, como os blastômeros dos gêmeos dizigóticos, e não compartilharão as membranas fetais ([Fig. 6-8](#)). Alternativamente, se os gêmeos são formados pela divisão da massa celular interna dentro do blastocisto, eles ocuparão o mesmo córion, mas serão fechados por âmnios separados e usarão placenta separadas, cada placenta se desenvolvendo ao redor do pedúnculo de ligação do respectivo embrião. Finalmente, se os gêmeos são formados pela divisão de um disco embrionário bilaminar, eles ocuparão o mesmo âmnio. Em casos raros, tais gêmeos não podem se separar totalmente, o que resulta no nascimento de **gêmeos siameses** ([Fig. 6-9](#)).

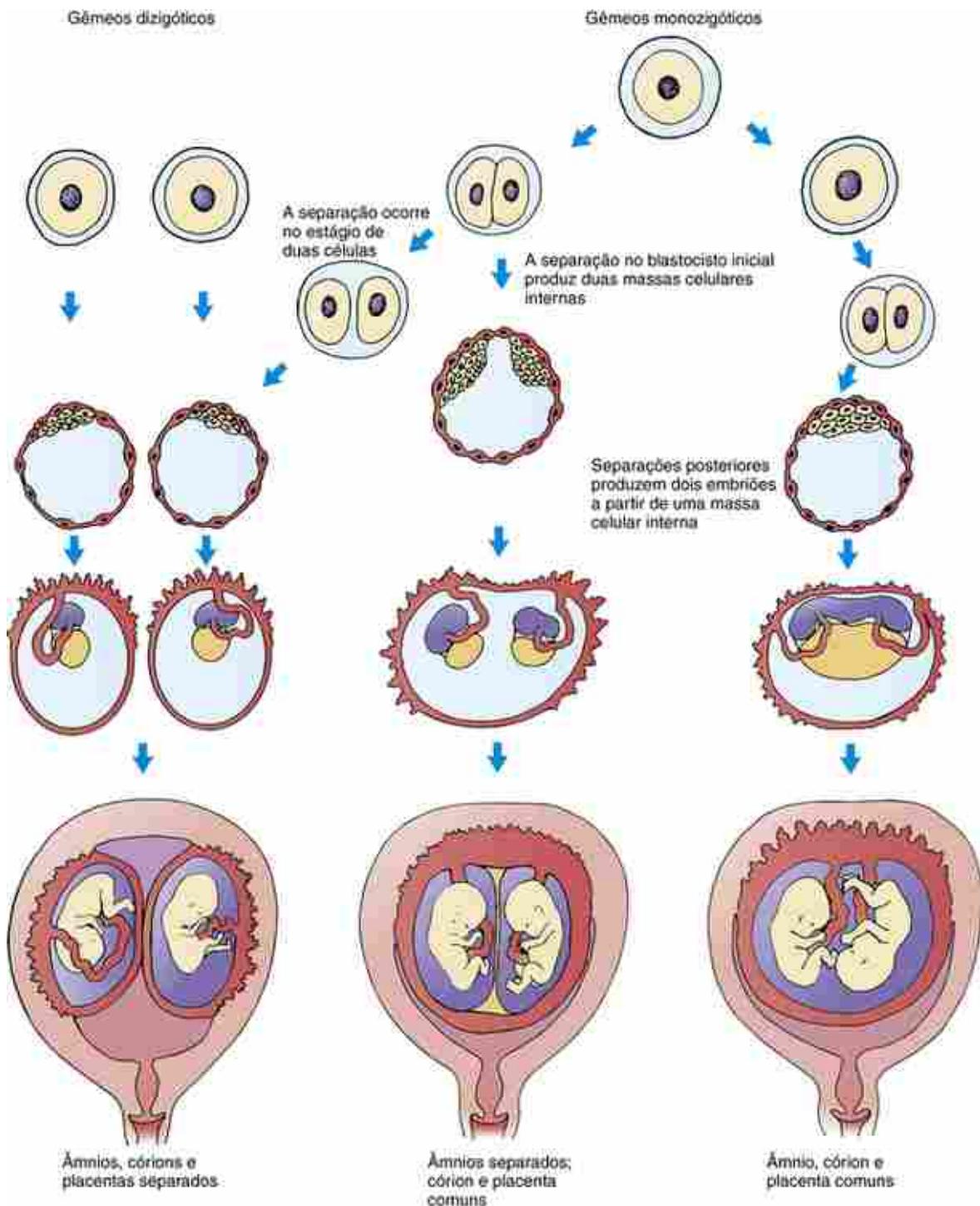


FIGURA 6-8 Desenvolvimento da membrana fetal em vários tipos de gêmeos. O grau com que os gêmeos monozigóticos compartilham as membranas depende da fase de desenvolvimento em que o embrião único original se separa em dois embriões: se a divisão ocorre no estágio de clivagem de duas células, os gêmeos irão se desenvolver separadamente como gêmeos dizigóticos; se a divisão produz um blastocisto com duas massas celulares internas, os embriões irão compartilhar um único córion e placenta, mas ocuparão âmnios separados; se a divisão ocorrer após a formação da massa celular interna, os embriões ocuparão um único âmnio.



FIGURA 6-9 Gêmeos siameses. *A*, Ligados pela frente. *B*, Ligados pelos lados; nota-se uma onfalocele.

Como as membranas fetais se fusionam quando elas são forçadasumas contra as outras pelo crescimento do feto, pode não ser imediatamente óbvio se o septo membranoso que separa um par de gêmeos representa apenas as membranas amnióticas (o que significa que os gêmeos compartilham um único córion; ver *Fig. 6-8*, imagem central: âmnios separados; córion e placenta comuns) ou os âmnios e córions fundidos (significando que os gêmeos originalmente não compartilhavam as membranas fetais; ver *Fig. 6-8*, imagem da esquerda: âmnios, córions e placentas separadas). A pista é a espessura e opacidade do septo: membranas amnióticas são finas e quase transparentes, enquanto as membranas coriônicas são mais espessas e um pouco opacas.

Nas gestações gemelares, podem se formar anastomoses entre os vasos que fornecem as duas placentes. Esta circulação compartilhada geralmente não apresenta nenhum problema, mas se um gêmeo morrer no final da gestação ou se a pressão arterial de um gêmeo cair significativamente, o gêmeo restante estará em risco. Se um gêmeo morrer, o outro gêmeo poderá ser morto por **embolia** (vaso sanguíneo bloqueado) causada por pedaços de tecido que se rompem no gêmeo morto e entram na circulação compartilhada. Se a pressão arterial de um gêmeo cair drasticamente, o outro gêmeo poderá sofrer insuficiência cardíaca conforme seu coração tentar preencher ambos os sistemas circulatórios de uma só vez.

Duas outras complicações graves podem ocorrer quando os vasos são compartilhados entre as placentes: **síndrome da transfusão fetofetal (STFF)** e **perfusão arterial reversa gemelar (sequência TRAP)**. Em STFF (ocorre em 10% a 20% de todos os gêmeos monocoriônicos diamnióticos e é responsável por cerca de 15% de todas as mortes perinatais em gêmeos) ocorrem anastomoses vasculares entre vasos nas duas placentes, o que resulta em um fluxo sanguíneo desequilibrado entre os gêmeos. Um gêmeo, o chamado gêmeo doador, exibe oligo-hidrâmnio e restrição do crescimento, enquanto o outro, o chamado gêmeo receptor, exibe poli-hidrâmnio e o aumento cardíaco e, eventualmente, insuficiência cardíaca. Na sequência de TRAP (incidência de cerca de 1 em 35.000 nascimentos), um gêmeo, o chamado gêmeo bombeador, fornece todo o fluxo de sangue para um segundo gêmeo acardíaco/anencefálico através de anastomoses vasculares placentárias. Devido ao estresse adicional colocado sobre o coração do gêmeo bombeador, a falência cardíaca e a sua morte subsequente ocorrem em 50% a 75% dos casos (o gêmeo acardíaco não pode sobreviver sem o gêmeo bombeador, e ele morre com a morte do gêmeo bombeador ou no nascimento).

No passado, o único tratamento para essas situações era esperar até que o gêmeo saudável estivesse maduro o suficiente para ter uma chance de sobreviver fora do útero e, em seguida, realizar uma cesariana. No entanto, as técnicas cirúrgicas a *laser* (ver mais adiante) estão sendo desenvolvidas para proporcionar um tratamento eficaz no útero para essas condições graves.

Diagnóstico Pré-Natal Avalia a saúde do Feto

O estudo e tratamento do feto constituem o campo da **pediatria pré-natal** ou **fetologia**. Quatro técnicas têm revolucionado o diagnóstico de malformações fetais e doenças genéticas, e levaram a novos tratamentos. Estes são **triagem sorológica materna, ultrassonografia, amniocentese e amostragem das vilosidades coriônicas**. Como abordado anteriormente no capítulo, a detecção de **DNA fetal** no plasma materno vai revolucionar ainda mais o diagnóstico e tratamento.

Triagem sorológica materna

A atual **triagem sorológica materna** pode ser de dois tipos: a triagem *tripla* e a triagem *quádrupla*. Estas triagens são, por vezes, denominadas triagem MSAFP +, pois medem a alfafetoproteína do soro materno, além de outros componentes do soro. Na triagem tripla, além da medição dos níveis séricos de **alfa-fetoproteína (AFP)**, são medidos também uma proteína produzida pelo fígado fetal, cujo nível aumenta de forma constante durante a gravidez, e dois outros componentes do soro: **gonadotrofina coriônica humana (hCG)**, produzida pela placenta, com níveis que chegam ao máximo em aproximadamente 14 semanas de gestação e caem em seguida; e **estriol (uE3)**, também produzido pela placenta. Na triagem quádrupla, a **inibina-A** é medida, além dos outros três componentes do soro. A inibina-A é produzida pelo feto e pela placenta. Essas análises são frequentemente feitas em combinação com o exame ultrassonográfico do feto (Figs. 6-10, 6-11 e 6-12).



FIGURA 6-10 Ultrassonografias. A, Vista lateral de um feto na 12^a semana de gestação. B, C, Vista de outro feto na 20^a semana de gestação. D, E, Dois fetos na 18^a semana mostrando como a ultrassonografia revela o sexo do feto.



FIGURA 6-11 Ultrassonografias tridimensionais de fetos diferentes mostrando imagens do estado da arte da morfologia tridimensional.

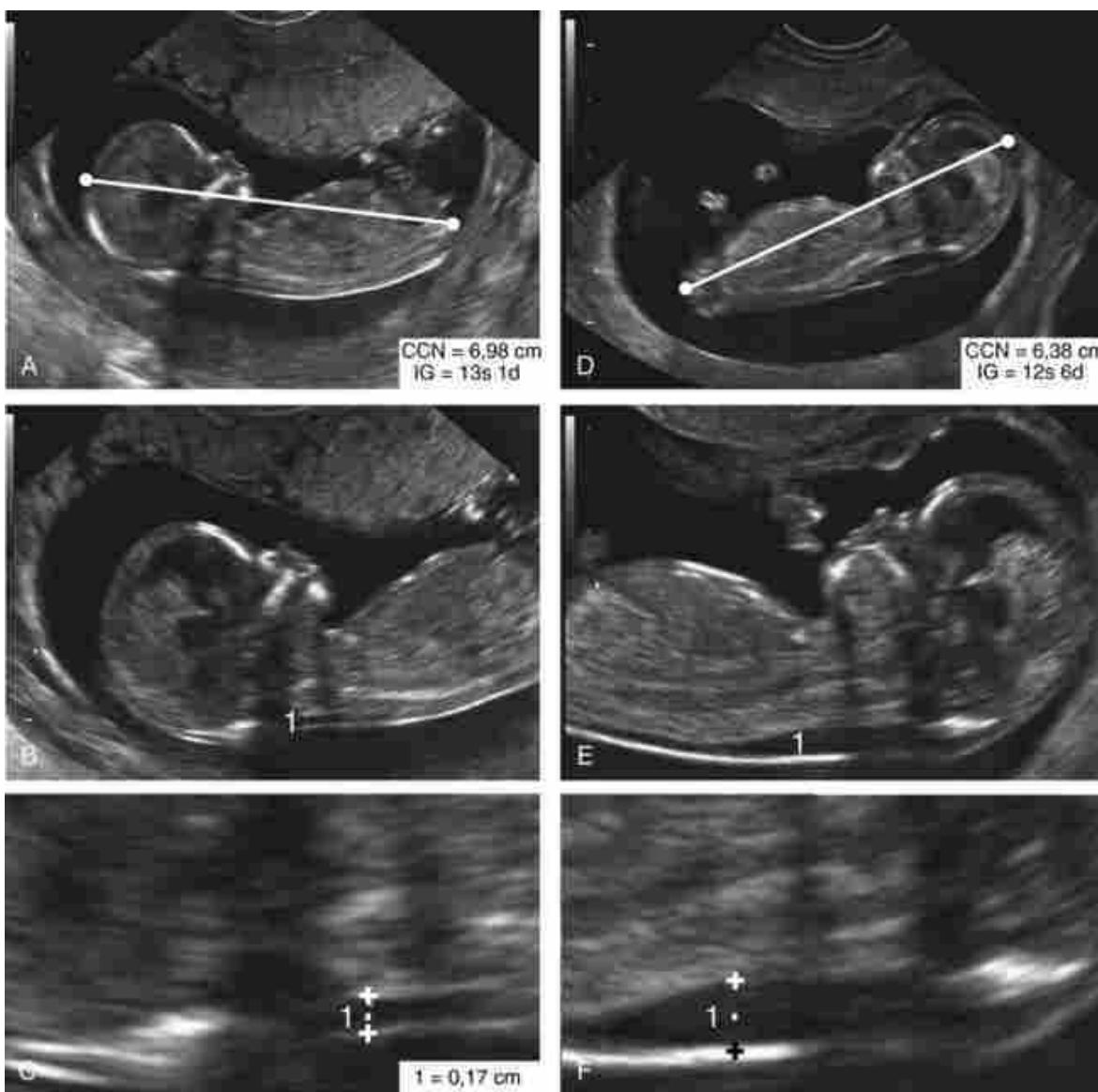


FIGURA 6-12 Ultrassonografias de dois fetos mostrando a área medida durante a avaliação da translucência nucal. A-C, Visão geral e ampliações de um feto com uma medida da translucência nucal (área medida indicada em B e C pelo número 1) na faixa normal (0,17 cm); os pontos do cursor eletrônico são indicados por sinais de mais em C. D-F, Visão geral e ampliações de um feto com uma medida da translucência nucal (mais do que o dobro mostrado na C) consistentes com a síndrome de Down. As linhas em A e D indicam a área medida para determinar o comprimento cabeça-nádega (CCN) IG, idade gestacional.

Os níveis desses componentes no soro podem sugerir a presença de um feto com **síndrome de Down** ou com um defeito de nascença, como um **defeito no tubo neural**. Por exemplo, os níveis de AFP são mais elevados (em comparação com os níveis normais na mesma semana de gestação) quando a mãe está carregando um feto com um defeito no tubo neural. Quando a mulher está grávida de um feto com síndrome de Down, o hCG do soro materno e os níveis de inibina A são elevados e o nível do uE3 é baixo.

A triagem sorológica materna não é um “teste” que diagnostica um defeito ao nascimento; ela apenas indica a possibilidade de alguns tipos de defeitos congênitos. Se resultados anormais forem obtidos, a triagem sorológica materna será seguida por outros processos de diagnóstico, incluindo alguns dos descritos nos parágrafos seguintes. É importante salientar aos pais que a triagem sorológica materna tem uma alta taxa de falso-positivo. Assim, o risco desta análise é que ela pode levar uma desnecessária preocupação aos pais. Foi estimado que a triagem quádrupla detecta mais do que 80% dos fetos com síndrome de Down. Contudo, os elevados níveis séricos de AFP, quando avaliados entre 16 e 18 semanas de gestação – período no qual o teste é mais acurado para predizer a presença de um feto com um defeito no tubo neural –, são correlacionados à presença de um feto com um defeito no tubo neural em apenas 1 em 16 até 1 em 33 casos. Assim, sem mais testes, tais como ultrassonografia, os pais podem decidir, sem saber, pelo aborto de um feto normal.

Ultrassonografia

Na **ultrassonografia**, o interior do corpo é digitalizado com um feixe de ultrassom (som com frequência de 3 a 10 MHz), e um computador é usado para analisar o padrão de ecos. Como tecidos de densidades diferentes refletem o som de modo diferente, revelando as interfaces teciduais, o padrão de ecos pode ser usado para decifrar a estrutura interna do corpo. A qualidade das imagens produzidas pela ultrassonografia tem melhorado rapidamente; agora é possível visualizar a estrutura do feto em desenvolvimento e determinar o seu sexo ([Fig. 6-10](#)), bem como identificar muitas malformações (p. ex. ver a [Fig. 6-12](#)). A ultrassonografia também é utilizada agora para guiar as agulhas ou cateteres usados para a amniocentese e a biópsia de vilosidades coriônicas (a amniocentese e a biópsia de vilosidades coriônicas serão abordadas mais adiante neste capítulo). Esses procedimentos eram realizados anteriormente de modo não guiado, com consequente elevação do risco de perfuração do feto. É importante notar que o ultrassom é usado de rotina em praticamente todas as gestações em países desenvolvidos, e nenhuma evidência indica que seja prejudicial para o feto.

São utilizados vários tipos de “modos de exibição”, ou meios de análise e exibição dos dados de ultrassom, cada um associado a vantagens particulares. A ultrassonografia de modo B mostra uma imagem (**ultrassonografia**) da anatomia de um plano bidimensional de digitalização e pode ser realizada em tempo real ([Fig. 6-10](#)). Recentemente, tornou-se possível utilizar este tipo de ultrassonografia com equipamentos avançados para obter ultrassonografias tridimensionais ([Fig. 6-11](#)) e ultrassonografias “de quatro dimensões” (ou seja, filmes de imagens sequenciais que mostram o movimento). A ultrassonografia de **modo B** mostra as alterações ao longo do tempo na posição de uma estrutura, como uma válvula cardíaca. A **ultrassonografia com Doppler** produz informações de fluxo e pode ser utilizada para estudar o padrão do fluxo dentro do coração e dos vasos sanguíneos em desenvolvimento. A miniaturização eletrônica de ultrassom tem levado ao desenvolvimento da **endossonografia**, em que uma sonda de ultrassom em miniatura é inserida em um orifício do corpo, como a vagina, e é, assim, trazida para perto da estrutura de interesse, permitindo uma imagem de maior resolução.

A ultrassonografia de modo B em tempo real é o tipo mais frequentemente utilizado para examinar o feto ([Fig. 6-10](#)). Uma grande variedade de anomalias fetais pode ser observada e diagnosticada por esta técnica, incluindo defeitos craniofaciais, anomalias dos membros, hérnia diafragmática, síndromes de disgenesia caudal, teratomas, espinha bífida e agenesia renal. As anormalidades do coração fetal e dos batimentos cardíacos podem ser analisadas por meio da **ecocardiografia fetal** – uma ultrassonografia mais detalhada do coração realizada por um cardiologista pediátrico. A ultrassonografia também pode ser utilizada para medir a espessura da área livre na parte de trás do pescoço (*i.e.*, **região nucal**) em um processo conhecido como **análise da translucência nucal** ([Fig. 6-12](#)). Fetos com **síndrome de Down**, outras anomalias cromossômicas e as principais anomalias cardíacas acumulam líquido na parte posterior do pescoço durante o primeiro trimestre. Assim, a espessura da área clara fornece uma indicação da probabilidade de que uma determinada anomalia congênita esteja presente.

Amniocentese

Na **amniocentese**, o líquido amniótico é aspirado da cavidade amniótica (geralmente entre 14 e 16 semanas de gestação) através de uma agulha introduzida através da parede abdominal ([Fig. 6-13](#)) e é examinado em busca de vários sinais de doença fetal. O líquido amniótico contém produtos metabólicos do feto, bem como as células descamadas (**amniócitos**) do feto (possivelmente dos pulmões) e da membrana amniótica; estas últimas são por vezes chamadas de **células-tronco amnióticas**, uma vez que podem dar origem a vários tecidos quando recolhidas a partir

do líquido amniótico e colocadas *in vitro*. Como abordado anteriormente, a AFP é um indicador útil que pode ser avaliado com a amniocentese. Os níveis elevados desta proteína podem indicar a presença de um **defeito do tubo neural** aberto, como anencefalia, ou outro defeito aberto, como **gastrosquise**. As células fetais no líquido amniótico podem ser cultivadas e cariotipadas para determinar o sexo do feto e para detectar anomalias cromossómicas. Outras técnicas de genética molecular podem ser utilizadas para pesquisar o genoma no que se refere à presença ou ausência de mutações específicas que causam doenças hereditárias (descrito no Cap. 1). A amniocentese tem limitações no início da gestação, porque é difícil executá-la quando o volume de líquido amniótico é pequeno e porque uma pequena amostra pode não produzir células suficientes para a análise. Mais adiante na gravidez, a amniocentese é utilizada para avaliar a sensibilização ao Rh e verificar infecção fetal.

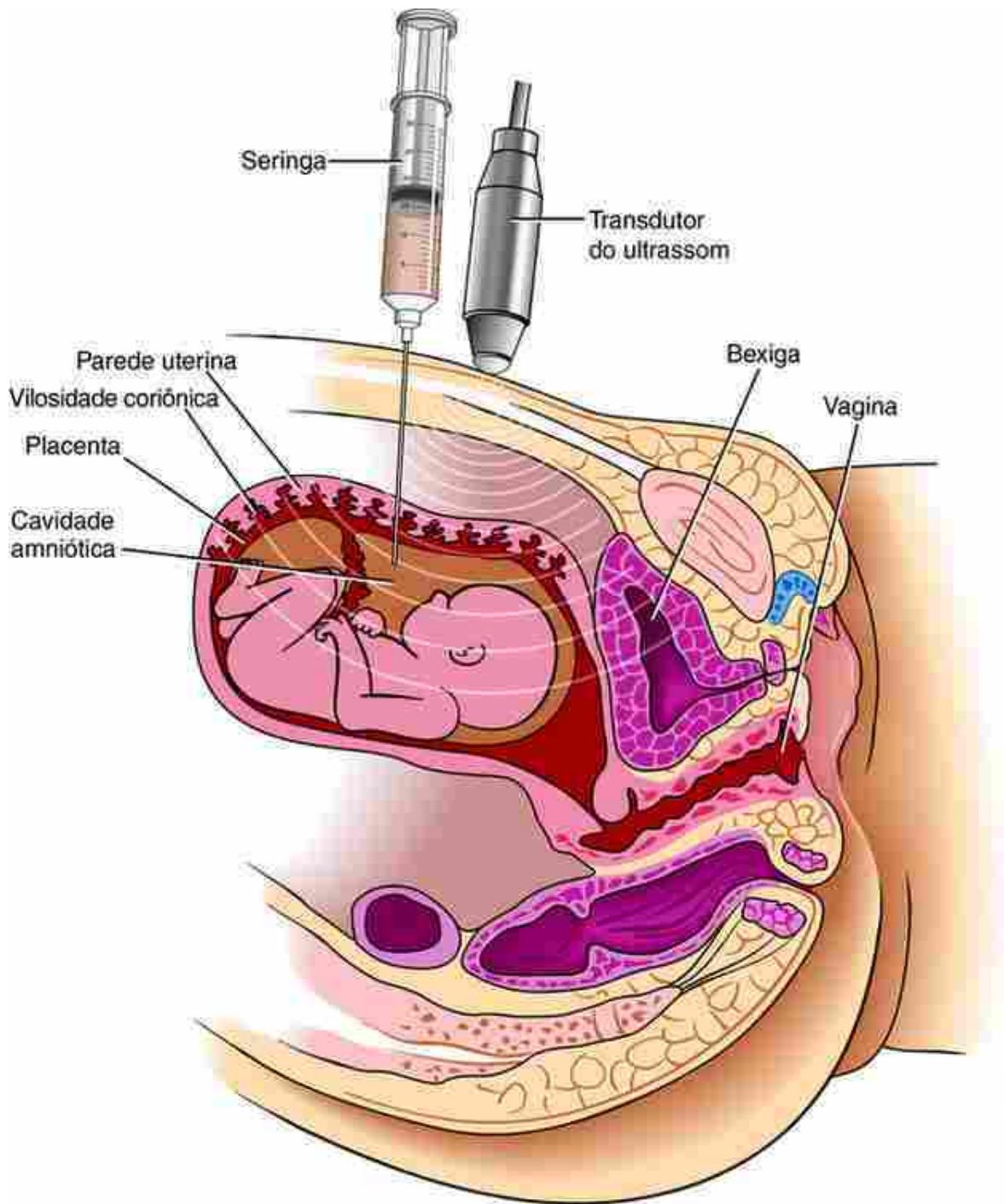


FIGURA 6-13 Ilustração esquemática da amniocentese.

Amostragem das vilosidades coriônicas

Na amostragem das vilosidades coriônicas (CVS), uma pequena amostra de tecido (10 a 40 mg) é removida a partir do córion por um cateter inserido através do colo uterino ou por uma agulha inserida através da parede abdominal ([Fig. 6-14](#)) sob orientação de um ultrassom. Este tecido pode ser diretamente cariotipado ou após uma cultura. A amostragem das vilosidades coriônicas pode ser realizada no início da gestação (10 a 12 semanas) e produz tecido suficiente para muitos tipos de análises genético-moleculares. Como o tecido placentário é examinado diretamente, AFP amniótico não pode ser medido usando-se CVS. A técnica também é complicada porque em 1% a 2% dos casos os resultados da CVS são ambíguos por causa de **mosaicismo cromossômico** (mosaicismo é abordado na seção “Na Clínica” do [Capítulo 1](#), intitulada “Muitas anomalias cromossômicas surgem durante a gametogênese e a clivagem”). Isso pode ser devido a um feto mosaico ou porque o complemento cromossômico placentário difere daquele do feto – um fenômeno denominado **mosaicismo placentário confinado**. Tais resultados ambíguos da CVS devem ser mais bem avaliados pela amniocentese.

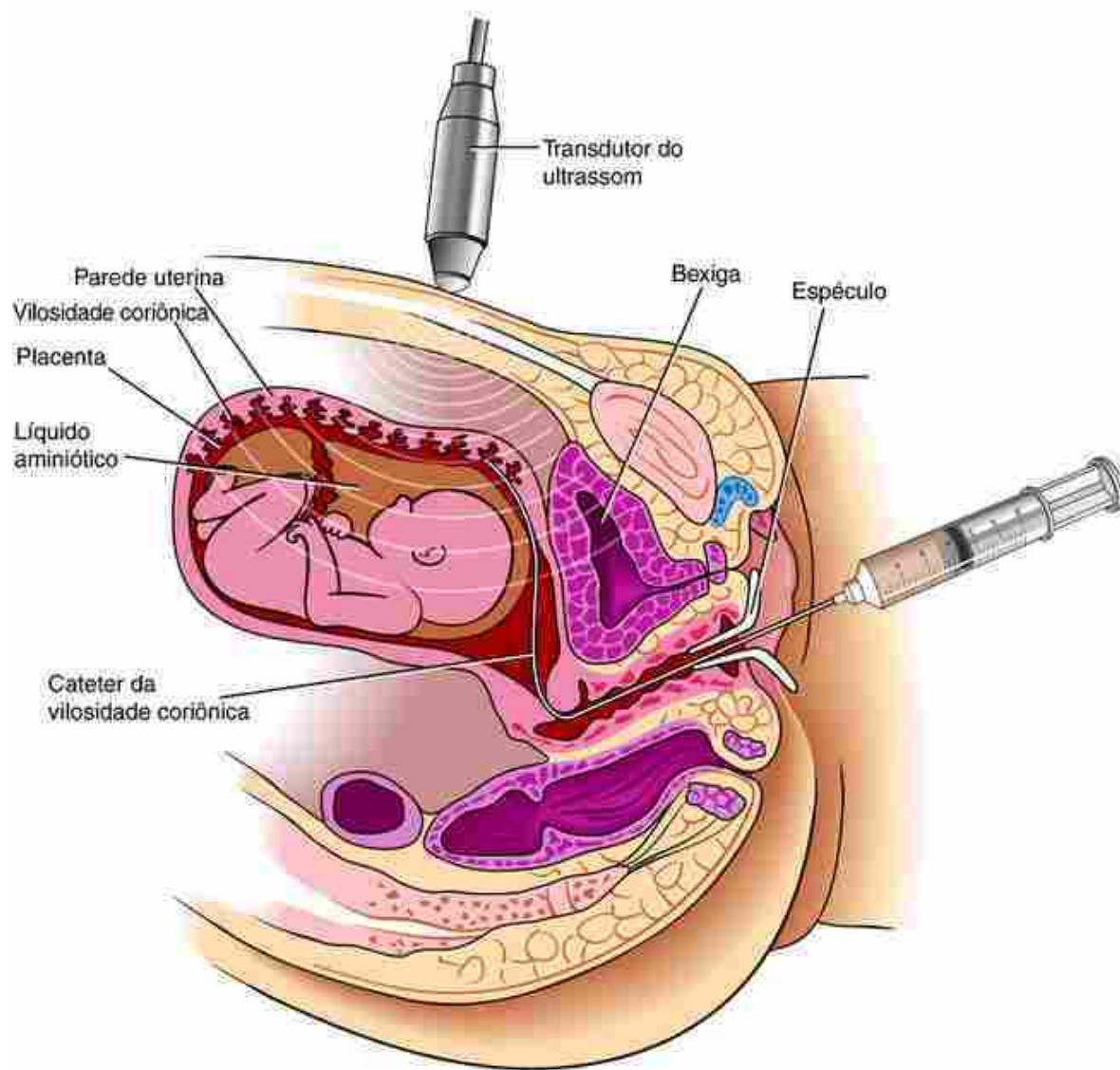


FIGURA 6-14 Ilustração esquemática da amostragem das vilosidades coriônicas.

Tratando o feto no útero

Se a amniocentese ou amostragem da vilosidade coriônica revelarem que um feto tem uma anomalia genética significativa, o feto deverá ser abortado? Se a ultrassonografia mostrar uma malformação grave o suficiente para matar ou deformar o feto, a cirurgia fetal corretiva deverá ser tentada? E se a cirurgia fetal puder resultar em uma melhora estética, por exemplo, um melhor reparo de uma fenda labial com pequena ou nenhuma cicatriz? As respostas a essas questões envolvem muitos fatores, incluindo (1) o risco para a mãe em continuar a gravidez, (2) a disponibilidade de cirurgiões e recursos para a cirurgia fetal, (3) o risco da operação para o feto e para a mãe, (4) a gravidade da anomalia

ou doença, (5) a vantagem de corrigir o defeito *in utero* ao invés de após o nascimento, e (6) a ética, moral e as crenças religiosas das famílias envolvidas. Assim, não há respostas fáceis para essas perguntas complexas, e as decisões tomadas necessitarão da combinação entre os indivíduos envolvidos e a sociedade como um todo.

Ao longo dos últimos 20 anos, várias abordagens vêm sendo tentadas para tratar o feto *in utero*, potencialmente reduzindo o impacto dos defeitos congênitos diagnosticados na fase pré-natal. Esses tratamentos são amplamente classificados em dois tipos: **intervenção cirúrgica** e **intervenção medicamentosa**.

A intervenção cirúrgica tem sido usada para tratar **hérvia diafragmática congênita**, **espinha bífida (mielomeningocele)**, **hidrocefalia** (dilatação dos ventrículos cerebrais devido ao bloqueio do fluxo do líquido cefalorraquidiano; corrigido com a inserção de um desvio no útero ou geralmente na fase pós-natal), **cisto torácico** (p. ex., a **malformação adenomatoide cística congênita** – uma massa multicística de tecido pulmonar que provoca a compressão do pulmão e resulta na hipoplasia), **teratomas sacrococcígeos** (tumores enormes que exigem um fluxo sanguíneo tão grande que pode ocorrer insuficiência cardíaca fetal), problemas vasculares que ameacem a vida fetal em **gestações gemelares** (p. ex., STFF, sequência TRAP), **obstruções do trato urinário** (p. ex., **válvulas uretrais posteriores**) e **síndrome de hipoplasia do coração esquerdo** (ventrículo esquerdo e válvula aórtica subdesenvolvidos). Esses procedimentos cirúrgicos tiveram sucesso variável, conforme resumido a seguir.

Hérnias diafragmáticas congênitas que resultariam em hipoplasia pulmonar foram corrigidas pela abertura do útero, redirecionamento das vísceras herniadas para a cavidade abdominal e reparação do diafragma fetal ([Fig. 6-15](#)). No entanto, com base em ensaios clínicos que envolveram vários casos e centros cirúrgicos, não foi encontrado nenhum benefício de sobrevivência ao se comparar a cirurgia fetal com a cirurgia pós-natal, assim a reparação pós-natal continua sendo o tratamento aceito.

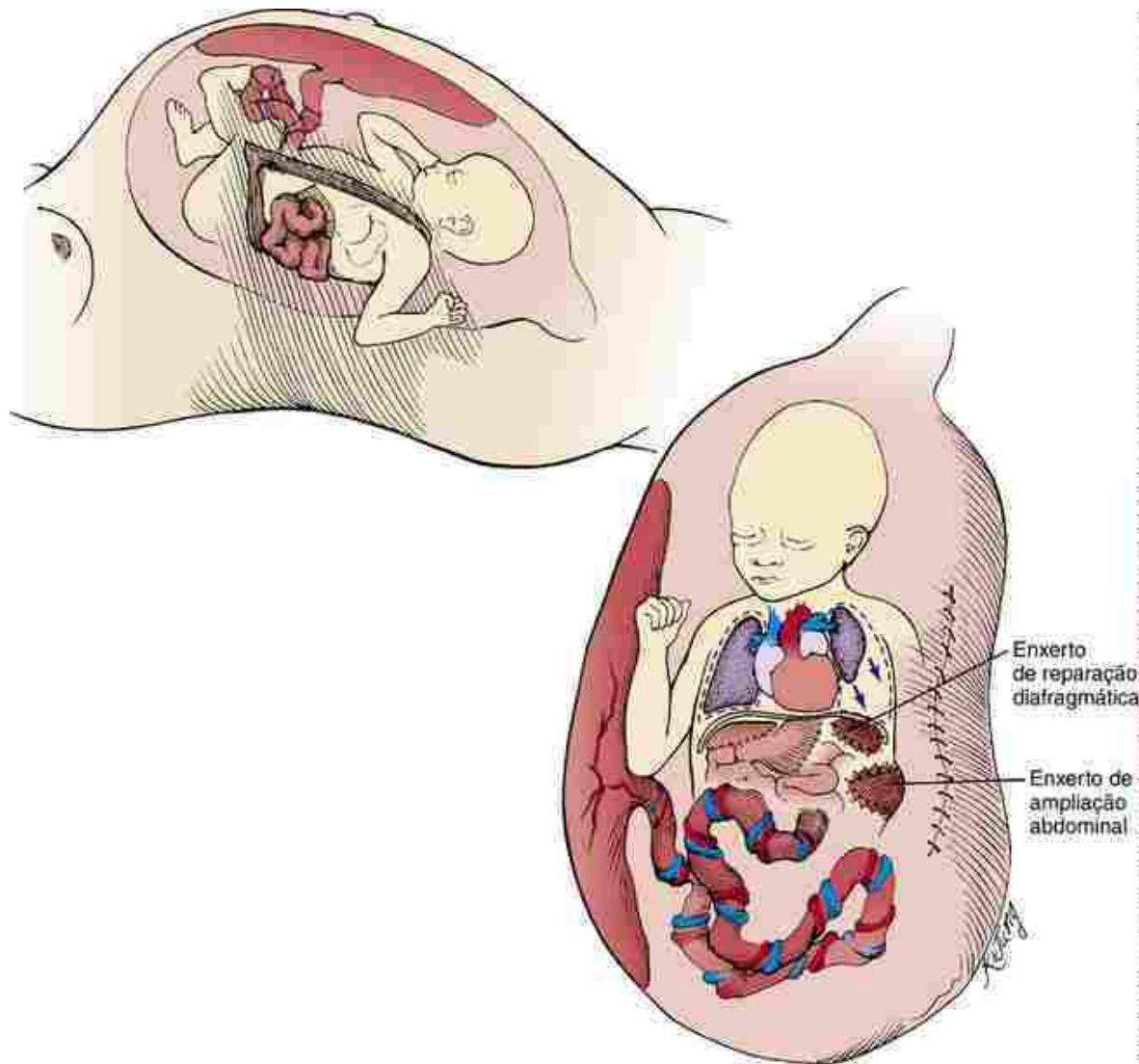


FIGURA 6-15 Ilustração esquemática mostrando o reparo cirúrgico *in utero* de uma hérnia diafragmática. O feto é exposto através de uma incisão na parede abdominal e uterina (área marrom, em forma de V). As vísceras fetais são afastadas da cavidade pleural esquerda, e o furo no diafragma é reparado com um enxerto Gore-Tex®. O pulmão esquerdo agora tem espaço para crescer normalmente. Uma vez que a cavidade abdominal fetal é demasiado pequena para as vísceras restauradas, um segundo enxerto Gore-Tex® é colocado na parede abdominal fetal.

A cirurgia pré-natal para a forma mais grave de **espinha bífida, mielomeningocele** (abordada no Cap. 4), foi avaliada em um ensaio clínico. De acordo com este estudo, a cirurgia pré-natal melhorou a função da perna quando avaliado aos 2,5 anos de idade, em comparação com crianças operadas no período pós-natal. Cerca de 40% das crianças submetidas à cirurgia pré-natal puderam andar sem muletas, mas nos casos de cirurgia pós-natal apenas puderam fazer isso cerca de metade desse percentual. Além disso, normalmente cerca de 90% das crianças nascidas com este tipo de espinha bífida desenvolve **hidrocefalia**, o que requer manobras de desvio (abordadas no Cap. 4). A incidência de hidrocefalia em crianças operadas no pré-natal caiu para cerca da metade quando comparada a crianças operadas após o nascimento. Finalmente, as **malformações de Chiari** (abordadas no Cap. 4), que estavam presentes em todos os recém-nascidos no estudo, resolveram-se até 1 ano em cerca de um terço das crianças que receberam a cirurgia pré-natal, mas não se resolveram nesta idade nenhuma das crianças que passaram por cirurgia pós-natal. Assim, o ensaio clínico pontua para os principais benefícios da cirurgia pré-natal para mielomeningocele e complicações posteriores. No entanto, infelizmente, cerca de metade dos fetos que receberam a cirurgia pré-natal nasceram bastante prematuramente, e outros riscos para mães e bebês foram aumentados por esta abordagem.

A cirurgia pré-natal para aliviar a **síndrome de transfusão fetofetal** (STFF; abordada anteriormente neste capítulo) é agora um dos tipos mais comuns de cirurgias pré-natais, sendo responsável por até 50% de todos os procedimentos fetais realizados em alguns centros médicos. Devido ao aumento do uso de drogas de fertilidade para fertilização *in vitro* e aos procedimentos semelhantes (abordados no Cap. 1), a incidência de gêmeos e, consequentemente da STFF, está aumentando. Com um fetoscópio equipado com *laser*, a cirurgia endoscópica é realizada para mapeamento e

ablação dos vasos no lado fetal da placenta que ligam os gêmeos. Esse procedimento não é realizado sem risco considerável, pois um ou ambos os gêmeos podem morrer após a cirurgia. No entanto, com a cirurgia endoscópica, a incidência de parto prematuro é muito menor do que com a cirurgia abdominal convencional utilizada para outros tipos de cirurgia pré-natal.

As **válvulas uretrais posteriores** (constrição do trato urinário inferior que impede o escape da urina produzida pelos rins) resultam em oligo-hidrâmnio e consequentes malformações fetais, incluindo hipoplasia pulmonar e defeitos da face e dos membros (abordados na seção “Caso Clínico” neste capítulo e no [Cap. 15](#)). A condição também danifica os rins em desenvolvimento, devido à contrapressão da urina nos túbulos renais. O reparo da obstrução pode impedir esses problemas e agora é feito com mais frequência.

A **síndrome da hipoplasia do coração esquerdo** é um grave defeito congênito, descrito no [Capítulo 12](#), em que o ventrículo esquerdo está severamente subdesenvolvido e a via de saída aórtica está bloqueada. Um cateter balão é inserido na via de saída da aorta, na 22^a à 24^a semana de gestação. Quando inflado, o balão abre o calibre da aorta e do trato e permite que o ventrículo esquerdo bombeie o sangue, aumentando a sua dimensão ao longo do tempo. Um ensaio clínico ainda não foi realizado para determinar a eficácia deste procedimento.

Além das intervenções cirúrgicas pré-natais abordadas, a intervenção medicamentosa é utilizada no pré-natal. A intervenção medicamentosa tem sido utilizada para evitar defeitos do **tubo neural** e para tratar a **hiperplasia adrenal** (suprarrenal) **congênita**, a **acidemia metilmalônica** e a **deficiência múltipla da carboxilase**. Os medicamentos também podem ajudar a evitar o **bloqueio cardíaco congênito** (um problema no sistema de condução do coração fetal que pode resultar em frequência cardíaca lenta e, eventualmente, insuficiência cardíaca). Conforme abordado no [Capítulo 4](#), a **suplementação pré-natal com ácido fólico** demonstrou impedir até dois terços dos casos esperados de defeitos do tubo neural. Assim como a suplementação com ácido fólico, o tratamento da doença fetal envolve o tratamento da mãe com substâncias que cruzam a placenta. Na hiperplasia adrenal (suprarrenal) congênita (HAC) fetal, a mãe é tratada durante a gestação com o potente corticosteroide **dexametasona**. A HAC é causada por uma deficiência na enzima 21-hidroxilase, que resulta em redução na produção do cortisol pelo córtex suprarrenal e excesso de produção de andrógenos da suprarrenal (estes são regulados negativamente pela presença do cortisol). Em fetos do sexo feminino com HAC, as genitálias externas são masculinizadas (p. ex., aumento do clitóris e fusão dos lábios; [Fig. 6-16](#); também abordados no [Cap. 15](#)). Os fetos do sexo feminino com HAC nascem com genitálias normais após o tratamento materno adequado com dexametasona.

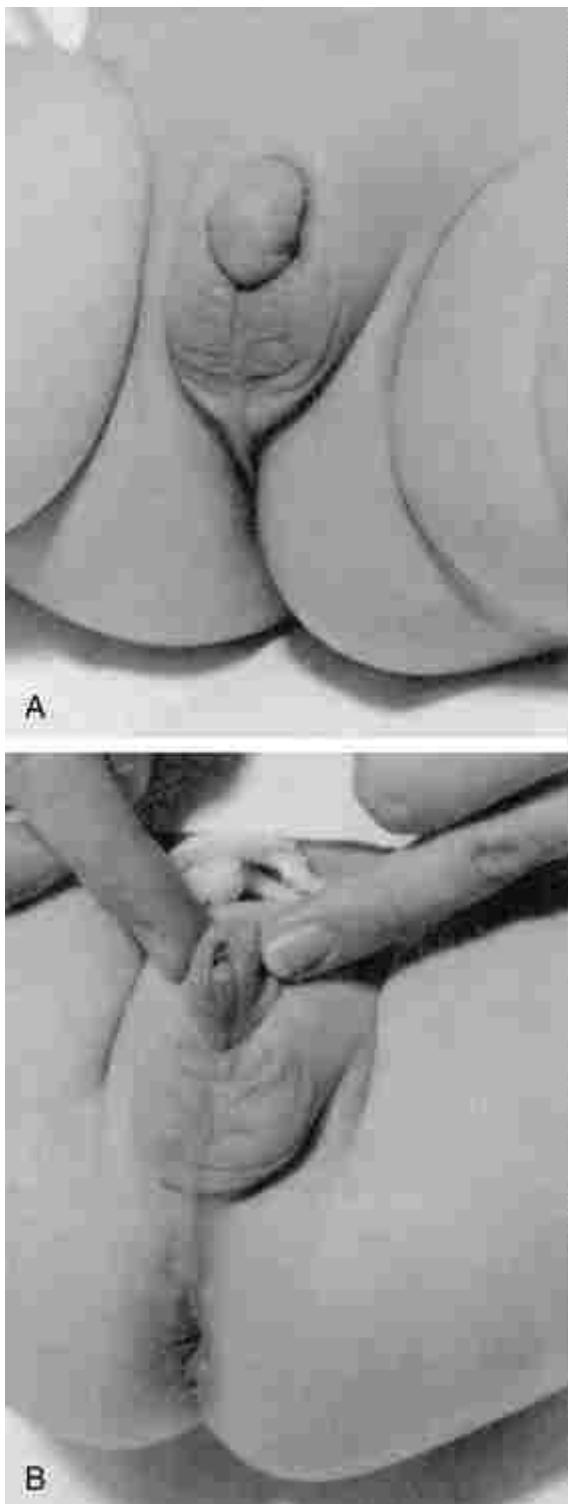


FIGURA 6-16 Genitália externa em um indivíduo XX recém-nascido com hiperplasia adrenal (suprarrenal) congênita. *A*, O clitóris está aumentado e os lábios estão parcialmente fusionados como uma estrutura semelhante à bolsa escrotal. *B*, O meato uretral é visível na base do clitóris aumentado.

A **dexametasona** também está sendo usada para tratar o bloqueio cardíaco congênito, principalmente em mães com **lúpus**. O lúpus é uma inflamação crônica causada por uma doença autoimune. Os anticorpos maternos presentes no lúpus podem afetar o sistema de condução cardíaco fetal, resultando no bloqueio cardíaco (como abordado neste capítulo, os anticorpos maternos podem atravessar a placenta). Além disso, esses anticorpos podem causar lúpus neonatal. Para tratar as **arritmias cardíacas** em fetos, drogas como **digoxina** e **propranolol**, que atravessam a placenta, são dadas para a mãe.

Como a HAC, a acidemia metilmalônica e a deficiência múltipla da carboxilase envolvem deficiências em enzimas fetais. Em alguns tipos de acidemia metilmalônica, há deficiência de **vitamina B₁₂**, uma coenzima necessária para a conversão da coenzima A metilmalonil em coenzima A succinil. Esta deficiência resulta na excreção aumentada de

ácido metilmalônico na urina materna. O tratamento envolve a administração intravenosa materna da **cianocobalamina**, o que aumenta significativamente os níveis de B₁₂ no soro materno e presumivelmente aumenta a quantidade de B₁₂ disponível para o feto. Na deficiência múltipla da carboxilase, há deficiência da enzima **biotinidase**. A menos que tratada, a deficiência múltipla em carboxilase resulta na morte neonatal por acidose. O tratamento envolve a administração materna da vitamina **biotina**, que atravessa facilmente a placenta.

Sangue do cordão fetal e células-tronco

A técnica de terapia genética pode ser facilmente aplicada para corrigir algumas das doenças sanguíneas genéticas humanas no útero por meio de um processo denominado **transplante do fígado fetal**. Em ensaios preliminares, este procedimento foi utilizado para tratar fetos com diagnóstico de doenças que incapacitam gravemente os leucócitos do sistema imunológico (como a doença sofrida pelo “menino na bolha”) ou com a **talassemia** (uma doença do sangue causada por um erro genético que impede a síntese de uma proteína envolvida na produção da hemoglobina). Nesses casos, as células do fígado fetal (*i.e.*, o primeiro grande órgão hematopoiético, como descrito no [Cap. 13](#)) foram obtidas a partir de fetos normais abortados e foram infundidas através de uma agulha guiada por ultrassom na veia umbilical do feto afetado. Essas células colonizam com sucesso o fígado do feto em desenvolvimento e prosseguem produzindo a proteína em falta, aliviando assim a doença. É possível transplantar células de um feto para outro porque o sistema imunológico fetal imaturo não rejeita o tecido estranho. Também é possível a utilização de sangue do cordão umbilical para tais transplantes, pois esta é uma excelente fonte de células-tronco hematopoiéticas.

Para algumas doenças, pode ser vantajoso utilizar a terapia genética para corrigir as células do próprio bebê. Por exemplo, o próprio cordão umbilical do bebê pode fornecer células que podem ser apropriadamente transfectadas com genes, crescidas e reintroduzidas sem rejeição. O processo de coleta e armazenamento das células fetais de cordões umbilicais é denominado **banco de sangue do cordão**. As vantagens da utilização de sangue do cordão umbilical (em comparação com a medula óssea ou de fígado fetal) incluem (1) ausência de desconforto durante a coleta, (2) recuperação elevada de **células-tronco** viáveis, (3) rápida expansão das células-tronco em cultura, (4) elevada taxa de recuperação de células-tronco viáveis após **criopreservação**, (5) redução da doença enxerto *versus* hospedeiro e (6) a eficiência de transfecção com genes “corrigidos”. O sangue do cordão umbilical já foi utilizado em muitos pacientes humanos para o tratamento de doenças potencialmente curáveis com os transplantes de medula óssea, incluindo a **imunodeficiência severa combinada**.

A disponibilidade de bancos de sangue do cordão tem desencadeado outra decisão para o processo de parentalidade: Nós devemos decidir por guardar o sangue do cordão umbilical em um banco para o caso do meu filho precisar mais tarde – por exemplo, para fornecer células-tronco se ele/ela desenvolver leucemia? E, se assim for, deveria ser depositado em um repositório privado ou público? O primeiro pode ser caro, mas garante que uma correspondência genética exata estará disponível se a criança algum dia precisar das células. O último pode ser gratuito e fornece acesso a células para qualquer um que delas precisar, caso eles sejam compatíveis geneticamente. No entanto, essas células provavelmente estarão indisponíveis para seus doadores nos anos posteriores, assim é improvável que haja uma correspondência genética exata disponível. Tanto as empresas dos bancos de sangue de cordão quanto a Academy of Pediatrics (Academia de Pediatria) fornecem mais informações sobre o assunto para consideração dos pais (usando uma ferramenta de busca na rede, como Google, busque “bancos de sangue de cordão”).

Nascimento prematuro

A principal causa de mortalidade infantil no mundo é o nascimento prematuro (também chamado pré-termo), com uma incidência tão alta quanto 1:10. Os bebês prematuros são bebês nascidos antes das 37 semanas de gestação. Infelizmente, eles têm taxas mais altas de morte perinatal do que os bebês nascidos a termo, e são mais propensos a desenvolver deficiências ao longo da vida, tais como cegueira, surdez e paralisia cerebral. Infecções, como HIV, desempenham um papel na prematuridade nos países em desenvolvimento, mas alguns países desenvolvidos, como os Estados Unidos, têm uma das taxas mais elevadas (cerca de 12% nos Estados Unidos). Quatro fatores parecem ser responsáveis por esta última: o aumento do número de mães com obesidade e diabetes, uma tendência para atrasar a gestação para as idades mais avançadas, o aumento do uso de medicamentos para fertilidade, o que muitas vezes resulta em gestações de gêmeos (ou mais) e o uso crescente de cesarianas (muitas vezes planejadas antes da data de termo por conveniência ou por razões médicas).

Os nascimentos prematuros muitas vezes resultam em bebês com baixo peso ao nascer. Bebês de baixo peso são definidos como aqueles com peso inferior a 2.500 g, e se a termo, eles são considerados pequenos para a idade gestacional (abordados no início do capítulo). Os bebês com menores pesos ao nascimento são classificados como portadores de muito baixo peso ao nascer (menos de 1.500 g) ou extremamente baixo peso ao nascer (menos de

1.000 g). Aos 2 anos de idade, 15% a 20% dos bebês que pesavam 1.000 g ao nascimento irão desenvolver paralisia cerebral, cerca de 5% terão convulsões e 10% a 25% terão disfunção cognitiva. Além disso, cerca de 3% a 5% desses bebês tornam-se cegos e/ou surdos. Claramente, apesar dos grandes avanços na terapia intensiva neonatal ao longo das últimas décadas, a prematuridade continua a ser um grave problema de saúde.

Embriologia na Prática

Dois enigmas para resolver

Considerando os dois cenários a seguir.

Dois irmãos são separados em seus anos de adolescência, quando seus pais se divorciaram. O irmão mais velho escolhe viver com o pai e o irmão mais novo com sua mãe. O pai é um médico do exército dos EUA e é transferido para várias bases diferentes no exterior durante sua carreira. A mãe é advogada e trabalha em Los Angeles, onde ela e seu filho continuam vivendo. Os dois irmãos nunca mais se viram outra vez, entretanto, quando adultos eles passaram a se corresponder regularmente por e-mail. O irmão mais novo se casou com sua namorada de longo tempo. Cinco anos depois, o irmão mais velho morre em um acidente de carro na Alemanha. Três anos depois, o irmão mais novo e sua esposa têm um bebê. O anúncio do nascimento lista os dois irmãos como sendo tanto pais quanto tios do bebê.

Duas irmãs, com idades entre 4 e 11, são colocadas em lares adotivos separados depois que seus pais são mortos durante um assalto em sua casa. Ao final, ambas são adotadas e crescem em diferentes cidades da França. Aos 29 anos de idade, a irmã mais velha se casa. Durante vários anos, ela e seu marido tentam conceber um bebê, sem sucesso, mas pouco antes de seu 40º aniversário, um teste de gravidez em casa mostra que ela está grávida. Nove meses depois, ela tem uma menina saudável. Ela fica radiante, assim como sua irmã. Ambas estão orgulhosas de serem tanto mães quanto tias do bebê. Em outras palavras, o bebê é a filha biológica de uma das irmãs e sobrinha biológica da outra, mas, pela relação, ela também é filha de uma irmã e sobrinha da outra.

Como esses cenários são possíveis? A resposta curta é TRA, como descrito no [Capítulo 1](#). A resposta longa é que, no primeiro cenário, os espermatozoides foram doados pelo irmão mais velho antes de sua morte, e, no segundo, os ovos foram doados pela irmã mais nova. A TRA certamente pode desafiar as relações familiares tradicionais, com os desafios começando antes da concepção e continuando durante a gravidez, e especialmente após o nascimento.

Leituras sugeridas

- Collins, S. L., Impey, L. Prenatal diagnosis: types and techniques. *Early Hum Dev.* 2012; 88:3–8.
- Haque, F. N., Gottesman, I. I., Wong, A. H. Not really identical: epigenetic differences in monozygotic twins and implications for twin studies in psychiatry. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151:136–141.
- Lakhoo, K. Fetal counselling for surgical conditions. *Early Hum Dev.* 2012; 88:9–13.
- Luu, T. M., Vohr, B. Twinning on the brain: the effect on neurodevelopmental outcomes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151:142–147.
- Marion, R. Genetic drift. Two miracles, one year later. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151:167–172.
- Rasmussen, S. A., Hayes, E. B., Jamieson, D. J., O’Leary, D. R. Emerging infections and pregnancy: assessing the impact on the embryo or fetus. *Am J Med Genet A.* 2007; 143:2896–2903.
- Sudhakaran, N., Sothnathan, U., Patel, S. Best practice guidelines: fetal surgery. *Early Hum Dev.* 2012; 88:15–19.

CAPÍTULO 7

Desenvolvimento da Pele e Seus Derivados

Resumo

A pele, ou tegumento, é formada por duas camadas: a **epiderme** e a **derme**. A epiderme tem origem no ectoderma embrionário superficial (ectoderma cutâneo), embora também seja colonizada por **melanócitos** (células pigmentares), que são células derivadas da crista neural, e por **células de Langerhans**, que são células do sistema imunológico originadas na medula óssea. A derme do tronco é um tecido de origem mesodérmica. Enquanto a derme ventral é derivada, principalmente, da camada somática do mesoderma da placa lateral, a derme dorsal se origina do dermatomo, uma subdivisão dos somitos (Cap. 8). A derme do rosto é formada a partir de células da crista neural (Caps. 4 e 17).

Após a neurulação, o ectoderma de revestimento, originalmente constituído por uma única camada de células, prolifera formando uma camada externa de epitélio pavimentoso simples, denominada **periderme**. A camada interna de células em proliferação é denominada **camada basal**. Na 11^a semana, a camada basal forma uma nova camada **intermediária** entre ela e a periderme. A camada basal passa a ser denominada **estrato germinativo**; esta camada continuará renovando a epiderme ao longo da vida. Na 21^a semana, a camada intermediária é substituída pelas três camadas definitivas da epiderme externa: o **estrato espinhoso** interno, o **estrato granuloso** médio e o **estrato cárneo** externo, ou **camada cárnea**. As células dessas camadas são denominadas **queratinócitos** porque contêm as proteínas de **queratina** características da epiderme. As camadas da epiderme apresentam uma sequência de maturação: ao avançarem em direção à superfície, os queratinócitos, produzidos pelo estrato germinativo, se diferenciam, formando duas camadas intermediárias; já os queratinócitos maduros, achatados e ricos em queratina da camada cárnea são descartados a partir da superfície da pele. Com o desenvolvimento definitivo da epiderme, a periderme sobreposta vai sendo gradualmente descamada para o líquido amniótico. As células da pele fetal, liberadas no líquido amniótico, são denominadas **amniócitos** e podem ser puncionadas a partir do líquido amniótico, por amniocentese, e cultivadas para originar **células-tronco amnióticas**, que demonstram potencial valor terapêutico (Cap. 6).

A derme contém a maioria dos tecidos e estruturas da pele, incluindo vasos sanguíneos, nervos, feixes musculares e inúmeras estruturas sensoriais. A camada superficial da derme desenvolve projeções denominadas **papilas dérmicas**, que se interdigitam com invaginações da epiderme denominadas **cristas epidérmicas**.

Algumas estruturas especializadas da pele se desenvolvem a partir do ectoderma de revestimento, incluindo os pelos, glândulas, unhas e dentes (Cap. 17). Os **folículos pilosos** se originam como invaginações da camada germinativa, em forma de haste, em direção à derme. A base dilatada, em forma de botão, de cada folículo piloso apresenta uma evaginação da derme denominada **papila dérmica**, enquanto a haste do pelo é produzida pela **matriz germinativa** do ectoderma que recobre a papila dérmica. Vários tipos de glândulas epidérmicas também surgem como invaginações da epiderme. Algumas brotam da região de istmo do folículo piloso; outras se desenvolvem a partir do estrato germinativo em direção à derme. Os quatro principais tipos de glândulas epidérmicas são as **glândulas sebáceas**, que secretam o sebo oleoso que lubrifica o pelo e a pele; as **glândulas sudoríparas apócrinas**, encontradas nas axilas, na região pubiana e em outras áreas específicas da pele que secretam substâncias odoríferas; as **glândulas sudoríparas écrinas**, que estão amplamente distribuídas ao longo da superfície da pele, onde exercem importante papel de termorregulação; e as **glândulas mamárias**. Os primórdios das unhas surgem nas pontas distais dos dedos e depois migram para a superfície dorsal. A placa ungueal cresce a partir do estrato germinativo especializado localizado na **prega ungueal** da epiderme que se sobrepõe à extremidade proximal do primódio da unha.

Caso Clínico

Você é o pediatra de uma menina de 3,5 anos com constipação crônica que teve início a partir do “treinamento para uso do vaso”. Você recebe uma mensagem, em sua secretaria eletrônica, informando que a mãe da menina o

chamou, da sala de emergência, durante a noite. Aparentemente, os pais conduziram a menina ao hospital no final da noite quando perceberam que ela apresentava um prolapso retal (protrusão do reto para fora do ânus), após esforço de evacuação.

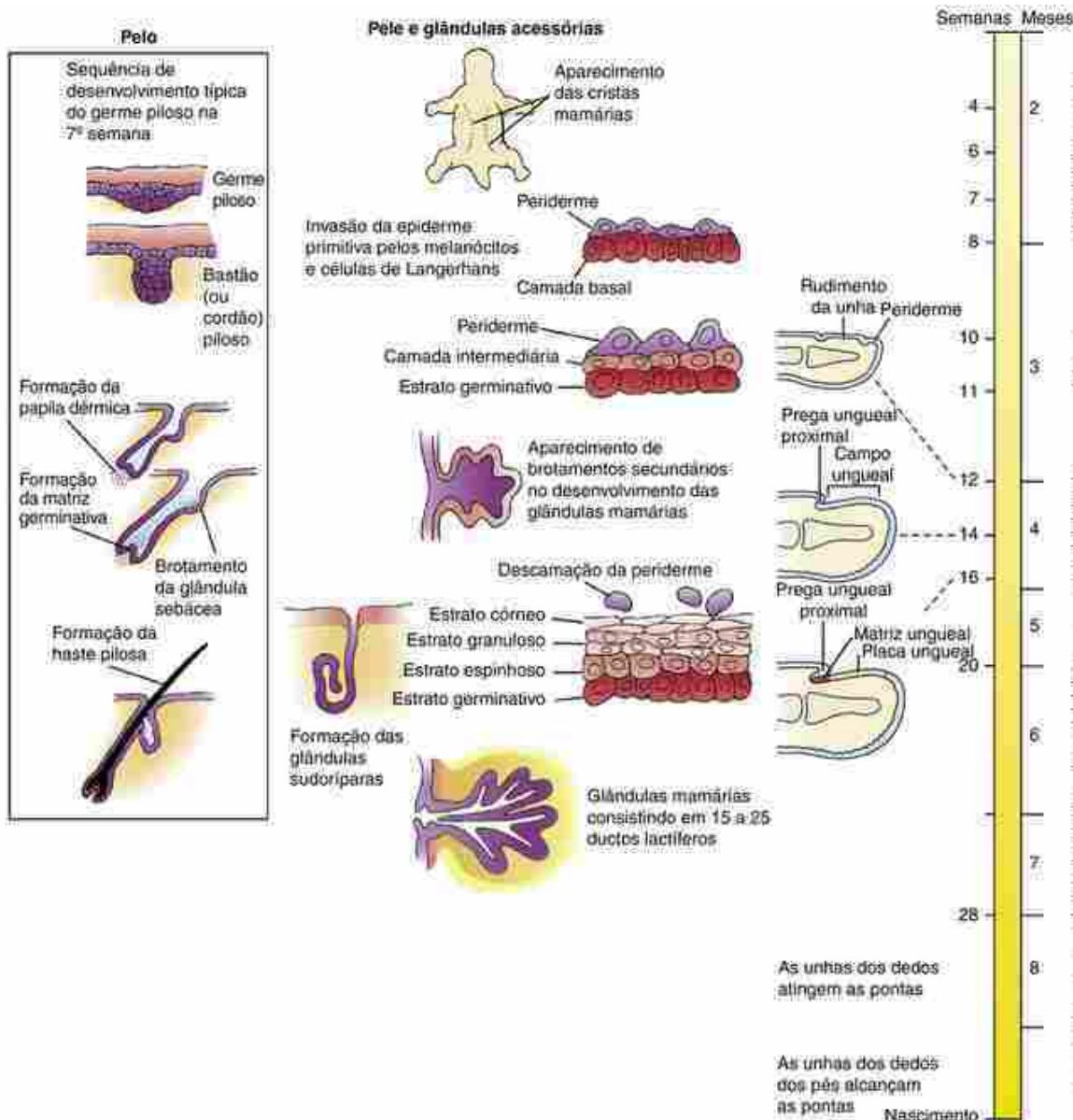
Mais tarde, durante o dia, você examina a menina, com sua mãe, para acompanhamento do caso. A menina foi examinada na sala de emergência, por um cirurgião que reduziu o prolapso retal sem cirurgia e prescreveu um enema e emolientes de fezes. O cirurgião comunicou à família que o pediatra conversaria com eles sobre a possível existência de condições como a fibrose cística, que pudesse estarem associadas ao prolapso retal, e iria providenciar exames para atestar tais condições.

Ao examinar o abdome da criança para buscar fezes compactadas, você percebe que a menina tem uma pele pálida aveludada e um número incomum de hematomas e cicatrizes atróficas (cicatrizes dilatadas semelhantes a papel) em suas canelas. A mãe o lembra que a menina nasceu com prematuridade de 1 mês por sua "bolsa ter se rompido antes da hora", e que a menina era um recém-nascido "mole", que começou a andar tarde. A mãe afirma que a menina herdou de seu pai "articulações ultraflexíveis" e está começando a mostrar flexibilidade aumentada em suas articulações (Fig. 7-1). Você também percebe que a pele da menina é hiperextensível.



FIGURA 7-1 Demonstração da hiperflexibilidade indolor da terceira articulação metacarpofalangiana direita em uma criança.

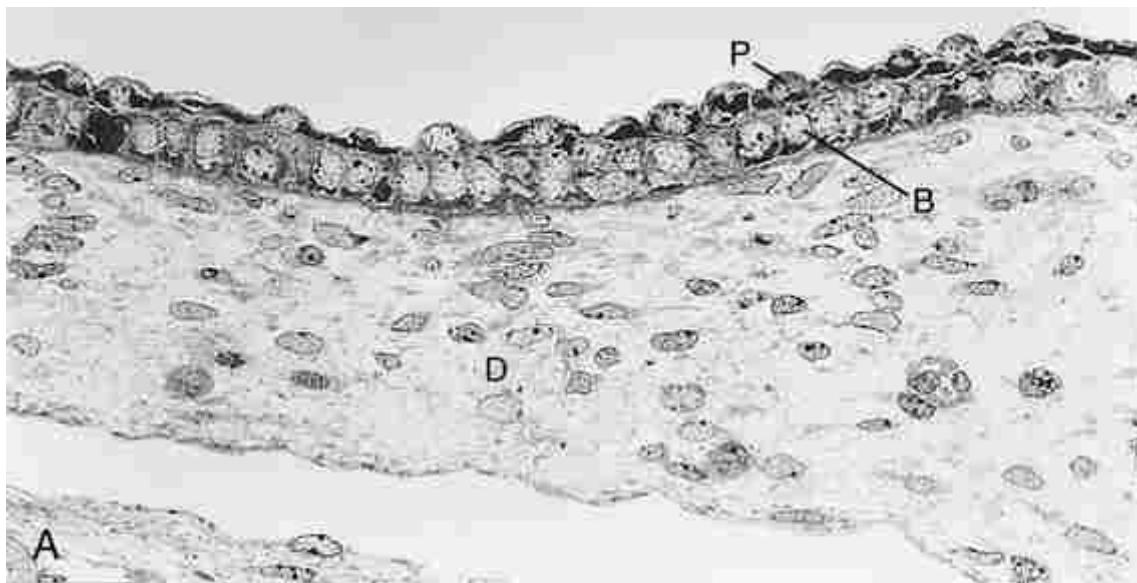
Você diz para a mãe que é razoável fazer os testes para fibrose cística, mas que suspeita de que o diagnóstico seja de síndrome de Ehlers-Danlos (EDS), uma desordem hereditária do tecido conjuntivo. A EDS é, na verdade, um grupo de distúrbios causados por mutações em vários genes envolvidos na formação de componentes estruturais da pele e das articulações. A EDS clássica é causada por mutações nos genes dos colágenos tipo I e V. Você tranquiliza a mãe dizendo que a condição de sua filha pode ser controlada por meio da restrição a certos tipos de atividades e do monitoramento de complicações mais importantes, como a dilatação da raiz da aorta.



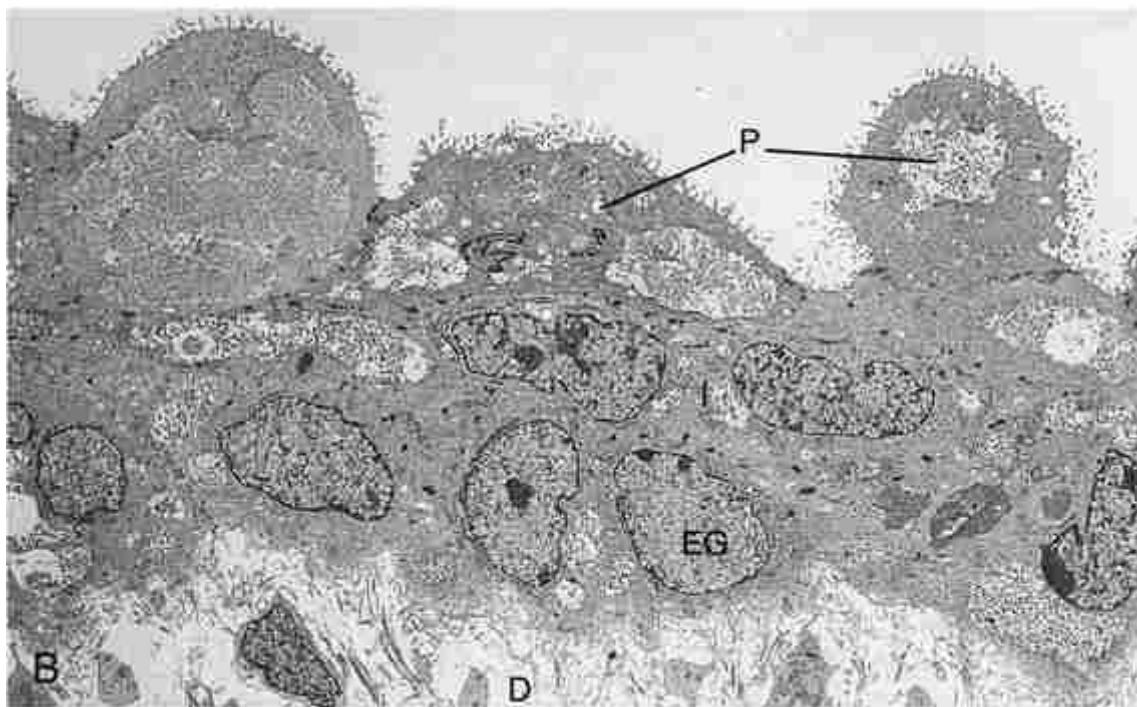
Origem da epiderme e da derme da pele

O ectoderma de revestimento origina a epiderme

O ectoderma de revestimento embrionário consiste inicialmente em uma única camada de células. Após a neurulação, na 4^a semana de desenvolvimento embrionário, o ectoderma de revestimento produz uma nova camada externa de epitélio pavimentoso simples denominada **periderme** (Fig. 7-2A). A camada subjacente de células é agora denominada **camada basal** separada da derme pela membrana basal, que contém proteínas como colágeno, laminina e fibronectina. As células da periderme são gradualmente descartadas no fluido amniótico. Em geral, a periderme é descamada completamente por volta da 21^a semana, mas em alguns fetos ela persiste até o nascimento, formando uma “concha” ou “casulo” em torno do recém-nascido, que é removido pelo médico ou descama espontaneamente durante as primeiras semanas de vida. Esses recém-nascidos são denominados **bebês colódio**.



8^a semana



11^a semana

FIGURA 7-2 Diferenciação do ectoderma na epiderme primitiva. A, Fotomicrografia. Entre a 8^a e a 9^a semana, o ectoderma de superfície forma a camada da periderme (P). A camada proliferativa é agora denominada camada basal (B) adjacente à derme (D). B, Eletromicrografia de transmissão. Por volta da décima primeira semana, a camada basal origina uma camada intermediária que passa a ser denominada estrato germinativo (EG), a camada adjacente à derme (D). Uma camada externa completa, mas irregular, de periderme (P) ainda pode ser observada.

Na 11^a semana, a proliferação da camada basal produz uma nova camada intermediária, logo abaixo da periderme (Fig. 7-2B). Esta camada é a precursora das camadas externas da epiderme madura. A camada basal, agora denominada **camada germinativa** ou **estrato germinativo**, constitui a camada de células-tronco que vai continuar a reconstituir a epiderme ao longo da vida. As células da camada intermediária contêm as proteínas de queratina características da epiderme diferenciada; consequentemente, estas células são denominadas **queratinócitos**.

Durante a parte inicial do 5º mês, próximo ao momento em que a periderme é descartada, a camada intermediária é substituída pelas três camadas definitivas da epiderme externa: o **estrato espinhoso** interno (ou **camada espinhosa**), o **estrato granuloso** no meio (ou **camada granular**) e o estrato córneo externo (ou **camada córnea** ou **queratinizada**)

(Figs. 7-3 e 7-4). Essa transformação começa na extremidade cranial do feto e prossegue caudalmente. As camadas da epiderme apresentam uma sequência de maturação: os queratinócitos são produzidos continuamente pelo estrato germinativo, diferenciam-se à medida que migram para o estrato córneo e, finalmente, descamam na superfície da pele.

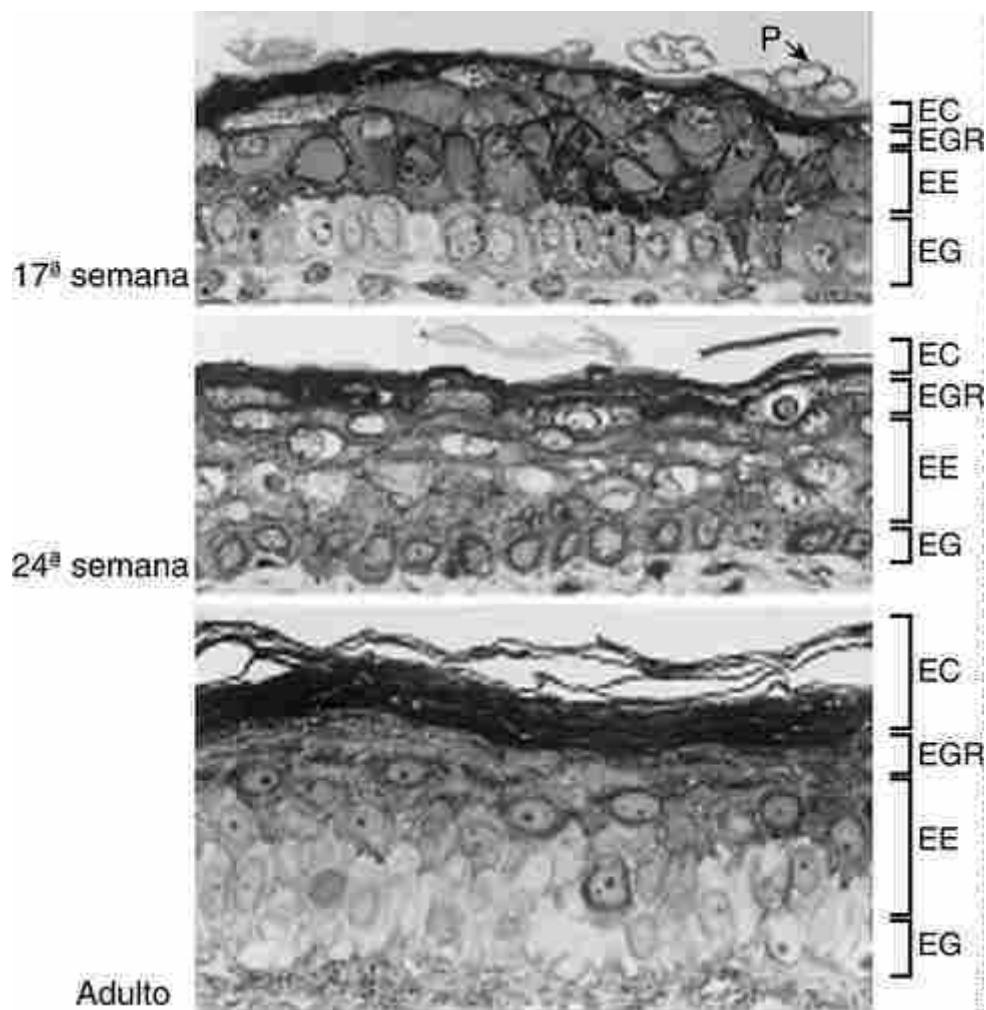


FIGURA 7-3 Diferenciação da epiderme madura. Fotomicrografias. A periderme (P) é descartada durante o 4º mês e normalmente está ausente por volta da 21^a semana. As camadas definitivas da epiderme, incluindo o estrato germinativo (EG), o estrato espinhoso (EE), o estrato granuloso (EGR) e o estrato córneo (EC), começam a se desenvolver durante o 5º mês e a epiderme se torna totalmente diferenciada após o nascimento.

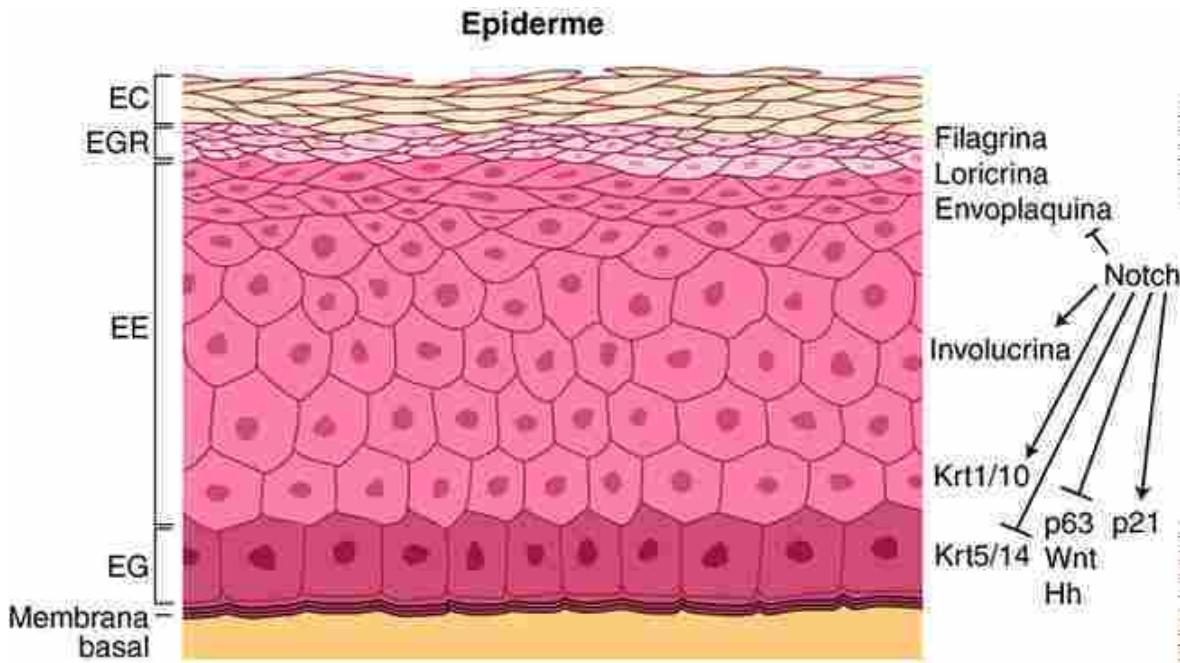


FIGURA 7-4 Expressão diferencial de queratinas e de proteínas de envelope durante a diferenciação da pele. Notch promove os primeiros estágios da diferenciação a partir da inibição de sinais celulares proliferativos de p63, Wnt e Hh e pela ativação do inibidor de ciclo celular p21 no estrato germinativo (EG). Notch inibe também os estágios finais da diferenciação. EC, estrato cônico; EGR, estrato granuloso; EE, estrato espinhoso.

As células do estrato germinativo são as únicas células em divisão da epiderme normal. Essas células contêm uma rede dispersa de filamentos de queratina primária (krt) específicos desta camada, como krt5 e krt14, e estão associadas por junções celulares denominadas **desmossomas**. Juntamente com as junções aderentes, os desmossomas formam uma barreira impermeável e seladora, resistente à absorção ou perda de água e à infecção. Além disso, os desmossomas auxiliam na distribuição de forças de modo uniforme por toda a epiderme.

À medida que as células do estrato germinativo migram para o estrato espinhoso sobrejacente (4 a 8 células de espessura; Fig. 7-4.), os filamentos intermediários krt15 e krt14 são substituídos por duas proteínas de queratina secundárias, krt1 e krt10. Estes filamentos apresentam ligações cruzadas de pontes dissulfeto que proporcionam maior resistência. Além disso, as células do estrato espinhoso produzem a **proteína de envelope**, denominada involucrina.

À medida que as células do estrato espinhoso migram em direção ao estrato granuloso, elas produzem outras **proteínas de envelope**, como a loricrina e a envoplaquina, que, em conjunto com a proteína de envelope involucrina, revestem a superfície interna da membrana plasmática. A enzima transglutaminase é responsável pela ligação cruzada das proteínas de envelope. Outra proteína, denominada filagrina, também é produzida por essas células. A agregação dos filamentos de filagrina com os filamentos de queratina formam feixes bastante firmes, responsáveis pelo achatamento da célula. Também são produzidos grânulos que contêm lipídios (**grânulos lamelares**) que auxiliam na vedação da pele. Finalmente, no denominado processo de **queratinização**, enzimas líticas são liberadas no interior da célula, a atividade metabólica cessa e a enucleação ocorre, resultando na perda do conteúdo celular, incluindo o núcleo. Consequentemente, os queratinócitos que entram no estrato cônico são achatados, em forma de escama, podendo ser considerados queratinócitos completamente diferenciados ou em **escamas**.

No Laboratório de Pesquisa

Células-tronco no tegumento

A pele é o maior órgão do corpo. Ela sofre autorrenovação a cada 4 semanas e, portanto, ocorre uma rápida reposição das células. Por isso, a pele necessita de um grande número de **células-tronco**, as quais, devido à sua localização superficial no corpo, podem ser facilmente utilizadas de forma terapêutica para regenerar a pele e seus derivados. Além disso, as células-tronco têm o potencial de regenerar outros órgãos.

Três populações claramente definidas de células-tronco podem ser encontradas na pele (Fig. 7-5).

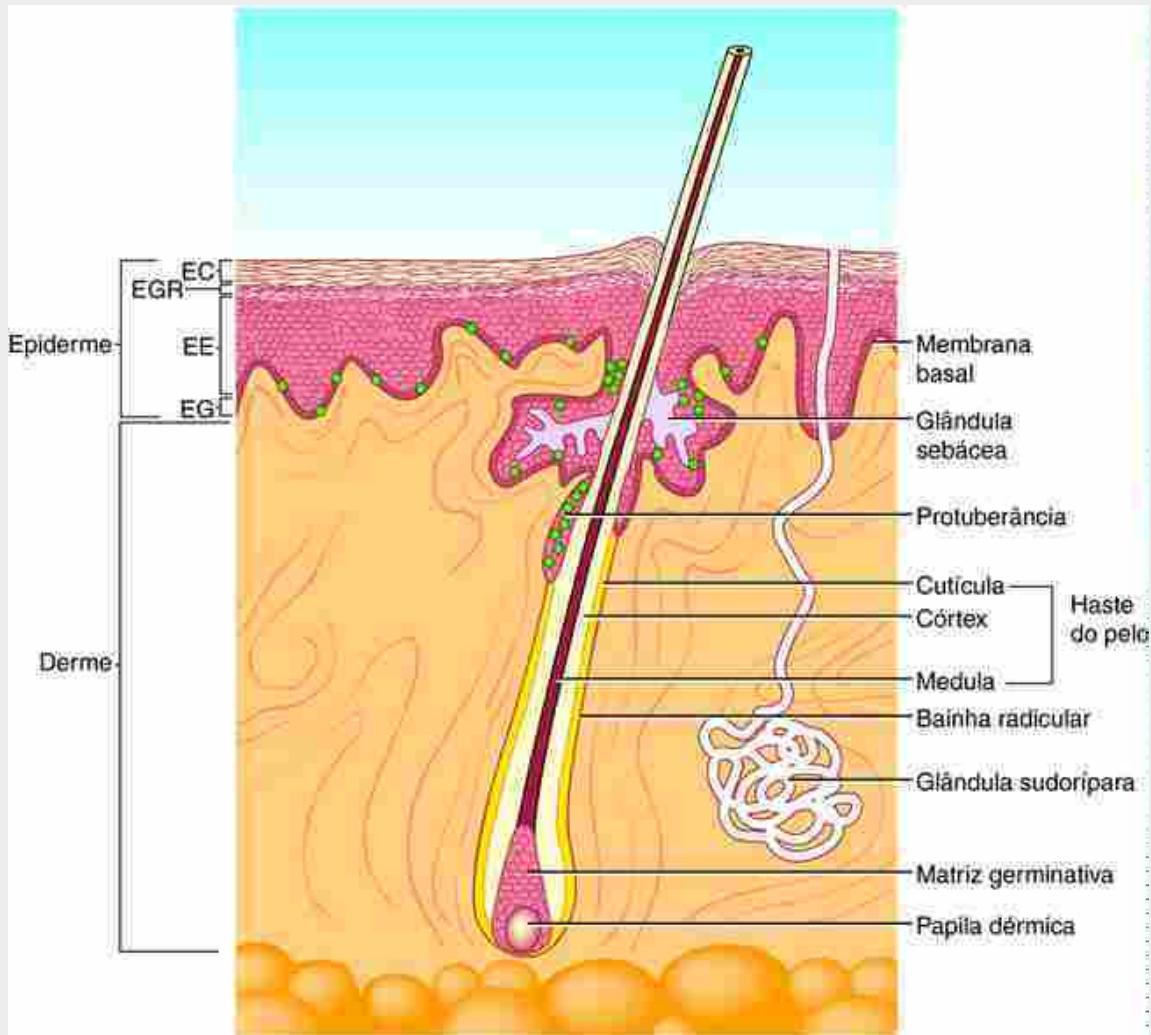


FIGURA 7-5 Estrutura de um folículo piloso ilustrando a protuberância e as camadas da haste do pelo. Células-tronco na protuberância, estrato germinativo (EG) e glândulas sebáceas são mostradas em verde. EC, estrato córneo; EGR, estrato granuloso; EE, estrato espinhoso.

- As células-tronco basais, que originam a pele interfolicular (*i.e.*, a pele entre os folículos pilosos).
- O bulbo, que origina o folículo piloso, mas também pode originar a epiderme interfolicular e as glândulas sebáceas, após ferimento grave. Portanto, não é necessário um enxerto de pele após lesão tecidual (*p. ex.*, queimaduras) se os folículos pilosos permanecerem intactos.
- As células da região basal da glândula sebácea, que geram os sebócitos.

Essas três populações de células-tronco são caracterizadas pela expressão de p63 (um fator de transcrição, também chamado de proteína tumoral semelhante a p73), E-caderina, e queratinas krt5 e krt14. Embora a diferença entre as três populações de células-tronco difira em termos de suas exigências para hedgehog (Hh) e sinalização Wnt, em todos os casos a diferenciação de células-tronco requer a ativação da sinalização Notch. Isso é ilustrado para a pele na [Figura 7-4](#), que mostra que a sinalização Notch promove o início da diferenciação por meio da indução de p21 (um inibidor do ciclo celular) e da expressão de krt1/10, enquanto inibe a expressão de componentes de células-tronco e de reguladores, como krt15/14 e p63. A sinalização Notch também inibe a sinalização Wnt e Hh, bem como a expressão de marcadores de diferenciação terminal (*p. ex.*, loricrina). Além disso, uma nova população de células multipotentes, conhecidas como células precursoras derivadas da pele (SKP), foi identificada. Os derivados *in vitro* incluem tanto linhagens epidérmicas quanto mesenquimais, como células neuronais, células gliais, adipócitos, células musculares lisas e condrocitos. Acredita-se que as células SKP derivem de células da crista neural (assim como as células-tronco adultas da crista neural no intestino, [Caps. 4 e 14](#)); sua população celular é mais alta no feto e declina após o nascimento.

Trabalhos recentes têm se concentrado na indução de células-tronco pluripotentes a partir de células somáticas. Tem sido demonstrado que os fibroblastos dérmicos humanos e queratinócitos podem ser reprogramados de modo a serem pluripotentes (*i.e.*, capazes de originar diferentes tipos celulares), após a adição de uma combinação de fatores (*p. ex.*, Oct4, Sox2, nanog, Lin28). Tais trabalhos fornecem estratégias adicionais para a medicina

regenerativa ([Cap. 5](#), em “Células IPS”).

Caso Clínico

Dermatopatias hereditárias

A integridade estrutural da epiderme é crítica para a sua função e é alcançada, em parte, pela montagem de redes de queratinas celulares específicas e de proteínas desmossomais que proporcionam aos epitélios resistência a trações. Portanto, **síndromes de fragilidade da pele** podem ser causadas por mutações em proteínas de envelope, transglutaminases, desmossomas, queratinas, conexinas e proteases, bem como por anomalias no metabolismo dos lipídios. Por exemplo, mutações em várias **QUERATINAS** podem resultar em **epidermólise bolhosa simples** ou **hiperqueratose epidermolítica**. Estas síndromes se manifestam pela formação de bolhas ou pela separação da epiderme no nível em que o gene mutado desempenha um papel crucial na adesão celular ([Fig. 7-6A,B](#)). Ambas as síndromes apresentam risco de vida no período perinatal devido ao risco de infecção.



FIGURA 7-6 Síndromes de fragilidade da pele. *A*, Mutação no gene PLACOFILINA, que codifica uma proteína desmossómica. *B*, Eletromicrografia de transmissão. Mutação em KRT14, resultando em epidermólise bolhosa simples. *Xs*, áreas de citólise dentro do estrato germinativo; *asteriscos*, fibras de queratina amontoadas.

Vários distúrbios hereditários resultam em queratinização excessiva da pele ou **ictiose**. Por exemplo, as crianças que sofrem de **ictiose lamelar** têm uma pele que não pode ser eliminada (descamada) de forma adequada e descama em flocos, por vezes, ao longo de todo o corpo. Esses bebês têm defeitos nos mecanismos que empacotam as fibras de queratina e que regulam a formação dos grânulos lamelares nas células do estrato granuloso. Como consequência, os queratinócitos não amadurecem de forma adequada e não podem ser descartados a partir da superfície do estrato córneo. Devido ao excesso de pele, esses bebês podem nascer como bebês colódio (ou seja, envoltos em uma fina película brilhante). Crianças afetadas por essas doenças têm defeitos de permeabilidade e requerem cuidados especiais, mas geralmente são viáveis. No entanto, os **fetos com ictiose lamelar tipo 1, ou arlequim**, têm uma pele rígida, profundamente rachada e geralmente morrem logo após o nascimento.

Colágenos e outras proteínas de matriz são cruciais para as propriedades elásticas da derme; mutações nestas proteínas podem resultar em síndromes humanas que afetam não só a pele, mas outros tecidos, tais como tendões, ligamentos, articulações e tecidos conjuntivos dos vasos sanguíneos e intestinos. A deposição anormal de matriz pode resultar em hiperextensibilidade da pele, como na síndrome de Ehlers-Danlos (mutações dos COLÁGENOS tipo I e IV), o que também resulta em hipermobilitade articular e torna os vasos sanguíneos e do intestino suscetíveis à ruptura. Alternativamente, a deposição de matriz anormal pode limitar a flexibilidade, como na síndrome da pele rígida (mutações na fibrilina 1). Esta síndrome também está associada a contraturas articulares.

No adulto, os desequilíbrios na proliferação e na diferenciação podem resultar em doenças de pele. Por exemplo, os níveis excessivos da citocina pró-inflamatória fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) podem resultar em **psoríase** e outras doenças hiperproliferativas da pele. A **síndrome de Gorlin** (**síndrome de carcinoma basocelular nevoide**)

[SCBCN]) é uma desordem dominante autossômica que ocorre em cerca de 1:50.000 a 1:100.000. Os pacientes são acometidos por carcinomas basocelulares que começam a se formar no início da vida. Pacientes com SCBCN também têm maior suscetibilidade a outros carcinomas, como meningiomas, fibromas e rabdomiossarcomas.

Doenças não neoplásicas de derivados epidérmicos também caracterizam a SCBCN, incluindo **ceratocistos odontogênicos** (decorrentes da lámina dentária; [Cap. 17](#)) e **depressões disqueratósicas** patognomônicas das mãos e dos pés. A SCBCN é o resultado de mutações no PTCH, o receptor que reprime a sinalização de hedgehog, ou mutações de ativação de SMOOTHENED, o receptor de hedgehog. Assim, a síndrome resulta de um aumento da atividade de sinalização de hedgehog, o que aumenta a proliferação das células. Esses tumores têm as características moleculares e morfológicas dos folículos pilosos indiferenciados, refletindo o importante papel de Shh no crescimento e diferenciação de células pilosas ([Fig. 7-12](#)). Devido ao papel fundamental da família hedgehog durante a embriogênese, os defeitos de desenvolvimento e os defeitos de crescimento pós-natal também estão presentes nesta síndrome, incluindo anomalias esqueléticas faciais e dentárias, bem como defeitos de fechamento do tubo neural.

Defeitos da pele podem ser mosaicos dentro de uma área. Isso é demonstrado por defeitos da pele que se seguem às **linhas de Blaschko** (originalmente descritos em 1901 pelo dermatologista alemão Alfred Blaschko), que podem ocorrer em várias síndromes humanas, como a **displasia ectodérmica hipoidrótica** (veja adiante) e os carcinomas basocelulares. Esses defeitos ocorrem como padrões em forma de "M" ou "V" no abdome e nas costas, como linhas orientadas proximais ou distais ao longo dos membros, e como linhas curvadas anterior ou posteriormente ao longo da face ([Fig 7-7](#)). Essas linhas/manchas de pele malformada refletem uma origem comum resultante de um defeito no desenvolvimento de uma célula progenitora (p. ex., depois da inativação do X ou da mutação somática).

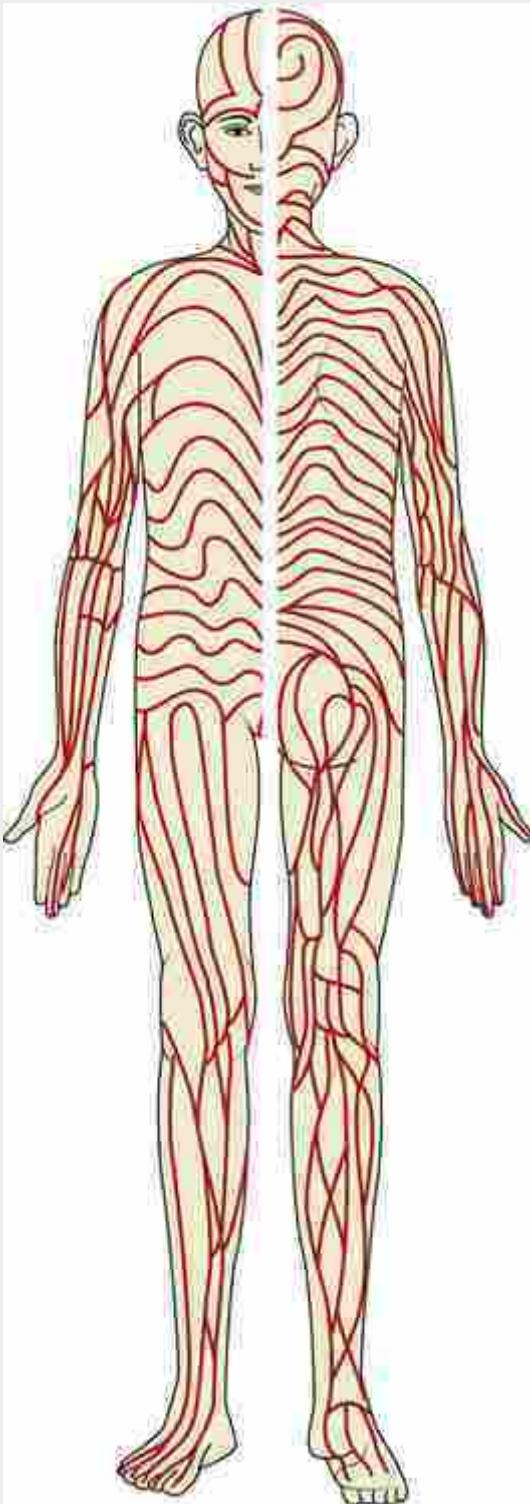


FIGURA 7-7 Linhas de Blaschko. Os defeitos de pele em mosaico geralmente apresentam este padrão de linhas. Visão frontal à esquerda e visão dorsal à direita.

Outros tipos de células epidérmicas

Além dos queratinócitos, a epiderme contém alguns tipos celulares menos abundantes, incluindo melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. Como descrito no [Capítulo 4](#), as células pigmentares, ou **melanócitos**, da pele se diferenciam a partir de células da crista neural que se desprendem do tubo neural, durante a 6^a semana, e migram para a epiderme em desenvolvimento. Embora estudos morfológicos e histoquímicos não detectem melanócitos na epiderme humana, até a 10^a ou 11^a semana, estudos que utilizaram anticorpos monoclonais dirigidos contra抗ígenos característicos dos precursores dos melanócitos identificaram essas células na epiderme, já na 6^a ou 7^a semana ([Fig. 7-8A](#)). Assim, as células da crista neural podem levar apenas alguns dias, ou 1 a 2 semanas, para migrar até a epiderme.

Os melanócitos também são encontrados na derme durante a vida fetal, mas a grande maioria deles, provavelmente, migra para a epiderme.

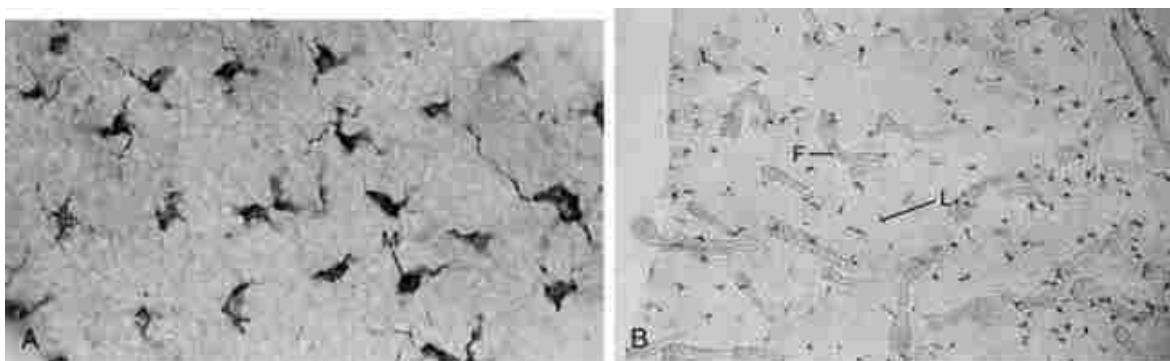


FIGURA 7-8 Células especializadas da epiderme. A, Melanócitos (M) surgem pela primeira vez na epiderme embrionária durante a 6^a e a 7^a semanas de desenvolvimento embrionário. B, Na 7^a semana, células de Langerhans (L) migram para a epiderme a partir da medula óssea. F, Folículo piloso.

Os melanócitos representam entre 5 e 10% das células da epiderme no adulto. Na 10^a semana, muitos melanócitos se associam ao desenvolvimento dos folículos pilosos (abordados posteriormente neste capítulo), onde atuam fornecendo pigmentos para os pelos.

Os melanócitos funcionam como um protetor solar, protegendo as camadas mais profundas da pele da radiação solar, que pode causar não apenas queimaduras solares, mas também, a longo prazo, câncer. Infelizmente, os próprios melanócitos também produzem tumores. A maioria deles permanece benigno, mas, às vezes, originam um tipo altamente maligno de câncer denominado **melanoma**.

As **células de Langerhans** são células imunes macrofágicas da pele, funcionando tanto na sensibilidade por contato (reações alérgicas da pele) quanto na vigilância imunológica contra os microrganismos invasores. Elas surgem na medula óssea e aparecem pela primeira vez na epiderme por volta da 7^a semana (Fig. 7-8B). As células de Langerhans continuam a migrar para a epiderme ao longo da vida.

As **células de Merkel** são mecanorreceptores de detecção de pressão que se encontram na base da epiderme e estão associados a terminações nervosas subjacentes na derme. Elas contêm queratina e formam desmossomas com os queratinócitos adjacentes. Elas surgem a partir de células epidérmicas e podem ser identificadas do 4^º ao 6^º mês.

O mesoderma forma a derme, exceto na face

A derme ou **córión** — camada de pele que está subjacente à epiderme e contém vasos sanguíneos, folículos pilosos, terminações nervosas, receptores sensoriais etc. — é um tecido de origem embrionária tripla. No tronco, a maior parte da derme se origina da camada somática do mesoderma da placa lateral, mas parte dele deriva das divisões do dermatomo dos somitôs (Cap. 8). Em contraste, na face e no pescoço, a derme é derivada de células da crista neural e, portanto, se origina a partir do ectoderma (Caps. 4 e 17).

Durante o 3^º mês, a camada externa da derme em desenvolvimento prolifera para formar **papilas dérmicas** em forma de crista que se projetam para dentro da epiderme sobrejacente (Fig. 7-9). Saliências da epiderme em direção à derme constituem as **cristas epidérmicas**. Esta região superficial da derme é denominada **camada papilar**, enquanto a espessa camada subjacente de tecido conjuntivo denso não modelado é denominada **camada reticular**. A derme é sustentada por um tecido conjuntivo adiposo subcutâneo denominado **hipoderme (subcórión)**. A derme se diferencia na sua forma definitiva no 2^º e 3^º trimestres da gravidez, embora seja fina no momento do nascimento e engrosse progressivamente ao longo da infância.

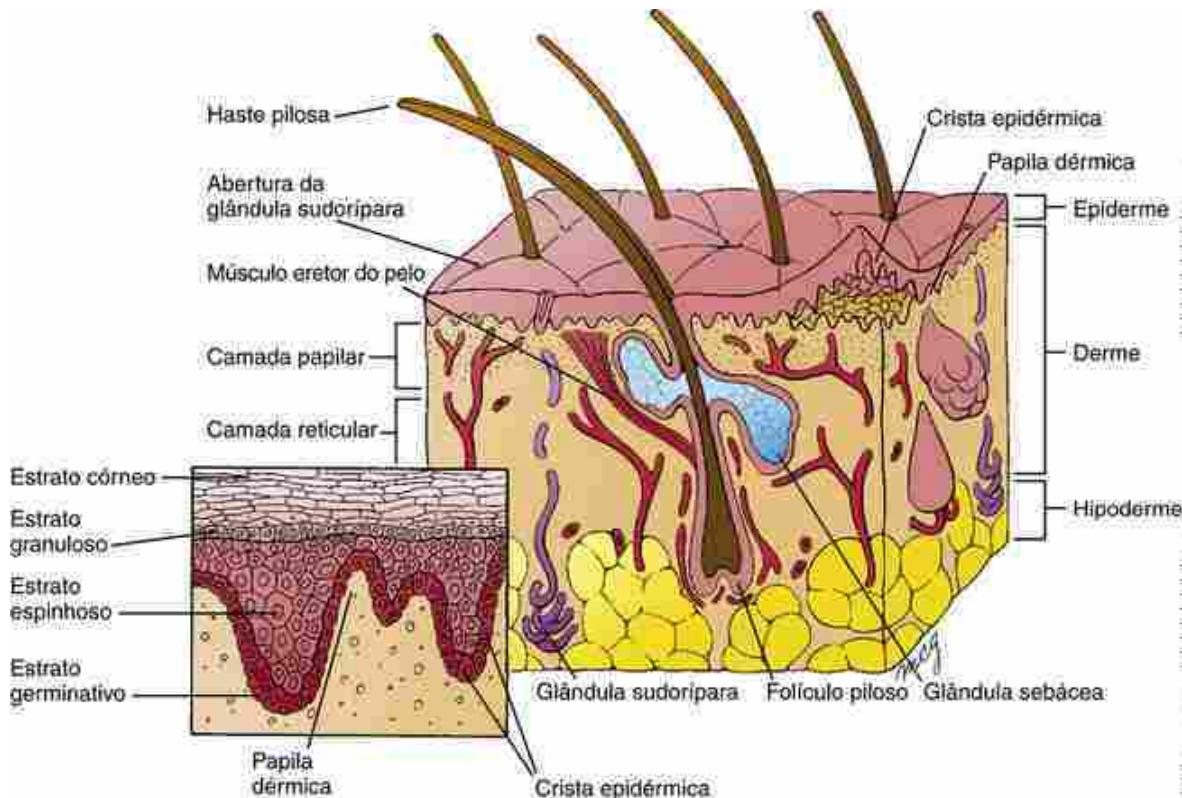


FIGURA 7-9 Organização definitiva da derme e da epiderme. O padrão de interdigitação de papilas dérmicas e cristas epidérmicas se desenvolve durante o 3º mês. As glândulas sebáceas se originam a partir do revestimento epidérmico dos folículos pilosos, surgindo cerca de 1 mês após a formação do brotamento piloso.

O padrão de cristas e sulcos externos produzidos na pele pelas papilas dérmicas varia de uma parte do corpo para outra. As superfícies palmares e plantares das mãos e dos pés carregam um padrão familiar de espirais e voltas, as pálpebras têm um padrão em forma de diamante e os sulcos na superfície superior do tronco se assemelham a uma teia de aranha. Os primeiros sulcos da pele a aparecer são as espirais nas superfícies palmares e plantares dos dedos, que se desenvolvem na 11^a e 12^a semanas. Todo o sistema de padrões de superfície é estabelecido no início do 5º mês de vida fetal. Em seguida, cada segmento de pele mantém o seu padrão característico mesmo quando é transplantado para uma parte diferente do corpo.

Os vasos sanguíneos têm origem a partir da 4^a semana, no interior do mesênquima subcutâneo, profundamente na derme em desenvolvimento. Estes se ramificam, aproximadamente no final da 6^a semana, constituindo uma única camada de vasos na derme, e na 8^a semana, dois planos paralelos de vasos. Ramos desses vasos seguem os nervos dentro da derme e entram na camada papilar associando-se com os folículos pilosos. Esses ramos podem desaparecer e reaparecer nos diferentes estágios de diferenciação do folículo piloso.

Estima-se que a pele do neonato contenha 20 vezes mais vasos sanguíneos do que precisa para suportar o seu próprio metabolismo. Esse excesso é necessário para a manutenção da termorregulação. Grande parte da vasculatura definitiva da pele se desenvolve nas primeiras semanas após o nascimento.

Desenvolvimento dos anexos da pele

Em muitas regiões do corpo, a pele origina estruturas especializadas que apresentam funções variadas. As **glândulas sebáceas** produzem o sebo, uma substância oleosa que protege a pele do atrito e a desidratação; os **pelos** e **glândulas sudoríparas** estão envolvidos na regulação de calor; os **dentes** e **glândulas salivares** (Cap. 17) são essenciais para a mastigação; e as **glândulas lacrimais** produzem lágrimas (Cap. 17). Nas mulheres, a glândula mamária fornece nutrição e representa uma fonte de imunidade para o bebê durante o aleitamento.

No Laboratório de Pesquisa

Anexos ectodérmicos se desenvolvem a partir de interações epitélio- mesênquima

O desenvolvimento dos anexos da pele depende de **interações epitélio-mesênquima** recíprocas. Todos se

caracterizam pelo desenvolvimento de um placoide ectodérmico, seguido por condensação de células mesenquimais subjacentes e, em seguida, pela invaginação do epitélio em direção à derme subjacente (Fig. 7-10A,B).

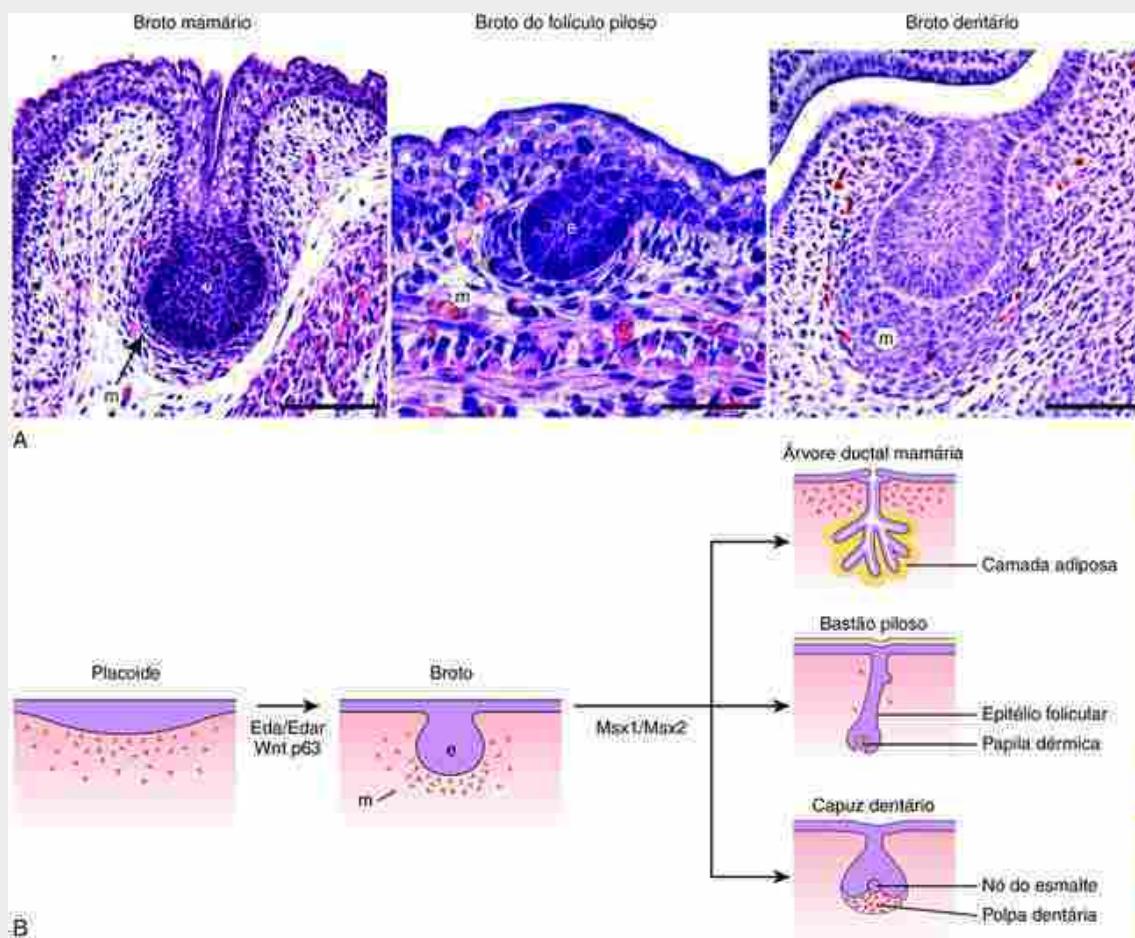


FIGURA 7-10 Desenvolvimento dos placoides ectodérmicos. A, Fotomicrografias. Estágio de broto do desenvolvimento das glândulas mamárias, folículos pilosos e dentes mostrando a invaginação do epitélio (e) e o mesênquima condensado (m). B, A diferenciação dos placoides epidérmicos inicialmente em brotos e depois em rudimentos de órgãos requer uma rede molecular semelhante.

Esses processos morfogenéticos, em diferentes anexos da pele, são controlados por muitas vias de sinalização comuns. A superexpressão do antagonista de Wnt, DKK1, interrompe o desenvolvimento, na fase do placoide, de todos os anexos de origem ectodérmica analisados (pelo, glândula mamária e dente). A perda da função de p63 em camundongos, ou da via de sinalização da ectodisplasina (Eda), afeta todos os anexos de origem ectodérmica (Quadros “Na Clínica” intitulado “Anomalias dos Anexos da Pele”; “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Regulação da Padronização e da Diferenciação Pilosa” e “Embriologia na Prática”). A expressão ectópica de Eda, utilizando um promotor de queratina, também pode induzir a formação ectópica de pelos, mamilos e dentes. Genes homeobox Msx1 e Msx2 são, ambos, necessários para o desenvolvimento dos placoides além da fase de broto (Fig. 7-10B).

Experiências de recombinação entre a derme e o ectoderma demonstraram que a derme determina a forma e o padrão do anexo ectodérmico. Portanto, a derme mamária induzirá ao desenvolvimento de glândulas mamárias ectópicas quando recombina com o ectoderma ventral das costas. O mesênquima da glândula salivar também induzirá o epitélio da glândula mamária a formar muitas ramificações características de glândulas salivares, ao invés de formar um tubo, embora o epitélio mamário mantenha as características de sua diferenciação inicial. Este papel da derme na padronização é também ilustrado no Capítulo 17, que discute como as células da crista neural determinam o padrão das penas de aves, assim como a taxa de crescimento delas (Fig. 17-19C).

Anomalias dos anexos da pele

Mutações no fator de transcrição semelhante à PROTEÍNA TUMORAL p73 (TP73L, também conhecido como p63) resultam em diversas síndromes que afetam múltiplas estruturas derivadas do ectoderma. Exemplos incluem: síndromes **ADULT (acro-dermato-ungueal-lacrimal-dente)**, **ectrodactilia**, **displasia ectodérmica e fenda labiopalatina**, ou **displasia ectodérmica, fenda labiopalatina e anquilobléfaro** (AEC, também chamada de síndrome de Hay-Wells). Anquilobléfaro significa fusão das pálpebras. A p63, expressa no estrato germinativo ([Fig. 7-4](#)), regula a proliferação e diferenciação celular. No camundongo mutante para p63, o desenvolvimento ectodérmico é normal até E13.5, momento em que a epiderme em desenvolvimento normalmente começa a estratificar. A estratificação epidérmica não ocorre no camundongo deficiente em p63, e no momento do nascimento, a epiderme, membros, e todos os anexos de origem ectodérmica não estão presentes.

Diferentes anexos ectodérmicos também podem ser afetados de forma diferencial nas síndromes. A mutação do gene homeobox DLX3 causa a **síndrome trico-dento-óssea**, afetando os pelos e dentes. Além disso, os ossos do crânio, das pessoas afetadas por essa síndrome, têm uma densidade anormalmente alta. Na **displasia unha-dente**, que resulta de mutações no gene homeobox Msx1, as unhas e dentes são displásicos. Contrariamente, na síndrome rara **hipotricose-linfedema-telangiectasia**, resultante de uma mutação no fator de transcrição SOX18, o pelo é o único anexo ectodérmico anormal.

Muitas doenças de pele ocorrem em seres humanos como resultado de mutações genéticas. Várias delas estão resumidas na [Tabela 7-1](#).

Tabela 7-1**Doenças de pele em humanos**

Síndrome	Fenótipo	Gene	Função
Displasia ectodérmica hipoidrótica	Cabelo esparsos, dentes ausentes ou malformados, hipoplasia das glândulas sudoríparas e outras glândulas	EDA, EDAR, EDARADD, IKK- Γ	Regular a sinalização de NF-kappa-B para promover a indução/estabilização dos placoídes durante a formação dos anexos ectodérmicos
ADULT, AEC, síndromes membro-mamárias	Defeitos de desenvolvimento no ectoderma e nos anexos ectodérmicos	P63	p63 é necessário para a proliferação e diferenciação de células ectodérmicas
Hipoplasia dérmica focal	Derme e dedos finos, defeitos oculares, ósseos e dentários	PORCN	Modifica proteínas Wnt no retículo endoplasmático, permitindo que sejam secretadas
Moniletrix	Cabelo distrófico, alopecia Cabelos frágeis com um aparência frisada	KRT81, 83 e 86 DSG4 (componente desmossômico)	KRT81, 83, 86, e DSG4 são proteínas estruturais necessárias para a força do pelo
Hipotricose	Perda prematura dos pelos do corpo e do couro cabeludo	LIPASE H (gera LPA) e P2RY5 (receptor LPA) CDSN e DSG4 (componentes desmossômicos) HAIRLESS	Expresso na bainha radicular interna e na raiz do pelo; sinalização celular visando à manutenção da estrutura do pelo Interage com as queratinas para manter a integridade do pelo Fator de transcrição necessário para o ciclo do pelo
Alopecia	Ausência de pelos em todas as partes do corpo	FOXN1	Fator de transcrição necessário para a diferenciação das células do pelo; na sua ausência, os cabelos não podem se projetar acima da superfície da pele
Hipoplasia odonto-ônico-dermal	Hipotricose, hipodontia, queratoderma e distrofia da unha	WNT10A	Falha na indução e diferenciação dos folículos pilosos
Síndrome trico-dento-óssea	Defeitos nos pelos, dentes e ossos	DLX3	Homeobox induzido pela sinalização Wnt; Dlx3 é necessário para a formação da haste pilosa e da bainha radicular interna; regula a expressão de Gata3 e Hoxc13
Síndrome ulna-mamária	Hipoplasia mamária, anomalias nos membros superiores	TBX3	Homeobox Tbx3 necessário para a formação do placoíde mamário
Condrodisplasia de Blomstrand	Deposição óssea anormal na cartilagem e anomalias nos mamilos	PTHR1	Regula a sinalização Bmp no desenvolvimento das glândulas mamárias, promovendo a formação dos mamilos e o crescimento do ducto
Epidermólise bolhosa simples	Fragilidade celular e formação de bolhas	KRT5 e KRT14	Proteínas estruturais necessárias para a integridade epitelial
Hiperqueratose epidermólítica	Fragilidade celular e formação de bolhas, seguido de hiperqueratinização	KRT1 ou KRT10	Proteínas estruturais necessárias para a integridade epitelial
Distrofia corneal epitelial de Meesmann	Fragilidade celular e formação de cistos na córnea	KRT3 e KRT12 (específica da córnea)	Proteínas estruturais necessárias para a integridade epitelial
Queratoderma palmoplantar	Espessamento da pele nas mãos e nos pés	KRT9 (queratina específica das palmas das mãos e solas dos pés)	Proteínas estruturais necessárias para a integridade epitelial

epidermolítica		pés)	
Ictiose Lamelar (p.ex., feto arlequim)	Pele com escamas espessadas	TRANSGLUTAMINASE 1, uma enzima de ligação cruzada (tipo I); ABCA2, um transportador lipídico de queratinócitos (tipo II)	Fibras de queratinas defeituosas e formação de grânulos lamelares
Síndrome Ehlers-Danlos	Pele frágil	COLÁGENOS TIPO I e IV	Proteínas estruturais necessárias para a integridade da derme
Síndrome da pele rígida	Pele espessada; imobilização/contratura das articulações	FIBRILINA 1	Proteínas estruturais e de sinalização; deposição anormal de elastina e colágenos

Desenvolvimento do pelo

O desenvolvimento inicial dos folículos pilosos ocorre ao final do 2º mês, nas sobrancelhas, pálpebras, lábio superior e queixo. Nas demais regiões do corpo, os folículos pilosos não se formam até o 4º mês de desenvolvimento embrionário. Os folículos pilosos, em sua maioria (senão todos), estão presentes no 5º mês, e acredita-se que não se formam novos folículos pilosos após o nascimento. Aproximadamente 5 milhões de folículos pilosos se desenvolvem em homens e mulheres, mas a distribuição dos diferentes tipos de pelo difere entre os sexos. Essas diferenças são causadas por distintas concentrações de hormônios esteroides sexuais circulantes.

O folículo piloso aparece inicialmente como uma pequena concentração de células ectodérmicas, denominada **germe do pelo**, na camada basal da epiderme primitiva com dupla camada ([Fig. 7-11A](#)). Os germes do pelo são induzidos pela derme subjacente. O germe do pelo recruta células dérmicas formando uma condensação celular, que promove a continuidade da diferenciação do germe ([Fig. 7-11B,G](#)). O germe do pelo prolifera para originar uma estrutura alongada em forma de bastão que se projeta em direção à derme ([Fig. 7-11C,G](#)). No interior da derme a extremidade do bastão piloso se expande, formando um **bulbo piloso**, e as células da derme logo abaixo da ponta do bulbo proliferam para formar uma pequena saliência denominada **papila dérmica** ([Fig. 7-11E](#)), que cresce para dentro da base dilatada do bulbo piloso ([Fig. 7-11F](#)).

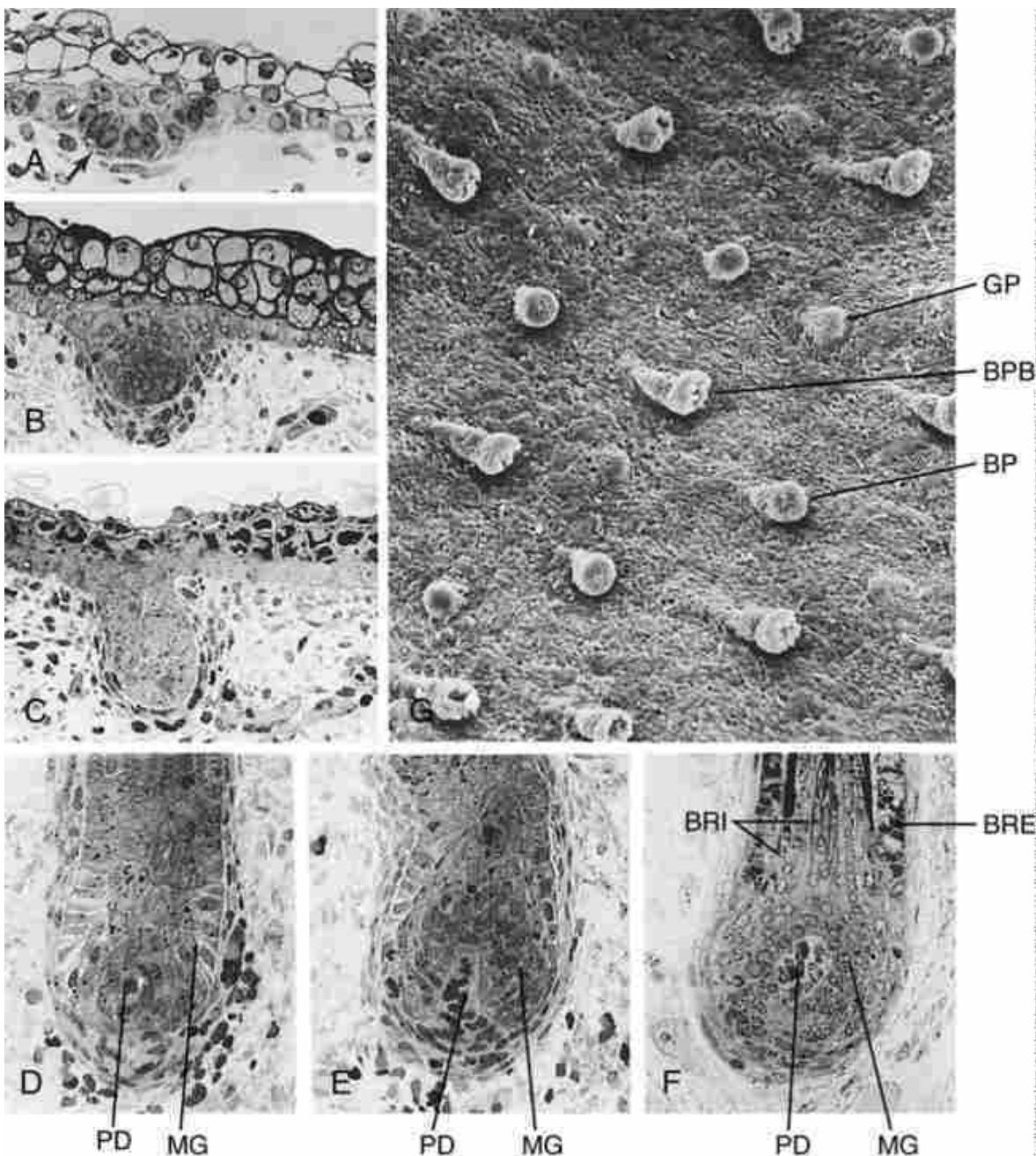


FIGURA 7-11 Desenvolvimento do folículo piloso. **A-F**, Fotomicrografias. **A**, Germe piloso aos 8 dias. **B**, Germe piloso alongando-se no 1º trimestre. **C**, Bastão piloso no 2º trimestre. **D-F**, Desenvolvimento do bulbo piloso a partir da fase de alongamento do bastão piloso. A papila dérmica (PD) no bulbo do folículo em desenvolvimento induz a matriz germinativa (MG). Em **F**, a haste do pelo em desenvolvimento pode ser vista no centro do folículo; as bainhas radiculares interna e externa (BRI e BRE) encontram-se em diferenciação. **G**, Eletromicrografia de varredura da região interna da epiderme em desenvolvimento mostrando os germes pilosos (GP), os bastões pilosos (BP) e os bastões pilosos bulbosos (BPB) crescendo em direção à derme (a derme foi removida da preparação para ilustrar a região profunda da epiderme).

A camada de ectoderma em proliferação sobreposta à papila dérmica, na base do bulbo piloso, é denominada **matriz germinativa** (Fig. 7-11D-F). A matriz germinativa é responsável pela produção da haste do pelo (Fig. 7-11F): a proliferação da matriz germinativa produz células que sofrem um processo especializado de queratinização sendo adicionadas à base da haste do pelo. Desta forma, a haste do pelo em crescimento é empurrada para fora através do canal folicular. Caso o pelo apresente cor, os queratinócitos em maturação incorporaram pigmentos produzidos pelos melanócitos do bulbo piloso. As células epidérmicas que revestem o canal folicular constituem as **bainhas radiculares interna e externa da epiderme** (Fig. 7-11F).

Com exceção das sobrancelhas e cílios, a bainha radicular dérmica do folículo associa-se a um grupo de células musculares lisas denominado músculo **eretor do pelo**, que atua na elevação do pelo (produzindo o que denominamos arrepios) (Fig. 7-9). As células-tronco do epitélio folicular, responsáveis pela regeneração periódica do folículo durante

a vida pós-natal, são encontradas próximo ao local de inserção do músculo eretor do pelo na **protuberância** ([Fig. 7-5](#); [Cap. 10](#)). O crescimento do pelo apresenta um ciclo de quatro fases: fase de crescimento (**anágena**), fase de regressão (**catágena**), fase de repouso (**telógena**) e fase de queda (**exógena**).

A primeira geração de pelos é formada durante a 12^a semana, quando se apresentam finos e não pigmentados, sendo denominados, coletivamente, **lanugo**. Em sua maioria caem antes mesmo do nascimento, quando então são substituídos por pelos mais grossos durante o período perinatal. Após o nascimento são caracterizados dois tipos de pelo: o **velo** — pelos não pigmentados que não penetram profundamente na derme — e os **pelos terminais** — pelos pigmentados que penetram nos tecidos adiposos da derme. Na puberdade, o aumento dos níveis de hormônios sexuais causa a substituição dos pelos finos do corpo por pelos mais grossos em algumas partes do corpo: axila e púbis de ambos os性os, rosto e (em algumas raças) o peito e as costas dos homens.

No Laboratório de Pesquisa

Regulação da padronização e da diferenciação pilosa

O estabelecimento do placoide piloso depende da sinalização Eda/Edar e Wnt ([Fig. 7-10](#)), e a expressão ectópica de Eda ou componentes Wnt (p. ex., β -catenina, Lef-1) induz a formação de placoides ectópicos. Por outro lado, o bloqueio da sinalização Edar/Wnt impede a formação do placoide. Em seres humanos, as mutações em EDA e nas vias de sinalização WNT estão associadas a defeitos dos pelos (Quadro “Na Clínica” intitulado “Anomalias dos Pelos”). A sinalização Eda é ativada no ectoderma, enquanto a sinalização de Wnt é ativada, em primeiro lugar, no placoide ectodérmico e, em seguida, no mesênquima subjacente ([Fig. 7-12B, C](#)). O espaçamento dos folículos pilosos é controlado pela interação de fatores que promovem e antagonizam o desenvolvimento do placoide. Eda/Wnts, como vários outros fatores secretados, incluindo FGF, folistatina, TGF β 2 e antagonistas de BMP, promovem o desenvolvimento do placoide. Em contraste, a via de sinalização BMP/TGF β 1 inibe o desenvolvimento do placoide. Altos níveis localizados de indutores dos placoides *versus* os antagonistas também são responsáveis pelo padrão de espaçamento correto dos pelos. Por exemplo, os bulbos pilosos expressam tanto os antagonistas BMPs quanto os BMP. A expressão do antagonista Bmp inibe a sinalização Bmp dentro do placoide e permite o prosseguimento do desenvolvimento dele. O desenvolvimento do placoide no epitélio circundante é inibido à medida que as moléculas de Bmp se difundem para mais longe do que os antagonistas extracelulares, criando regiões de alta e baixa atividade de Bmp. Assim, um padrão organizado de estruturas é formado. A orientação dos folículos pilosos é controlada pela sinalização Wnt a partir da **via de polaridade celular planar** ([Cap. 5](#)). Em camundongos deficientes em frizzled-6 (um receptor Wnt), os pelos são randomizados e apresentam orientação defeituosa.

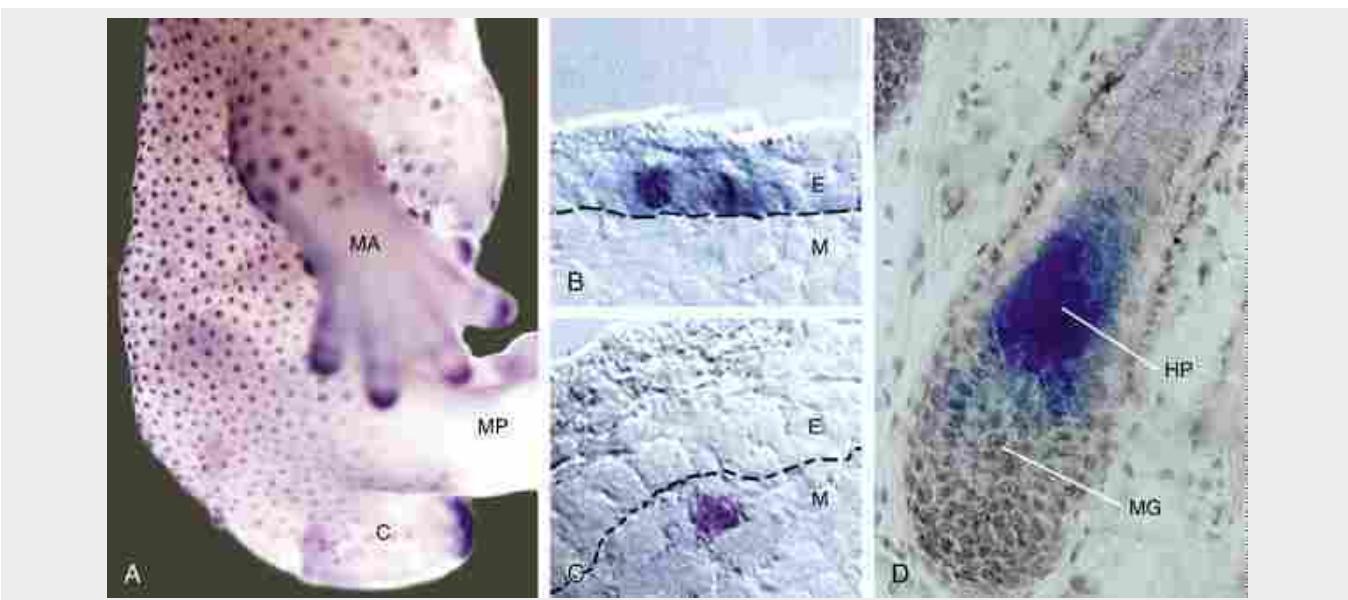


FIGURA 7-12 As vias de sinalização Shh e Wnt estão ativas nos estágios mais precoces do desenvolvimento e da morfogênese do folículo piloso. *A*, Expressão de Ptc1, indicativo da ativação da sinalização Shh, nos placoides pilosos (pontos roxos). MA, membro anterior; MP, membro posterior; C, cauda. *B-D*, Regiões de sinalização Wnt/ β -catenina (roxo): inicialmente nos placoides pilosos da camada ectodérmica (E), *B*; subsequentemente no mesênquima subjacente (M) na matriz germinativa em formação, *C*; e depois na haste pilosa em diferenciação (HP), próximo à matriz germinativa (MG), *D*. A linha pontilhada em *B*, *C*, marca o limite entre o ectoderma e o mesênquima.

Após o estabelecimento do placoide, o ectoderma se invagina formando o folículo piloso primitivo. Este processo é controlado por Shh, que é expresso no placoide piloso e tem efeito mitogênico (Fig. 7-12A). Shh também sinaliza para as papilas dérmicas subjacentes. Ratos mutantes para Shh têm o desenvolvimento do pelo interrompido no início do estágio do bastão. O papel de Shh durante o desenvolvimento do pelo é semelhante ao que ocorre no desenvolvimento dos dentes: em animais deficientes para Shh, o desenvolvimento dos dentes é interrompido na fase de broto em consequência da diminuição de proliferação celular (Cap. 17).

Um pelo individual consiste na haste pilosa e nas bainhas externa (ou exterior) e interna (ou interior) da raiz (Figs. 7-5 e 7-11). A haste do pelo consiste em três camadas concêntricas: cutícula, córtex e medula (de fora para dentro). Cada camada do pelo tem uma ultraestrutura única e expressa queratinas distintas que, por sua vez, são reguladas pela expressão diferencial de fatores de crescimento e fatores de transcrição, como Wnts, Msx2, Foxn1 e Hoxc13, dentro de cada uma das camadas. A Figura 7-12D mostra a ativação diferencial da via canônica Wnt dentro da haste do pelo em diferenciação. Defeitos em qualquer camada resultam em moniletrix, uma condição caracterizada por pelos frágeis e/ou frisos (Quadro “Na Clínica” intitulado “Anomalias dos Pelos”). As células progenitoras, ou células-tronco, surgem no bulbo piloso (Fig. 7-5; Cap. 10 quando trata da origem das células-tronco do sistema nervoso periférico). As células do bulbo migram para baixo para dentro da matriz do folículo piloso.

Na Clínica

Anomalias dos pelos

As anomalias dos pelos variam de **hipertricose** (excesso de pelos) a **atriquia** (ausência congênita de pelos), incluindo defeitos em sua estrutura morfológica. Além disso, anomalias dos pelos podem originar de: (1) defeitos do ciclo do pelo, a causa mais comum de anomalias de pelo em seres humanos; (2) defeitos imunológicos nos quais proteínas da pele e dos pelos se tornam alvos do sistema imunitário; e (3) alterações das glândulas sebáceas. Em mulheres, os pelos do véu podem transformar-se, na puberdade, em pelos terminais, por exemplo no lábio superior e na parte inferior da perna. Esta condição é denominada **hirsutismo**.

Defeitos no desenvolvimento dos pelos podem abranger qualquer fase de diferenciação pilosa. Assim como ocorre na pele, as mutações podem ocorrer em vias de sinalização, proteases, junções gap e proteínas estruturais, como desmossomas e queratinas. Na displasia ectodérmica hipoidrótica (“Embriologia na Prática”), que afeta a via de sinalização EDA/EDAR, não ocorre o primeiro estágio de desenvolvimento do pelo (formação do placoide piloso) (Fig. 7-10B). Em contraste, as mutações em genes que codificam proteínas estruturais, como

PLACOFILINA-1 e DEMOPLAQUINA-1 (proteínas desmossômicas), e QUERATINAS, afetam a diferenciação e a morfogênese do pelo. Por exemplo, as mutações nas QUERATINAS KRTB6 e KRTB1 resultam em molinatrix, na qual o pelo é “frisado” e frágil, e, portanto, cai com facilidade.

Considerando que o pelo apresenta fases de regeneração cíclica (*i.e.*, anágena, catágena, telógena e exógena, como discutido anteriormente neste capítulo), uma variedade de fatores de estresse ou doenças (p. ex., quimioterapia, gravidez) pode mudar o ciclo do pelo para a fase telógena, resultando em perda excessiva de cabelos — denominada **eflúvio telógeno** — vários meses mais tarde. Normalmente, durante a fase catágena, a apoptose das células da matriz do bulbo e da bainha externa da raiz impedem ainda mais o crescimento do pelo, mas persiste um cordão epitelial entre o bulbo e as papilas dérmicas. Este contato é necessário para que a papila dérmica induza o crescimento do pelo no bulbo, onde estão localizadas as células progenitoras do pelo. Caso o cordão epitelial seja destruído — por exemplo, como consequência de mutações no correpressor dedos de zinco HAIRLESS ou no RECEPTOR DA VITAMINA D —, as papilas dérmicas ficam retidas dentro da derme e os pelos não voltarão a crescer.

Tumores também podem surgir dentro do pelo. A sinalização Wnt promove o desenvolvimento do placoide piloso e a diferenciação das células da haste pilosa também em desenvolvimento (Fig. 17-12B,D). A ativação constitutiva desta via (p. ex., mutações na β-catenina) resulta em **pilomatricoma**, um tumor benigno das células da matriz do folículo piloso.

Desenvolvimento das glândulas sebáceas e sudoríparas

Vários tipos de glândulas são produzidas por invaginação da epiderme. As glândulas sebáceas e sudoríparas estão distribuídas por todo o corpo. As glândulas mamárias, produtoras de leite, representam um tipo especializado de glândula epidérmica.

As **glândulas sebáceas** produzem o **sebo** oleoso que lubrifica a pele e o pelo. Na maior parte do corpo, estas glândulas se originam como divertículos das hastes dos folículos pilosos, brotando do lado da bainha radicular, cerca de 4 semanas após o germe piloso começar a se alongar (Figs. 7-5 e 7-9). Em algumas regiões da pele sem pelos — como a glande do pênis dos homens e os pequenos lábios das mulheres —, as glândulas sebáceas se desenvolvem como invaginações independentes da epiderme. O broto cresce em direção à derme e se ramifica para formar um pequeno sistema de ductos que terminam em ácinos secretores expandidos (alvéolos). Os ácinos secretam por meio de um mecanismo **holócrino**, isto é, as próprias células secretoras repletas de vesículas de produtos de secreção se rompem e são eliminadas. A camada basal da epiderme acinar é composta por células-tronco proliferativas que renovam constantemente o suprimento de células secretoras em maturação (Fig. 7-5).

As glândulas sebáceas maduras estão presentes na face a partir do 6º mês do desenvolvimento embrionário. Glândulas sebáceas são muito ativas no feto, e o sebo que elas produzem se associa a células epidérmicas descamadas e remanescentes da periderme para formar uma camada protetora à prova d’água para o feto, denominada **vérinx caseoso**. Após o nascimento, as glândulas sebáceas se tornam relativamente inativas, mas na puberdade iniciam novamente a secreção de grandes quantidades de sebo em resposta à elevação dos esteroides sexuais circulantes.

As **glândulas sudoríparas apócrinas** são glândulas altamente enoveladas, não ramificadas e que se desenvolvem associadas aos folículos pilosos. Formam-se inicialmente na maior parte do corpo, mas nos meses posteriores ao desenvolvimento fetal essas glândulas desaparecem, com exceção das axilas, monte pubiano, prepúcio, escroto e pequenos lábios. Iniciam sua atividade secretora na puberdade, sintetizando uma mistura complexa de substâncias que são modificadas pela atividade bacteriana em compostos odoríferos. Estes compostos podem atuar principalmente na comunicação social e sexual. As células secretoras que revestem a metade mais profunda da glândula secretam seus produtos por um mecanismo **apócrino**: pequenas porções de citoplasma contendo vesículas secretoras se destacam e são liberadas no lúmen da glândula.

As **glândulas sudoríparas écrinas** surgem por volta da 20ª semana, como brotos do estrato germinativo que crescem para dentro da derme subjacente formando glândulas não ramificadas e altamente enoveladas (Figs. 7-5 e 7-13). As células centrais degeneram para formar o lúmen da glândula, e as células periféricas se diferenciam em uma camada interna de células secretoras e uma camada externa de **células mioepiteliais**, que são inervadas por fibras simpáticas e que se contraem visando à expulsão do suor pela glândula (Fig. 7-13). As células secretoras eliminam sua secreção diretamente através da membrana plasmática (secreção **écrina**). As glândulas sudoríparas se formam sobre toda a superfície do corpo, exceto em algumas áreas, como os mamilos. Glândulas sudoríparas grandes se desenvolvem como brotos da bainha radicular dos folículos pilosos, superficialmente aos brotos das glândulas sebáceas, nas axilas e aréolas.

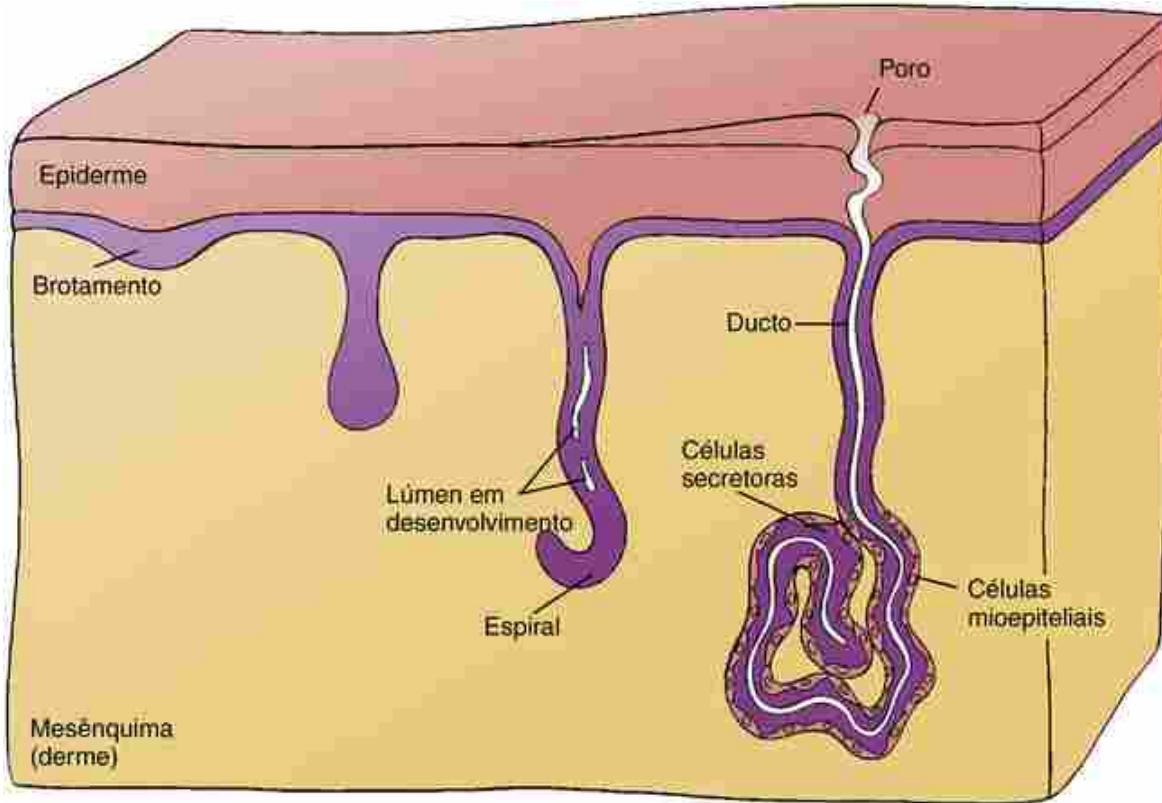


FIGURA 7-13 Desenvolvimento das glândulas sudoríparas. As glândulas sudoríparas surgem inicialmente como invaginações alongadas da epiderme por volta da 20^a semana. As células mais externas à invaginação diferenciam-se em células musculares lisas, enquanto as células localizadas mais internamente originam as células secretoras da glândula.

As glândulas sudoríparas não conseguem se desenvolver na **displasia ectodérmica hipoidrótica**, distúrbio genético associado ao cromossoma X ("Embriologia na Prática"). Crianças com este distúrbio são vulneráveis a **hiperpirexia** potencialmente letal (febre extremamente alta) ou **hipertermia** (superaquecimento).

Desenvolvimento das glândulas mamárias

Na 4^a semana, um par de espessamentos epidérmicos denominado **cristas mamárias** se desenvolve ao longo de cada lado do corpo a partir da área da futura axila até a futura região inguinal e da coxa medial (Fig. 7-14). Nos seres humanos, estas cristas normalmente desaparecem, exceto no local dos seios. Na 7^a semana, o remanescente da crista mamária produz um **broto primário** bem definido da glândula mamária (Fig. 7-14A,B). O broto cresce em direção à derme subjacente e no panículo adiposo induzirá a ramificação ductal. Na 10^a semana, o broto primário inicia o processo de ramificação, podendo diversos **brotos secundários** ser observados na 12^a semana (Fig. 7-14C). Os brotos se alongam e ramificam durante toda a gestação, e os dutos resultantes se canalizam (Fig. 7-14D). Ao nascimento, as glândulas mamárias consistem em 15 a 25 **ductos lactíferos**, que se abrem em uma pequena depressão superficial denominada **fosseta mamária** (Fig. 7-14D,E). Algumas semanas após o nascimento, em geral a proliferação do mesoderma subjacente converte esta fosseta em um mamillo normal, embora ocasionalmente o mamillo permaneça deprimido (**mamillo invertido**). A pele ao redor do mamillo também prolifera para formar a aréola.

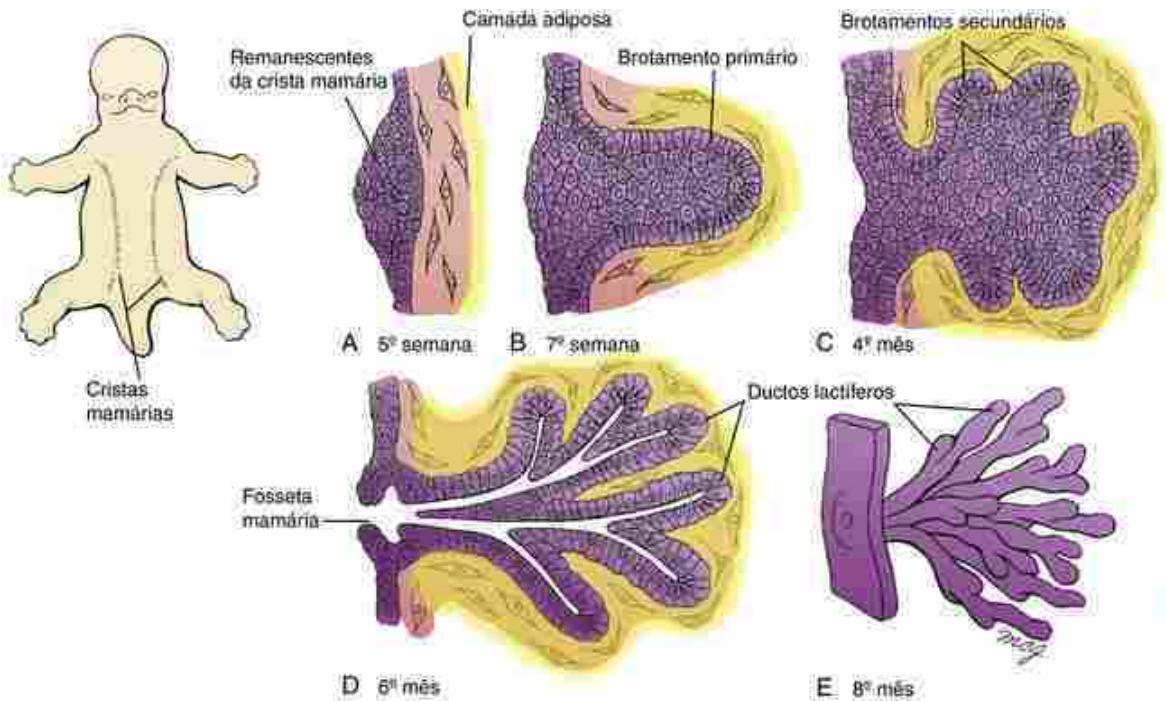


FIGURA 7-14 Desenvolvimento das glândulas mamárias. As cristas mamárias aparecem inicialmente na 4^a semana como linhas espessadas da epiderme que se estendem do tórax para a coxa medial. A, B, Na região das futuras glândulas mamárias, o ectoderma das cristas mamárias origina brotamentos mamários primários que crescem em direção à camada adiposa. C, D, Brotamentos secundários se formam durante o 3^º mês e se canalizam para originar os ductos lactíferos durante os últimos 3 meses da vida fetal. E, Organização dos ductos lactíferos ao redor do mamilo em desenvolvimento no 8^º mês.

É possível que um ou mais mamilos supranumerários (**politelia**) ou seios supranumerários se formem (**polimastia**) ao longo da linha das cristas mamárias. A localização mais comum é logo abaixo da mama normal. Os mamilos supranumerários são quase tão comuns em homens quanto em mulheres. Mais raramente, um mamilo ectópico se forma fora da linha da crista mamária como consequência da migração de tecido mamário. As mamas supranumerárias são muitas vezes descobertas na puberdade ou durante a gravidez, quando elas aumentam de tamanho ou até mesmo entram em lactação em resposta aos estímulos hormonais.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento e diferenciação da glândula mamária

Como acontece com os folículos pilosos, o desenvolvimento da glândula mamária é controlado pela via de sinalização Wnt. A mutação de Lef1, um fator de transcrição envolvido na via de sinalização Wnt/β-catenina, ou a superexpressão do inibidor de Wnt, DKK1, resulta no desenvolvimento anormal dos brotos. O fator de transcrição T-box Tbx3 regula a expressão de Wnt10b e Lef1. Portanto, camundongos deficientes para Tbx3 não apresentam desenvolvimento das glândulas mamárias. Mutações de Tbx3, em humanos, resultam na **síndrome ulnar-mamária**, caracterizada pelo desenvolvimento anormal dos membros, glândulas mamárias e outras glândulas apocrinas.

Outros fatores essenciais para o desenvolvimento da glândula mamária incluem Bmps e Pthrp (peptídeo relacionado ao hormônio paratireóideo), que controlam a diferenciação do ectoderma e a formação do sistema de ductos. O Pthrp é expresso no ectoderma, a partir da fase do placoide, e sinaliza para o mesênquima subjacente, que expressa o receptor de Pthrp (r1). A sinalização Pthrp aumenta a expressão do receptor de Bmp e, consequentemente, a sinalização Bmp, que é necessária para a especificação da glândula mamária (ver mais adiante). Camundongos deficientes para Pthrp e para o receptor de Pthrp (r1) apresentam a formação dos brotos mamários; no entanto, o tubo ductal e os mamilos não se desenvolvem. A superexpressão de Pthrp também pode induzir a formação de mamilo no ectoderma ventral. Em seres humanos, mutações com perda de função no RECEPTOR PTHRP (R1) causam **condrodisplasia de Blomstrand**. Pacientes com essa síndrome apresentam defeitos ósseos endocondrais e seus seios e mamilos não se desenvolvem. Finalmente, a morfogênese da ramificação é regulada pela sinalização Fgf, assim como para outros órgãos de ramificação, como os pulmões, rins e glândulas salivares (**Caps. 11, 15 e 17**).

Uma diferença crucial entre o desenvolvimento da glândula mamária e a do folículo piloso é a exigência de

níveis mais elevados de sinalização BMP e repressão da sinalização Shh (Fig. 7-12A). Quando a sinalização Shh é inativada no ectoderma ventral, os folículos pilosos são transformados em glândula mamária, ao passo que quando a sinalização de Bmp é reduzida na glândula mamária em desenvolvimento, o mamilo é transformado em folículo piloso.

Desenvolvimento das unhas

Os primórdios das unhas se desenvolvem como espessamentos epidérmicos próximos à extremidade distal do lado dorsal dos dedos (Fig. 7-15A,D). Esses espessamentos começam a aparecer por volta da 10^a semana nos dedos das mãos e da 14^a semana nos dedos dos pés. Quase imediatamente, os primórdios das unhas migram proximalmente sobre a superfície dorsal dos dedos. Entre a 12^a e a 14^a semana, o primórdio da unha forma uma depressão rasa denominada **campo ungueal**, cercada lateral e proximalmente por **pregas ungueais** ectodérmicas (Fig. 7-15B,E). O estrato germinativo da prega ungueal proximal prolifera para formar a **matriz ungueal**, que produz a **placa ungueal** córnea (Fig. 7-15C,F). De forma análoga a um pelo, a placa ungueal é constituída de queratinócitos achatados. Uma fina camada da epiderme denominada **eponiquio** reveste inicialmente a placa ungueal, mas esta camada normalmente degenera, exceto na base da unha.

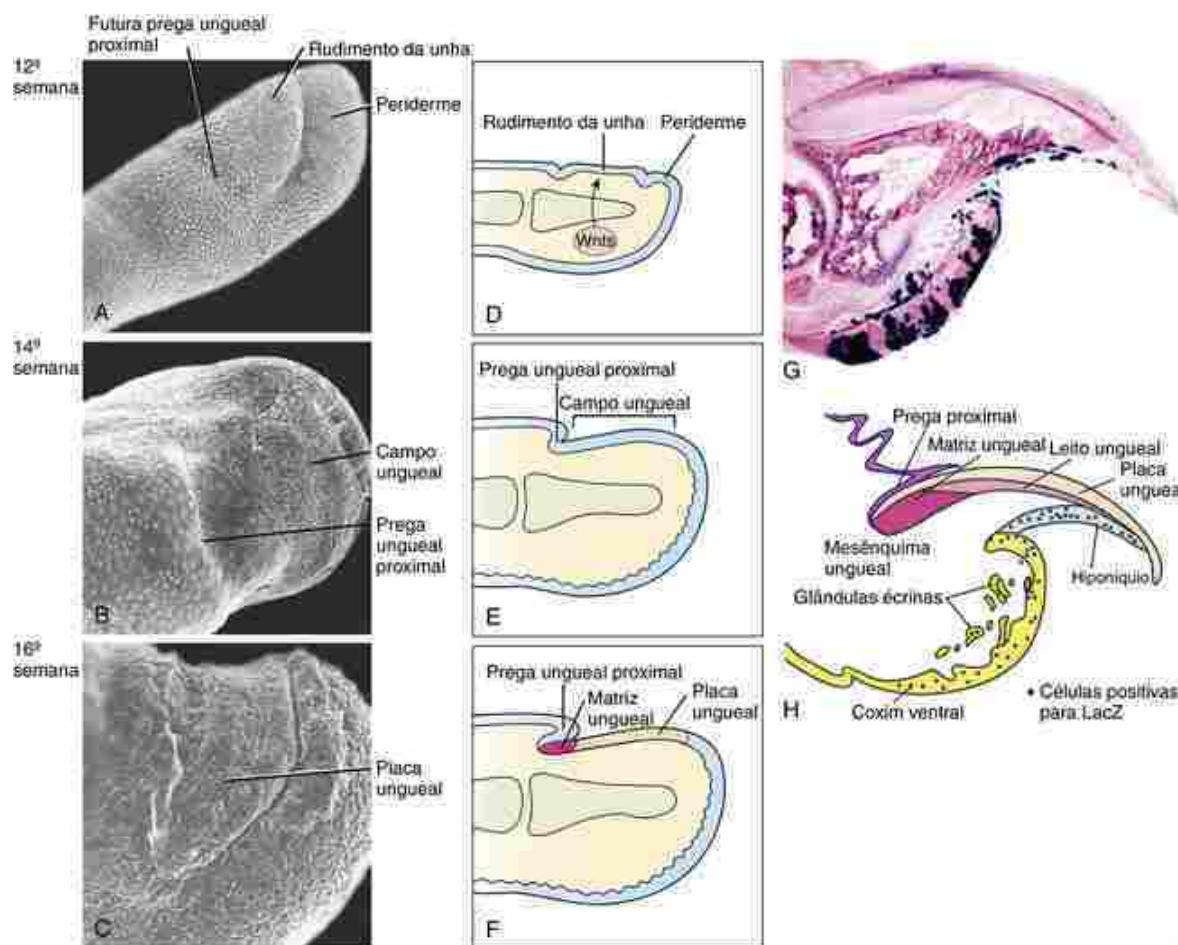


FIGURA 7-15 Desenvolvimento das unhas. A-F, Eletromicrografias de varredura e diagramas mostrando o desenvolvimento das unhas entre a 12^a e a 16^a semana. A, D, Formação do rudimento da unha. B, E, A margem da prega ungueal proximal está claramente definida na 14^a semana. C, F, A placa ungueal encontra-se aparente na 16^a semana. G, H, O limite entre os derivados do ectoderma ventral e dorsal, no embrião de camundongo, é mostrado na fotomicrografia a partir da presença de células que expressam LacZ (azul-escuro) ao longo da superfície ventral. O desenho ilustra uma representação morfológica observada na fotomicrografia.

Estudos que mapeiam o destino do ectoderma ventral têm mostrado que a fronteira entre derivados ectodérmicos ventrais e dorsais se encontra na região distal do **hiponíquio** (camada sob a extremidade livre da unha) (Fig. 7-15G,H). As unhas em crescimento alcançam as pontas dos dedos das mãos por volta do 8º mês, e as pontas dos dedos dos pés ao nascimento. O grau de crescimento das unhas pode ser utilizado como indicador de prematuridade. A sinalização

de Wnt é necessária para o desenvolvimento das unhas (Fig. 7-15D). Em seres humanos, a mutação em um novo ligante de WNT, R-espondina-4, ou o RECEPTOR FRIZZLED-6 provoca defeitos na unha, incluindo **anoníquia** (**ausência de unhas**).

Embriologia na Prática

Profundidade da pele

Você é um neurologista chamado para avaliar um menino de 1 mês de idade, que foi internado no hospital infantil com dificuldades de alimentação e letargia. A razão para a consulta é hipotonía (uma redução neurológica do tônus muscular), com suspeita de anomalia do SNC. Foi agendada uma ressonância magnética do cérebro da criança, sob anestesia, a ser realizada ainda naquele dia. Você chega ao quarto e, assim que encontra o paciente e sua mãe, suspeita do diagnóstico.

A mãe da criança relata que, após uma gravidez e parto normais, o menino desenvolveu problemas de alimentação. Inicialmente o pediatra introduziu na dieta da criança o leite em pó, visto a produção insuficiente de leite materno. Mesmo com a alimentação por meio das mamadeiras, é frequente a criança engasgar com o alimento e apresentar dificuldades de respiração pelo nariz. Com a piora recente do quadro clínico, que revela baixo ganho de peso e redução no número de fraldas molhadas por dia, o paciente precisou ser internado. O menino frequentemente apresenta-se quente, mas sem febre, e sua mãe relata não perceber qualquer transpiração com a alimentação.

Quando questionada sobre sua saúde, a mãe afirma que se sente bem, mas que possui algum tipo de doença de pele que faz com que seus pelos sejam mais finos do que o normal e que tenha também problemas nos dentes. A avó do menino apresenta os mesmos problemas, mas ninguém mais na família tem sintomas semelhantes.

O exame do menino revela pelos escassos, círculos vermelhos ao redor dos olhos (hiperpigmentação periorbital), ponte nasal baixa e grito estridente. Durante a consulta, você percebe que a mãe tem características faciais e pelos semelhantes, embora de modo mais suave para um paciente com essas características (Fig. 7-16). O menino se mostra um pouco fraco e apático mas não é, obviamente, hipotônico, pois, quando segurado de bruços, faz força sob o abdome.

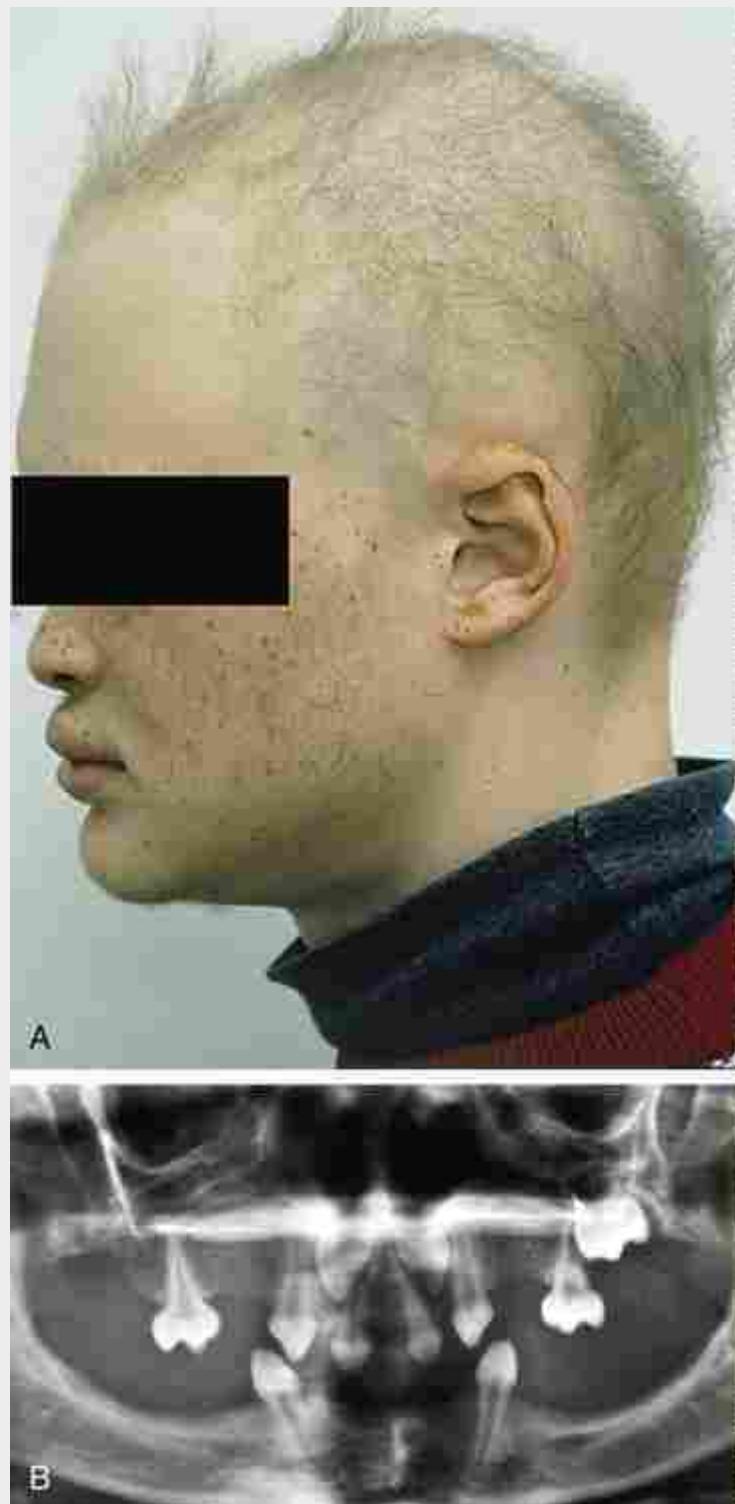


FIGURA 7-16 Cabelos esparsos e anomalias dentárias são características da displasia ectodérmica hipoidrótica. *A*, Paciente em visão lateral. *B*, Raios X dos dentes.

Você relata à equipe médica que, com base em suas descobertas e no histórico familiar, o menino provavelmente apresenta **displasia ectodérmica hipoidrótica associada ao cromossoma X (XLHED)**. Você é capaz de dissuadi-los de realizar a dispensável ressonância magnética e a condição clínica do menino melhora após hidratação intravenosa. O menino agora é capaz de se alimentar de forma mais adequada após lavagem nasal com soro fisiológico visando amolecer secreções secas.

Meninos com XLHED têm hipoidrose (diminuição da transpiração), hipotricose (pelos reduzidos) e hipodontia (dentes ausentes ou pequenos). A diminuição na produção de suor pode ocasionar hipertermia e, desta forma, as famílias devem ser orientadas a realizar modificações ambientais adequadas (utilizando pulverizadores de umidade, coletes de refrigeração e evitando circunstâncias quentes) com a finalidade de reduzir este risco. Mulheres portadoras desta doença podem apresentar expressão mais branda de qualquer uma das características

da XLHED, com pelos esparsos irregulares, dentes pequenos ou ausentes e diminuição da produção de leite materno. A combinação de mucosa nasal seca em recém-nascidos com XLHED com a produção deficiente de leite em mulheres portadoras da doença pode, como no presente caso, dificultar o crescimento e a alimentação da criança. A intolerância ao calor é incomum em mulheres, embora seja observada uma distribuição desigual das glândulas sudoríparas resultante da inativação aleatória dos cromossomos que transportam os genes normal e anormal.

A displasia ectodérmica hipoidrótica é causada por mutações na proteína transmembrana, ECTODISPLASINA (EDA), seu receptor (EDAR), ou componentes desta via de sinalização (p. ex., EDAR-ADD). A EDA é um membro da família de citocinas do TNF (FACTOR DE NECROSE TUMORAL), uma via altamente conservada durante a formação dos anexos, que atua no controle do desenvolvimento de escamas em peixes, do desenvolvimento das penas nas aves e do desenvolvimento de pelos e glândulas em seres humanos.

Leituras sugeridas

- Arin, M. J. The molecular basis of human keratin disorders. *Hum Genet.* 2009; 125:355–373.
- Blanpain, C., Fuchs, E. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009; 10:207–217.
- Blanpain, C., Horsley, V., Fuchs, E. Epithelial stem cells: turning over new leaves. *Cell.* 2007; 128:445–458.
- Cowin, P., Wysolmerski, J. Molecular mechanisms guiding embryonic mammary gland development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010; 2:a003251.
- Driskell, R. R., Clavel, C., Rendl, M., Watt, F. M. Hair follicle dermal papilla cells at a glance. *J Cell Sci.* 2011; 124:1179–1182.
- Fuchs, E. Scratching the surface of skin development. *Nature.* 2007; 445:834–842.
- Fuchs, E., Horsley, V. More than one way to skin. *Genes Dev.* 2008; 22:976–985.
- Galach, M., Utikal, J. From skin to the treatment of diseases—the possibilities of iPS cell research in dermatology. *Exp Dermatol.* 2011; 20:523–528.
- Hunt, D. P., Jahoda, C., Chandran, S. Multipotent skin-derived precursors: from biology to clinical translation. *Curr Opin Biotechnol.* 2009; 20:522–530.
- Mikkola, M. L. Genetic basis of skin appendage development. *Semin Cell Dev Biol.* 2007; 18:225–236.
- Mikkola, M. L. TNF superfamily in skin appendage development. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2008; 19:219–230.
- Mikkola, M. L., Millar, S. E. The mammary bud as a skin appendage: unique and shared aspects of development. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2006; 11:187–203.
- Robinson, G. W. Cooperation of signalling pathways in embryonic mammary gland development. *Nat Rev Genet.* 2007; 8:963–972.
- Schneider, M. R., Schmidt-Ullrich, R., Paus, R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol.* 2009; 19:R132–142.
- Shimomura, Y., Christiano, A. M. Biology and genetics of hair. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2010; 11:109–132.
- Uitto, J., Richard, G., McGrath, J. A. Diseases of epidermal keratins and their linker proteins. *Exp Cell Res.* 2007; 313:1995–2009.

CAPÍTULO 8

Desenvolvimento do Sistema Musculoesquelético

Resumo

O desenvolvimento do tecido muscular e do tecido ósseo ocorre durante a 4^a semana de gestação, no interior do mesênquima embrionário, após o estabelecimento do plano corporal. A formação óssea ocorre de duas formas. Durante o processo de **ossificação endocondral**, forma-se, inicialmente, um modelo cartilaginoso que é substituído posteriormente por tecido ósseo. Esse tipo de ossificação serve como base para o desenvolvimento do esqueleto axial (coluna vertebral, costelas e esterno), base do crânio e esqueleto apendicular (membros), com exceção da parte da clavícula. Durante a **ossificação intramembranosa**, o tecido ósseo forma-se diretamente a partir das células mesenquimais sem o estabelecimento prévio de tecido cartilaginoso. Esse tipo de ossificação é responsável pela formação da maior parte dos ossos da face e do crânio.

Três tipos celulares atuam no processo de ossificação endocondral: **condrócitos**, **osteoblastos** e **osteoclastos**. Enquanto os dois primeiros tipos celulares são responsáveis pela síntese e secreção de elementos orgânicos da matriz extracelular cartilaginosa e óssea (respectivamente), o último relaciona-se com o processo de reabsorção óssea. Durante a ossificação intramembranosa, apenas participam os dois últimos tipos celulares citados.

O embrião é constituído por três tipos de tecidos musculares: tecido muscular estriado esquelético, tecido muscular liso e tecido muscular estriado cardíaco. A musculatura estriada esquelética, de controle voluntário, é o foco deste capítulo e desenvolve-se em associação com o tecido ósseo, constituindo o sistema musculoesquelético. O músculo liso desenvolve-se em associação com a parede das vísceras, vasos sanguíneos e glândulas. O músculo cardíaco forma-se somente no coração. O desenvolvimento do músculo cardíaco e liso será discutido em relação ao desenvolvimento do tubo digestório, sistema urinário e sistema genital ([Cap. 14](#) até [Cap. 16](#)) e em relação ao coração ([Cap. 12](#)).

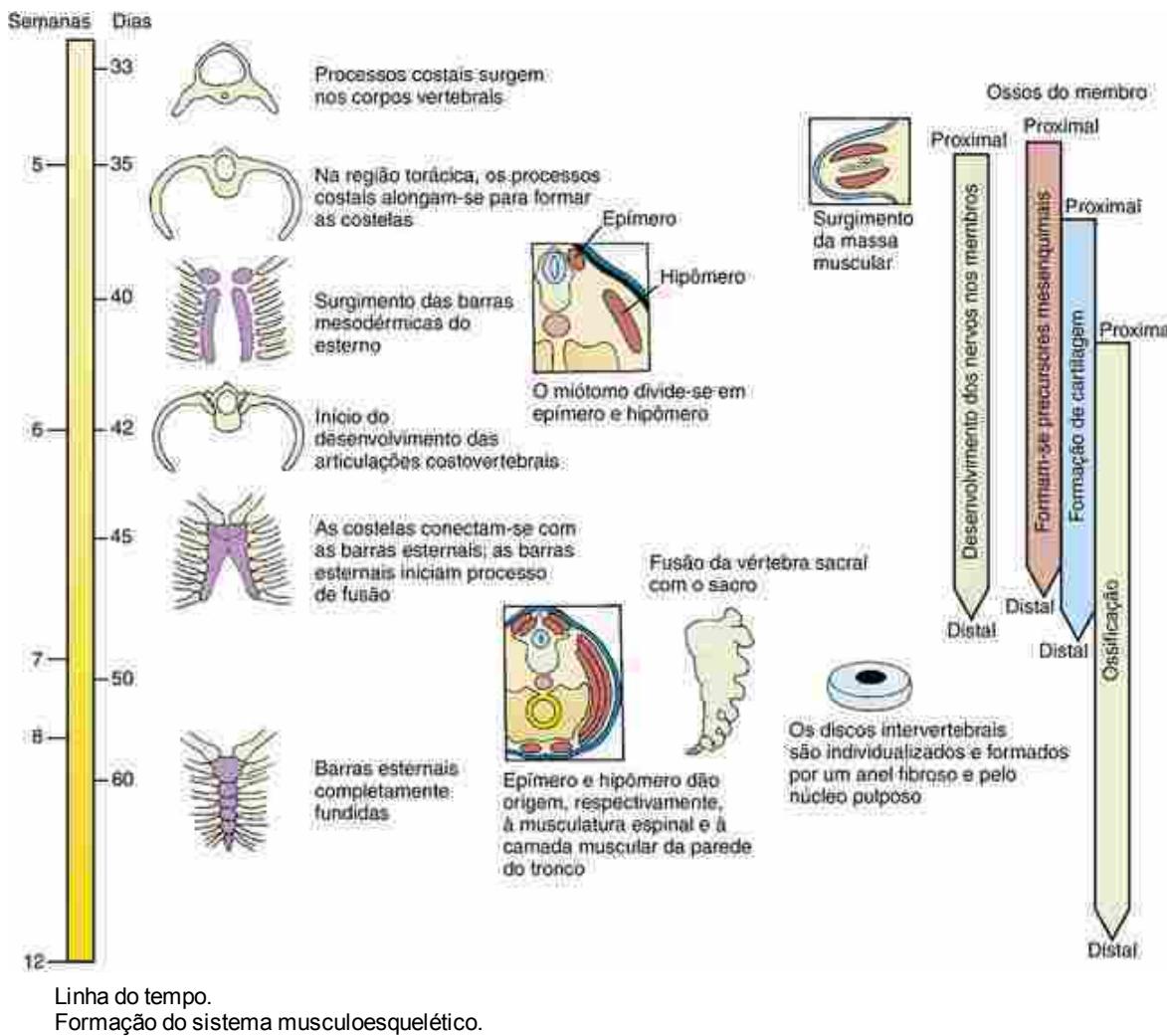
O desenvolvimento muscular ocorre no embrião a partir do estabelecimento dos **mioblastos**, que sofrem uma intensa proliferação originando **miócitos pós-mitóticos** terminalmente diferenciados. Os miócitos expressam actina, miosina e outras proteínas contráteis e fusionam-se originando **miofibrilas** contráteis. O desenvolvimento do músculo estriado esquelético envolve eventos pré e pós-natais: a **miogênese primária** (ocorre durante o estágio de embrião) e a **miogênese secundária** (ocorre durante o estágio de feto) estabelecem o sistema muscular, e as **células-satélite** atuam no crescimento muscular pós-natal em resposta ao exercício ou lesão muscular.

Os músculos e ossos do tronco derivam dos **somitos**. Cada somito forma duas regiões distintas: um **esclerótomo** e um **dermomiótomo**. O primeiro origina os ossos do esqueleto axial. O segundo origina o dermátomo, que formará a pele das costas, do pescoço e do tronco (o restante da derme dessas regiões forma-se a partir da **placa lateral do mesoderma**) e o **miótomo**, que formará os músculos do tronco. O miótomo também origina toda a musculatura dos membros ([Cap. 20](#)) e da língua ([Cap. 17](#)). O **sindétomo** desenvolve-se entre o esclerótomo e o miótomo e contém os precursores dos tendões. A **placa lateral do mesoderma** forma o esterno e os ossos dos membros ([Cap. 20](#)) e contribui para a formação da derme do tronco. Como discutido no [Capítulo 17](#), os ossos da face e do pescoço originam-se das **células da crista neural**, assim como grande parte da derme da cabeça, enquanto os músculos da face, mastigatórios e da laringe surgem do mesoderma paraxial não segmentado (denominado mesoderma craniano). Os ossos da calota craniana e da base do crânio originam-se do mesoderma paraxial segmentado (p. ex., osso occipital) ou da crista neural (p. ex., osso frontal).

Logo após a formação do somito, o miótomo divide-se em **epímero dorsal** e **hipômero ventral**. O epímero origina os **músculos epaxiais** profundos das costas, que são inervados pelo ramo dorsal do nervo espinal. Por outro lado, o hipômero origina os **músculos hipaxiais** das paredes lateral e ventral do corpo no tórax e abdome, os quais são inervados pelo ramo ventral do nervo espinal. Portanto, assim como todos os músculos esqueléticos, a inervação desses músculos reflete sua origem embrionária (mais detalhes no [Cap. 10](#)).

A formação da coluna vertebral envolve um processo de **ressegmentação** dos esclerótomas dos somitos. Durante a ressegmentação, o esclerótomo de cada somito subdivide-se em segmentos cranial e caudal, e cada um deles se funde,

respectivamente, com o segmento caudal ou cranial adjacente. A ressegmentação possibilita aos axônios motores e gânglios da raiz dorsal se posicionarem entre as vértebras, e não através delas. Por outro lado, os músculos esqueléticos mantêm o seu arranjo segmentado original, conectando duas vértebras adjacentes e permitindo o movimento.



Linha do tempo.
Formação do sistema musculoesquelético.

Caso Clínico

Um casal recém-casado, ambos divorciados e já com filhos, decide ter um filho juntos. A mulher engravidou após alguns meses de tentativas e, devido à sua “idade materna avançada” de 38 anos, seu obstetra recomendou uma avaliação no 1º trimestre. Os exames indicaram uma elevada probabilidade (1 em 25) de trissomia 18. A amniocentese revelou um cariótipo normal de 46, XX, e um ultrassom de acompanhamento, na 20ª semana, mostrou que o comprimento dos ossos longos era menor do que o normal. Exceto por esta situação, a gravidez avançava normalmente.

O casal teve uma menina saudável, sem complicações, após 39 semanas de idade gestacional. Nos meses que se seguiram, a família foi ficando cada vez mais preocupada, pois a menina parecia ter braços e pernas curtos e pouca semelhança com os pais. A menina foi encaminhada ao ambulatório de genética e diagnosticou-se **rizomelia** (encurtamento dos membros proximais), dedos curtos, cabeça grande e ponte nasal achatada (Fig. 8-1). Exames de raios X confirmaram o diagnóstico de acondroplasia. Os pais foram informados de que a estatura adulta de sua filha seria em torno de 1,20 m. Eles se tranquilizaram quando souberam que a menina deve desenvolver inteligência e expectativa de vida normais.



FIGURA 8-1 Menina com acondroplasia.

Acondroplasia, palavra grega que significa “sem formação de cartilagem”, é a forma mais comum e mais reconhecida de nanismo. É causada pela mutação no RECEPTOR 3 do FATOR DE CRESCIMENTO FIBROBLASTO (FCRF3). Ao contrário das síndromes de aneuploidia, como a trissomia 18, a acondroplasia está associada à idade avançada dos pais e 80% dos casos resultam de novas mutações do gene FCRF3.

Origem e diferenciação dos tecidos do sistema musculoesquelético

Visão geral do desenvolvimento ósseo

Existem dois tipos de tecido ósseo no corpo: aqueles que se desenvolvem a partir do processo de **ossificação endocondral** e os que se formam por **ossificação intramembranosa**. Durante o desenvolvimento endocondral dos

ossos, o desenvolvimento de um modelo cartilaginoso precede a ossificação. Essa via de diferenciação é utilizada por todos os **ossos do esqueleto axial** (coluna vertebral, esterno e costelas) e **ossos do esqueleto apendicular** do corpo (membros), com exceção de parte da clavícula. A base craniana, cápsulas sensoriais e arcos cartilaginosos faríngeos também se desenvolvem via ossificação endocondral ([Cap. 17](#)). A cartilagem pode crescer rapidamente no embrião e na vida pós-natal, estando presente nas placas epifisárias. No adulto, a cartilagem persiste em regiões submetidas à pressão (p. ex., cartilagem de articulação) ou de flexibilidade (p. ex., cartilagem da laringe). Além de poderem ser formados a partir de um modelo cartilaginoso, alguns ossos se desenvolvem diretamente do tecido mesenquimal, a partir de um processo denominado ossificação intramembranosa. Os ossos intramembranosos, em sua maioria localizados na face e na calota craniana, são denominados **ossos membranosos**.

Os ossos endocondrais são formados por três tipos de células: **condrócitos** (células cartilaginosas), **osteoblastos** (células que sintetizam matriz orgânica óssea) e **osteoclastos** (células de reabsorção óssea). Os condrócitos originam-se de três tecidos: o **mesoderma paraxial**, que forma o esqueleto axial, incluindo a porção occipital da base craniana; a **placa lateral do mesoderma**, que forma o esqueleto apendicular e o esterno; e as **células da crista neural** (p. ex., células ectodérmicas), que originam os elementos cartilaginosos da face e do pescoço. A origem dos osteoclastos e osteoblastos é menos diversa: os osteoblastos originam-se de **células-tronco mesenquimais**, enquanto os osteoclastos originam-se do sistema **hematopoiético**.

Os ossos membranosos desenvolvem-se das **células da crista neural** (ossos faciais e ossos frontais do crânio) ou do **mesoderma paraxial (cabeça)** não segmentado (p. ex., o osso parietal do crânio; [Cap. 17](#)). Nos ossos membranosos, os osteoblastos diferenciam-se diretamente no interior do mesênquima.

Visão geral do desenvolvimento muscular

Os músculos estriados dos membros e do tronco são derivados do **mesoderma paraxial** segmentado, isto é, dos somitos ([Cap. 17](#)), enquanto todos os outros músculos craniofaciais originam-se de um **mesoderma paraxial** cranial não segmentado e do mesoderma da placa precordal (p. ex., mesoderma lateral e mesoderma central da cabeça, respectivamente; [Cap. 3](#)). Os precursores mioblásticos da língua e dos membros migram intensamente até chegarem ao seu destino final. Inicialmente as células miogênicas, os **mioblastos**, proliferam, mas logo saem do ciclo celular e alcançam sua diferenciação terminal originando os **miócitos**. Os miócitos expressam proteínas contráteis, como actina e miosina, e fundem-se para formar as **miofibras**, cada uma delas consistindo em um **sincício** multinucleado (p. ex., massa celular com múltiplos núcleos) que contém **miofibrilas** contráteis. Os músculos extraoculares e da língua expressam uma única cadeia pesada de miosina, necessária para a função de movimento dos olhos e de mastigação, respectivamente.

O desenvolvimento do músculo estriado ocorre em três ondas. Primeiro, ocorre uma **miogênese primária** no embrião que é seguida pela **miogênese secundária**, que ocorre no feto originando a maior parte de sua massa muscular. Finalmente, o crescimento muscular pós-natal envolve **células-satélite**, que são pequenas células quiescentes subjacentes à lámina basal da fibra muscular. Durante o crescimento pós-natal e em resposta a exercício ou lesão muscular, as células-satélite originam miócitos, que possibilitam maior crescimento muscular. As células-satélite dos membros e tronco surgem a partir dos **somitos**, enquanto as células-satélite da cabeça surgem a partir do mesoderma paraxial não segmentado.

O músculo liso do tubo digestório e o músculo cardíaco originam-se do **mesoderma esplâncnico**, enquanto o músculo liso dos vasos sanguíneos e dos folículos pilosos surgem localmente no interior do mesoderma. O músculo liso pode também ter origem nas células da crista neural. Por exemplo, os músculos ciliares e a íris ([Cap. 19](#)) são derivados das células da crista neural craniana, assim como o músculo liso da derme, do pescoço e da cabeça.

No Laboratório de Pesquisa

Comprometimento da linhagem musculoesquelética

O comprometimento das linhagens condrogênica, osteoblástica e miogênica é determinado por fatores de transcrição distintos. O comprometimento da linhagem condrogênica necessita do fator de transcrição **Sox9**, o qual regula a expressão de **colágeno tipo II** — um constituinte chave da matriz cartilaginosa recém-sintetizada. O comprometimento da linhagem osteoblástica requer um fator de transcrição relacionado a **Runx2** (também conhecido como *Cbfα* ou *core binding factor 1*). A expressão defeituosa de Runx2 em fibroblastos primários pode induzir a expressão de marcadores ósseos, como colágeno tipo I, osteocalcina, sialoproteína óssea e fosfatase alcalina, importante para o processo de mineralização. A inativação gênica do fator de transcrição **Sox9** em camundongos afeta o desenvolvimento inicial de todos os ossos cartilaginosos. Por outro lado, a perda de função de Runx2 em camundongos resulta em defeitos na ossificação causados pela perda de osteoblastos; entretanto, os

modelos cartilaginosos dos ossos endocondrais ainda são formados (Fig. 8-2). O osterix, um fator de transcrição zinc finger expresso após Runx2, é essencial para o desenvolvimento osteoblástico; na ausência de osterix, os osteoblastos também não se diferenciam.

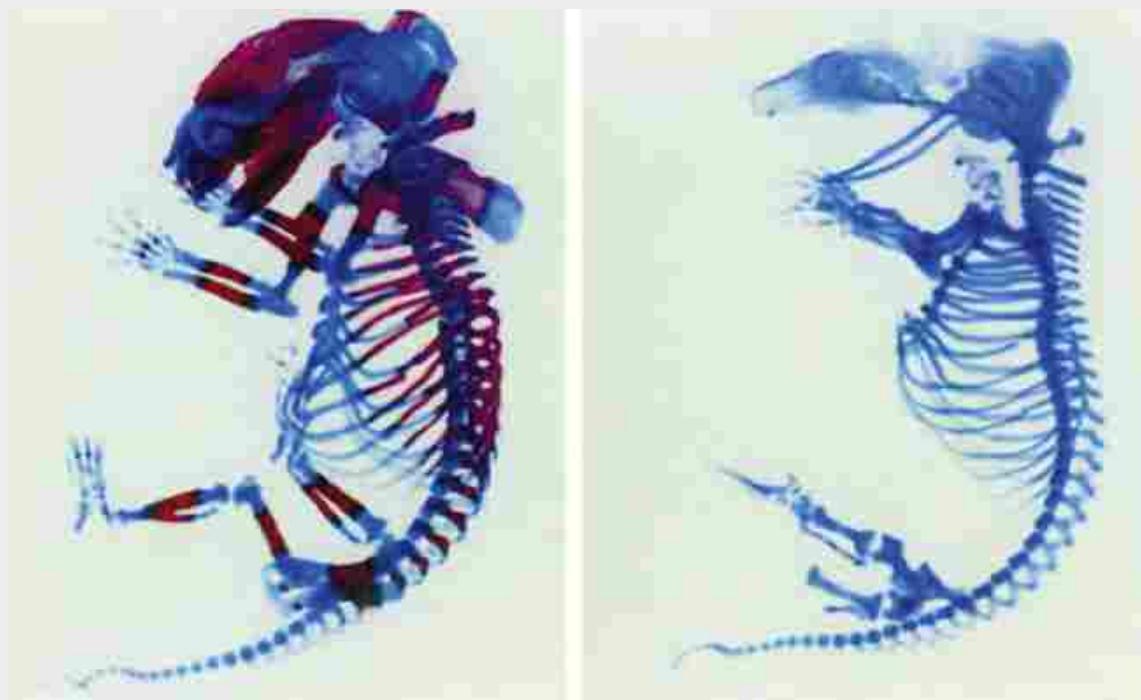


FIGURA 8-2 O papel de Runx2 no desenvolvimento ósseo. Embrião de camundongo tipo selvagem (esquerda) e embrião mutante para Runx2 (direita), ambos corados com azul de alcian e vermelho de alizarina para mostrar a diferenciação de cartilagem (azul) e osso (vermelho). Na ausência de Runx2, os osteoblastos (células formadoras de tecido ósseo) não se formam.

Mutações em SOX9 e RUNX2 podem ocorrer em humanos. Mutações em SOX9 resultam em **displasia campomélica**, caracterizada pelo encurvamento dos ossos longos e por defeitos em todos os ossos endocondrais. A displasia campomélica também está associada à reversão sexual XY em homens (Cap. 16). Mutações no RUNX2 causam **displasia cleidocraniana**, caracterizada pela hipoplasia clavicular (que possibilita a justaposição dos ombros), grandes suturas abertas no crânio, ampla sínfise púbica e anomalias dentárias como erupção retardada ou dentes supranumerários (Cap. 17).

O desenvolvimento do músculo estriado é determinado pela expressão de **fatores reguladores miogênicos** (FRMs) e fatores de transcrição básicos hélice-alfa-hélice, **Myf5**, **Myf6** (anteriormente denominados **Mrf4**), **MyoD** e **miogenina (MyoG)**. A combinação de Myf5, Myf6 e MyoD induz um comprometimento de células da linhagem mioblástica, enquanto miogenina, MyoD e Myf6 são necessários para a diferenciação terminal de **miócitos**. Os miócitos são caracterizados por expressarem proteínas contráteis, como a **miosina de cadeia pesada** (MyHC), e por se fusionarem formando miofibrilas multinucleares. O papel dos MRFs na determinação muscular e na rede molecular que regula a sua expressão varia nas diferentes regiões do corpo (ver adiante o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Diferenças Regionais no Desenvolvimento dos Músculos”). Para sobreviverem, as **células-satélite** requerem fatores de transcrição *paired-box Pax7*; na sua ausência, as células-satélite desenvolvem-se, mas não conseguem sobreviver.

Os somitos se diferenciam em esclerótomo e dermomiótomo

Como discutido no Capítulo 4, os somitos são estruturas segmentadas transitórias derivadas do **mesoderma paraxial**. Eles apresentam células progenitoras do esqueleto axial, da musculatura do tronco e tendões associados, da derme do tronco, de células endoteliais, de células musculares lisas, de células adiposas multiloculares e das meninges da medula espinal. Os somitos são inicialmente estruturas epiteliais arredondadas com uma cavidade (núcleo) central que contém uma população celular formando uma rede fraca — as células da **somitocôloe** (Fig. 8-3A,B). Pouco depois de sua formação, cada somito origina subdivisões que, por sua vez, originam componentes mesodérmicos específicos. A região ventromedial do somito sofre uma **transformação epitelio-mesenquimal**, e essas células, juntamente com as células do núcleo central, formam o **esclerótomo**; após a formação do esclerótomo, o restante dos somitos consiste em

uma camada epitelial dorsal denominada **dermomiotomo** (Fig. 8-3A,C). O esclerótomo formará as **costelas e vértebras**. Como é mostrado nas Figuras 8-3A e 8-4, células da porção ventral e do esclerótomo migram e envolvem a **notocorda**, formando os rudimentos do **corpo vertebral**; as células da porção dorsal do esclerótomo circundam o tubo neural e formam o rudimento do **arco vertebral** e da **espinha vertebral**; o esclerótomo localizado mais lateralmente forma o **processo transverso vertebral** e as **costelas**.

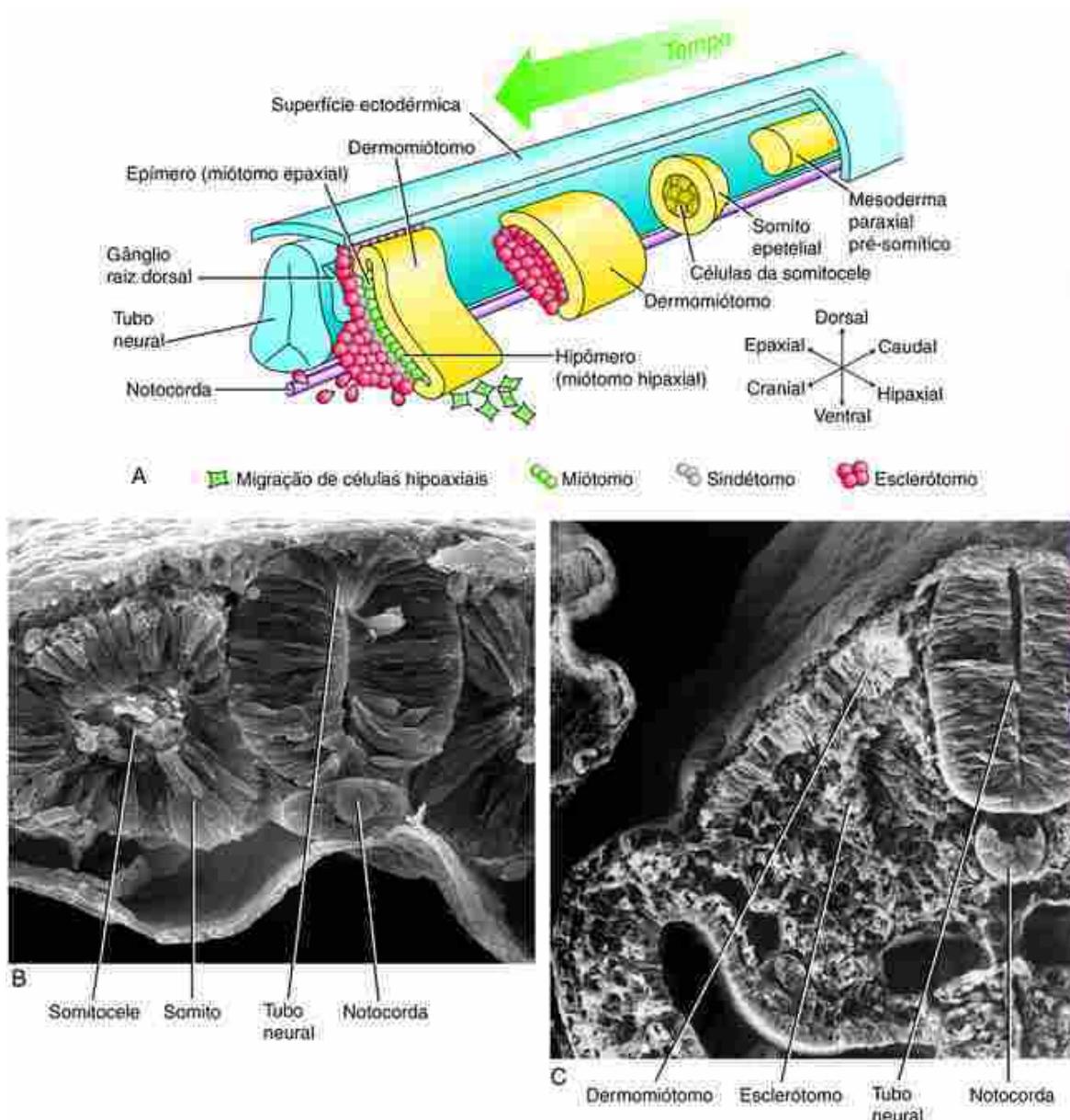


FIGURA 8-3 Desenvolvimento dos somitos. A, Com o passar do tempo, o mesoderma paraxial pré-somítico (não segmentado) segmenta-se para formar somitos epiteliais. Estes formam duas subdivisões iniciais: esclerótomo e dermomiotomo; depois, o dermomiotomo dá origem ao dermátorimo e ao miótomo. O sindéntomo se forma entre o miótomo e o esclerótomo. B, C, Eletromicrografia de varredura mostrando somitos em cortes transversais antes e depois da formação do esclerótomo e do dermomiotomo.

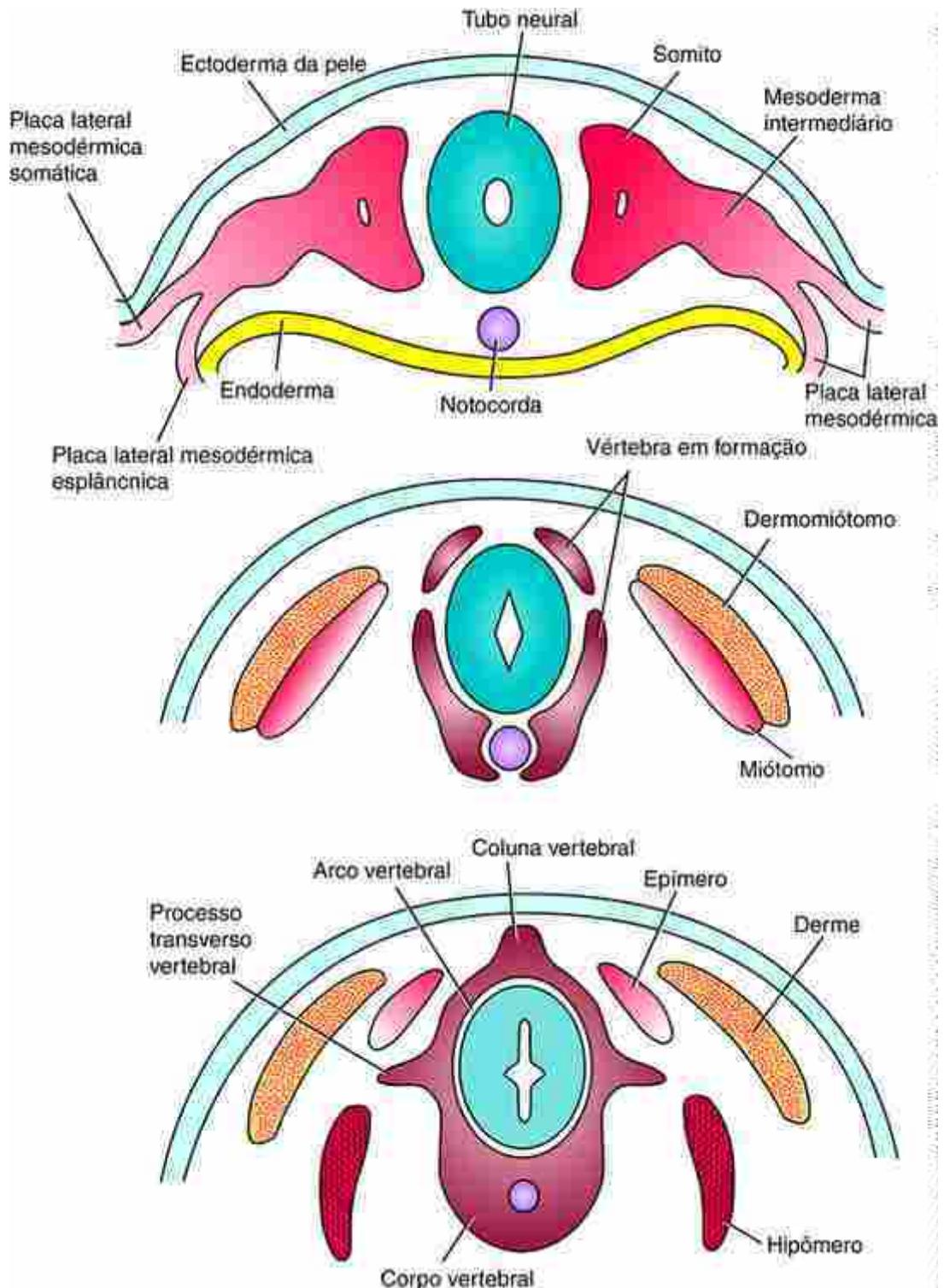


FIGURA 8-4 Contribuição dos somitos para o esqueleto axial e estruturas associadas. Subdivisões do somito envolvem a formação de células do esclerótomo, que rapidamente envolvem a notocorda para formar rudimentos dos corpos vertebrais e o tubo neural, formando os rudimentos dos arcos vertebrais, coluna vertebral, processos transversos e costelas (não mostradas). Com a formação do esclerótomo, a parte dorsal do somito formará o dermomiótomo, que rapidamente dará origem ao dermatomo e ao miótomo. O primeiro origina a derme, e o último divide-se em epímtero e hipómtero, que formarão os músculos epaxial e hipaxial, respectivamente.

O dermomiótomo mantém inicialmente a sua estrutura epitelial e abriga as futuras células dérmicas e miogênicas (Fig. 8-3C). O dermomiótomo origina o miótomo, que contém células musculares comprometidas (Fig. 8-3A). Os fatores envolvidos na especificação e padronização dos esclerótomas e miótomas são discutidos no Capítulo 4 (Fig. 4-27) e no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Subdivisão do Somito”.

Subdivisão do Somito

Os compartimentos dos esclerótomas e dermomiótomas de um somito são especificados pela sinalização Shh e Wnt da placa notocordal e da porção dorsal do tubo neural, respectivamente (Fig. 8-15A). Isso é similar aos papéis opostos de Shh e Wnt durante a especificação do eixo ventrodorsal do tubo neural (Cap. 4) e da vesícula ótica (Cap. 18). O Shh, juntamente com um antagonista de Bmp, é necessário para o desenvolvimento inicial do esclerótomo, o qual expressa genes homeobox, Pax1, Pax9 e Bapx1, todos necessários para a formação do esclerótomo. O Wnts do ectoderma dorsal especifica o dermomiótomo. Portanto, a expressão defeituosa de Shh promove a formação do esclerótomo, enquanto a superexpressão de Wnts induz a formação do dermomiótomo.

Ressegmentação dos esclerótomos

O esclerótomo é subdividido em porções craniana e caudal com base em diferenças tanto de expressão gênica quanto de densidade celular. A porção caudal de cada esclerótomo apresenta grande densidade celular, com alta taxa de proliferação celular, enquanto a porção craniana tem menor densidade celular. Essas diferenças resultam na segmentação das células da crista neural (Fig. 8-5C) e dos axônios motores, os quais podem migrar somente em direção à porção craniana do esclerótomo, pois a porção caudal do esclerótomo é inibitória para a migração. Essa estrutura compartmentalizada do esclerótomo é responsável pela segmentação do sistema nervoso periférico (Cap. 10). A divisão entre as porções caudal e craniana de cada esclerótomo é caracterizada por células dispostas transversalmente denominadas **limite intersegmentar** ou **fissura de von Ebner** (Fig. 8-6). No desenvolvimento posterior, o esclerótomo se divide ao longo desta fissura, e o segmento caudal de cada esclerótomo funde-se com o segmento craniano e do esclerótomo caudal para ele, e cada um dos dois segmentos do esclerótomo contribui para a formação de uma vértebra. Este processo é denominado **ressegmentação dos esclerótomos** (Fig. 8-6). Assim, a ressegmentação produz vértebras com disposição intersegmentar.

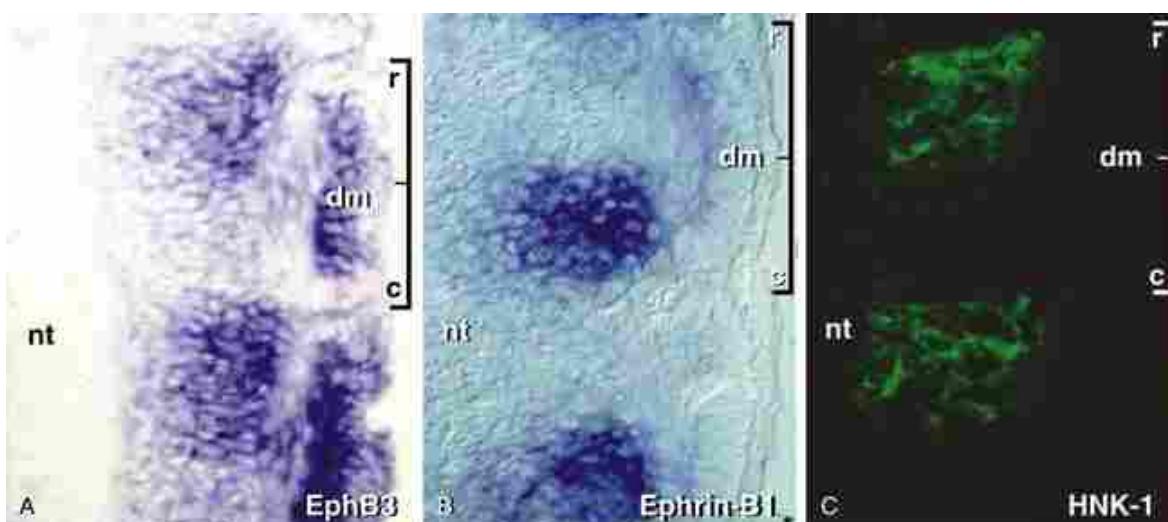


FIGURA 8-5 Padrão de expressão do receptor EphB3 dentro do somito em desenvolvimento. A, B, Receptor EphB3 e seu ligante ephrin B1 são expressos nos segmentos cranial (r) e caudal (c) do esclerótomo. C, Células da crista neural (verde), marcadas com o anticorpo HNK-1, migram somente através da metade cranial (r) de cada esclerótomo e são excluídas da metade caudal (c). Os parênteses em A e B indicam a extensão craniocaudal do somito. dm, dermomiótomo; tn, lado do tubo neural em cada ilustração.

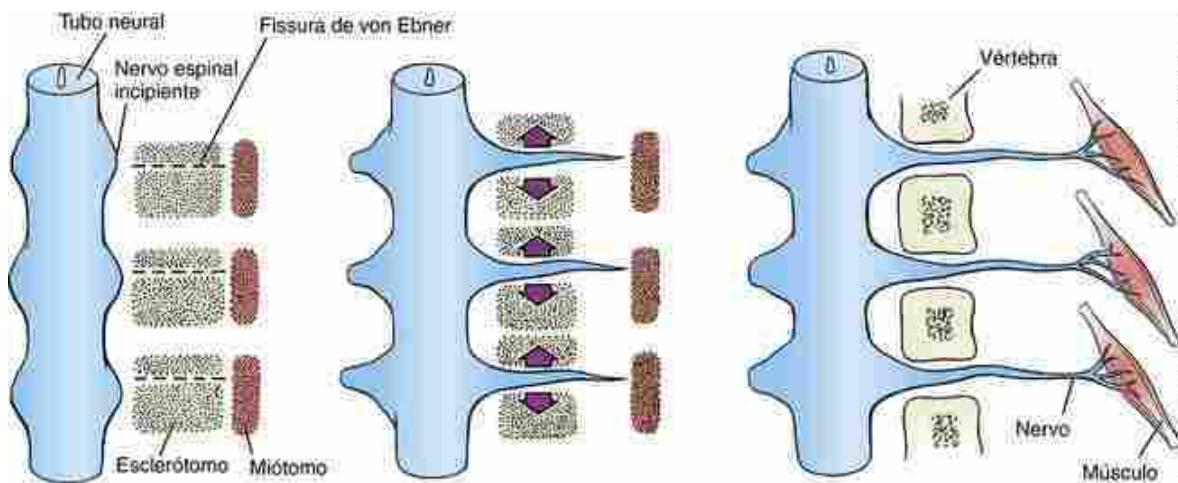


FIGURA 8-6 Ressegmentação dos esclerótomas para formar as vértebras. Cada esclerótomo se divide em segmentos cranial e caudal. Como o crescimento dos nervos espinhais em direção à porção craniana do somito para inervar os miótomas, o segmento cranial de cada esclerótomo se recombina com o segmento caudal do esclerótomo craniano seguinte para formar a vértebra rudimentar.

No Laboratório de Pesquisa

Subdivisão do Esclerótomo

As metades craniana e caudal de cada esclerótomo são marcadas pela expressão de diferentes genes, os quais estabelecem diferentes propriedades de adesão celular nas duas diferentes metades. Por exemplo, a metade craniana de cada esclerótomo expressa EphA4, EphB3 (receptores de efrina) e Tbx18 (um fator de transcrição T-box), enquanto a metade caudal de cada esclerótomo expressa EphB1 e EphB4 (dois outros receptores de efrina), Efrina-B1 (um ligante de efrina), delta 1 (um ligante para a via de sinalização notch) e Uncx4.1 (um fator de transcrição homeobox); os padrões de expressão EphB3 e efrina-B1 são ilustrados na [Figura 8-5](#). É importante observar que essa divisão do esclerótomo em regiões caudal e craniana determina a via de migração das células da crista neural e axônios motores, estabelecendo, desta forma, uma segmentação do sistema nervoso periférico. Particularmente relevantes são os receptores EphB3 e seu ligante, efrina-B1, que de forma conjunta controlam a mistura e segregação celular. Como já foi dito, EphB3 é expresso na metade craniana do esclerótomo e pelas células da crista neural em migração, enquanto efrina-B1 é expressa na metade caudal do esclerótomo ([Fig. 8-5](#)). As células da crista neural que expressam EphA3 não podem se misturar (na verdade, evitam) com as células que expressam o ligante ephrin-B1 (p. ex., células da metade caudal do esclerótomo). Isso pode ser demonstrado por meio do plaqueamento de células em faixas alternadas: células que expressam efrina-B1 e células que não expressam efrina-B1. As células da crista neural migram em faixas, evitando a efrina-B1.

O destino das células em desenvolvimento nas diferentes regiões do esclerótomo, durante a formação das vértebras, é controlado por genes distintos. Por exemplo, Pax1, necessário para o desenvolvimento dos corpos vertebrais e discos intervertebrais, e Msx1 e Msx2 são requeridos para o desenvolvimento da coluna vertebral e do arco neural. No entanto, Uncx4.1 é necessário para a formação dos pedículos e dos processos transversos vertebrais, bem como da porção proximal das costelas. Ao contrário da regulação de Pax1 pelo Shh (como discutido inicialmente neste capítulo e no [Cap. 4](#)), a expressão de Msx1 e Msx2 é regulada por Bmp4, que é expresso pelo ectoderma e pela raiz da placa do tubo neural.

O desenvolvimento das costelas depende da sinalização do miótomo, portanto, anomalias de costelas estão frequentemente associadas a defeitos nessa sinalização. Isto é, os camundongos mutantes para Splotch/Pax3 e para Myf5/Myf6, nos quais o dermomiótomo e o miótomo não se desenvolvem de forma adequada, desenvolvem anomalias na formação das costelas. Nas regiões de formação das costelas, Myf5 e Myf6 são expressos no domínio hipoaxial do miótomo, onde ele regula a expressão de Pdgf e Fgf4, fatores que induzem o desenvolvimento das costelas na base do esclerótomo. Genes Hox determinam o padrão vertebral (veja, mais adiante, o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação da Identidade Vertebral”). A expressão de Myf5 e Myf6 dentro do domínio hipoaxial é promovida por genes parálogos Hox6, os quais promovem a formação da costela, e é inibida pelos genes parálogos Hox10, que inibem a formação da costela ([Fig. 8-11](#)). A sinalização Fgf do miótomo também induz a expressão da proteína sclerix, marcadora de progenitores dos tendões (**sindétomo**) ([Fig. 8-3](#)). Portanto, os progenitores dos tendões estão localizados entre a cartilagem em desenvolvimento e os precursores

musculares.

Os esclerótomas dos quatro somitos mais cranianos, denominados somitos occipitais, fundem-se para originar o osso occipital na base do crânio ([Cap. 17](#)). Os somitos mais caudais desta série denominam-se somitos cervicais. Oito somitos cervicais desenvolvem-se no embrião, mas formam somente sete esclerótomas cervicais. Isso pode ser explicado pelo fato de o esclerótomo do primeiro somito cervical ser “perdido” ao se fundir com a metade caudal do quarto esclerótomo occipital, contribuindo, portanto, para a formação da base do crânio ([Fig. 8-7](#)). A metade caudal do primeiro esclerótomo cervical funde-se com a metade craniana do segundo esclerótomo cervical para constituir a primeira vértebra cervical (o atlas), e assim por diante ao longo de toda a coluna vertebral. O oitavo esclerótomo cervical contribui, então, com sua metade cranial para a formação da sétima vértebra cervical e sua metade caudal para primeira vértebra torácica.

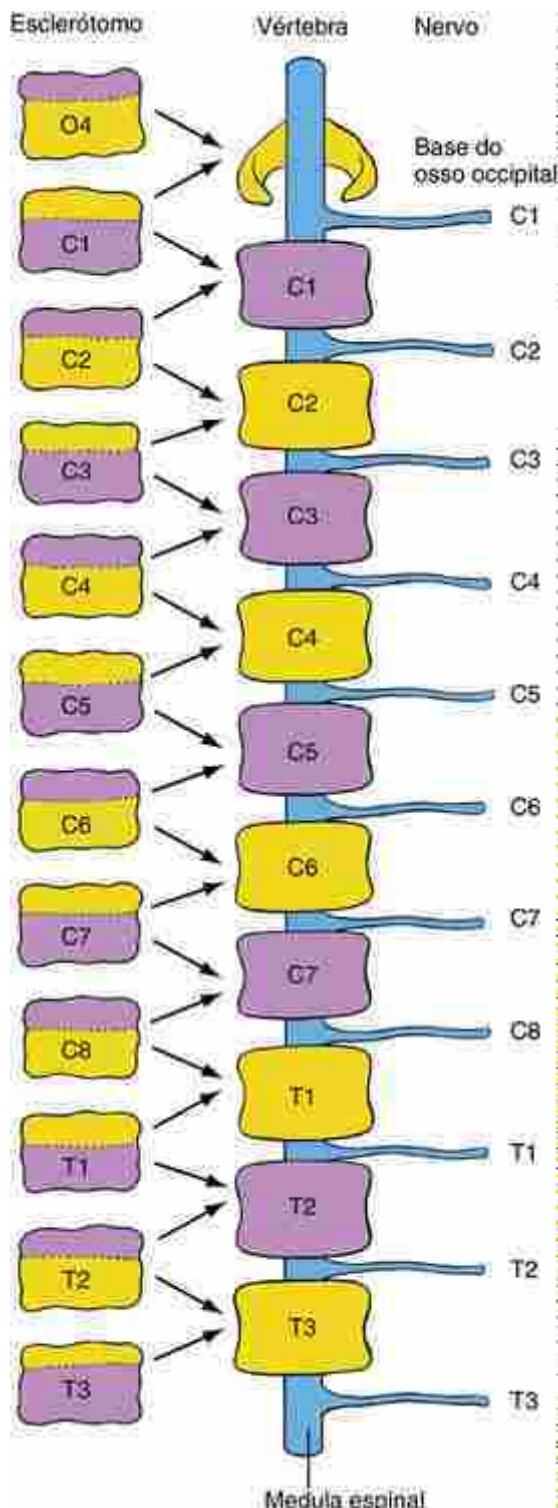


FIGURA 8-7 Mecanismo pelo qual a região cervical forma oito nervos cervicais, mas somente sete vértebras cervicais. As raízes ventrais dos nervos espinhais saem da medula espinal em direção ao esclerótomo. Com a ressegmentação dos esclerótomas, a metade cranial do primeiro esclerótomo cervical se funde com o osso occipital do crânio. Como resultado, o nervo projetado para o primeiro somito cervical fica agora localizado cranialmente à primeira vértebra cervical. Na região torácica, lombar e sacral, o número de nervos espinhais é igual ao número das vértebras.

Como resultado da ressegmentação do esclerótomo, as artérias intersegmentares, que inicialmente passam através dos esclerótomas, agora passam sobre o corpo vertebral. Além disso, os nervos espinhais segmentados, que inicialmente cresciam em direção à porção cranial do esclerótomo, agora passam a sair entre as vértebras. No entanto, é importante lembrar que, embora existam sete vértebras cervicais, há oito nervos cervicais espinhais. O primeiro nervo espinal sai entre a base do crânio e a primeira vértebra cervical (em alinhamento com o primeiro somito cervical); assim, o oitavo nervo espinal sai acima da primeira vértebra torácica (em alinhamento com o oitavo somito cervical). Deste ponto em diante, cada nervo espinal sai logo abaixo da vértebra com o mesmo número correspondente (Fig. 8-7).

Finalmente, cada esclerótomo está associado a um miótomo sobrejacente à placa muscular em desenvolvimento (Fig. 8-6). Por isso, após a ressegmentação, o miótomo que estava inicialmente associado a um esclerótomo associa-se a duas vértebras adjacentes e cruza o espaço intervertebral.

No limite intersegmentar desenvolvem-se os discos intervertebrais fibrosos (Fig. 8-8). A estrutura central original de cada disco é constituída de células originadas da notocorda (Fig. 8-4) que produzem uma matriz gelatinosa e rica em proteoglicanos denominada **núcleo pulposo**. A estrutura fibrosa circundante (ao núcleo pulposo), denominada **anel fibroso**, desenvolve-se a partir de células do esclerótomo deixadas na região de ressegmentação do esclerótomo quando as metades cranial e caudal separam-se.

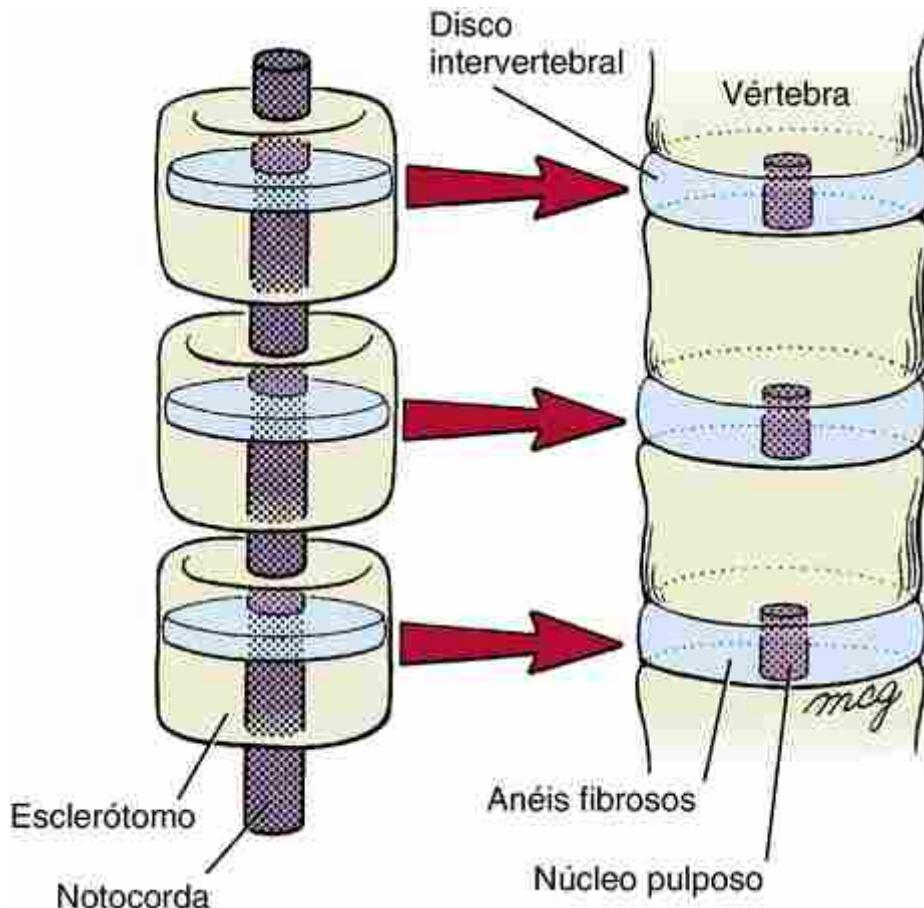


FIGURA 8-8 Contribuição do esclerótomo e notocorda para a formação dos discos intravertebrais. Quando o esclerótomo se divide, células remanescentes do plano de divisão coalescem e formam os anéis fibrosos do disco, e as células da notocorda envolvidas por essa estrutura se diferenciam para formar o núcleo pulposo do disco. A região da notocorda envolvida pelos corpos vertebrais em desenvolvimento degeneram e desaparecem.

Pequenas condensações laterais de mesênquima denominadas **processos costais** desenvolvem-se associadas aos arcos vertebrais de todas as vértebras do pescoço e do tronco em desenvolvimento (Fig. 8-9A). Ao mesmo tempo, o processo transverso cresce lateralmente ao longo do lado dorsal de cada processo costal. Na vértebra cervical, os processos costais e transversos dão origem aos limites lateral e medial dos **forames transversos**, por meio dos quais passam as artérias vertebrais. Na região lombar os processos costais não se projetam distalmente e contribuem para os processos transversos. Os processos costais das primeiras duas ou três vértebras sacrais contribuem para o desenvolvimento da massa sacral lateral ou **asa do sacro**.

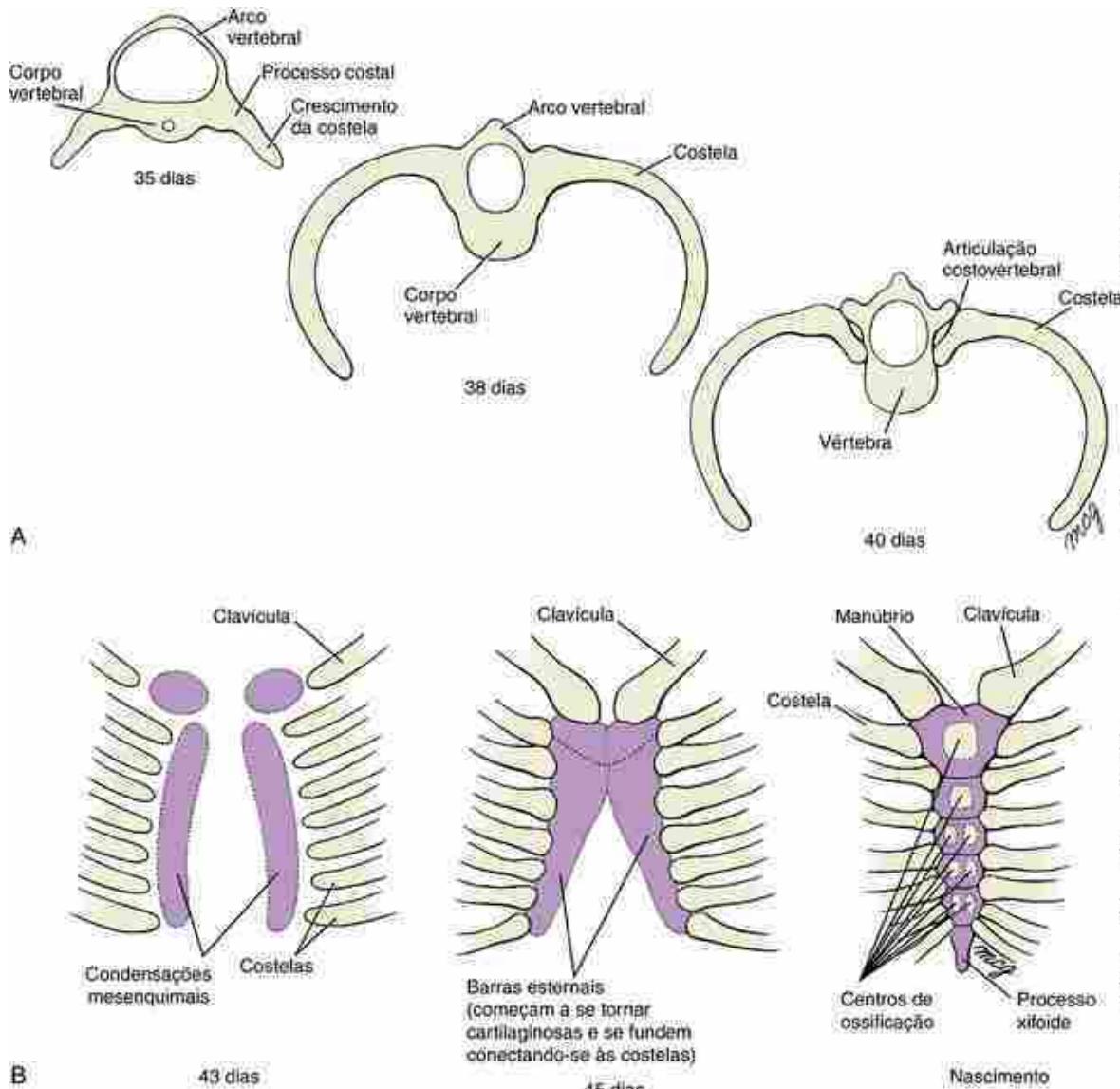


FIGURA 8-9 Desenvolvimento do esterno e das costelas. *A*, Os processos costais das vértebras, na região torácica, começam a se alongar na 5^a semana para formar a costela. No final da 5^a semana, as articulações costovertebrais se formam e separam as costelas das vértebras. *B*, Pares de condensações mesenquimais denominadas barras esternais formam-se dentro da parede ventral do corpo até o final da 6^a semana. As barras esternais rapidamente se fundem em suas extremidades craniais, enquanto suas bordas laterais se unem com as extremidades distais das costelas em crescimento. As barras do esterno, em seguida, se fundem ao longo da linha média no sentido craniocaudal. Centros de ossificação aparecem dentro do esterno com 60 dias, mas o processo xifoide não se ossifica até o nascimento.

Entretanto, na região torácica, as extremidades distais dos processos costais se alongam e formam as costelas (*Fig. 8-9A*). As costelas iniciam sua formação e alongamento no trigésimo quinto dia. No quadragésimo quinto dia, as primeiras sete costelas conectam-se ventralmente ao esterno a partir de cartilagens costais e são denominadas costelas verdadeiras. As cinco costelas inferiores não articulam-se diretamente ao esterno e denominam-se costelas falsas. As costelas desenvolvem-se a partir de precursores cartilaginosos que mais tarde se ossificam por um processo de ossificação endocondral.

O esterno desenvolve-se a partir de condensações mesenquimais longitudinais pares denominadas **barras esternais**, que formam a parede ventrolateral do corpo (*Fig. 8-9B*). Quando as costelas mais craniais fazem contato com elas, na 7^a semana, as barras esternais se unem na linha média e começam a se fundir. A fusão tem início na extremidade cranial das barras esternais e avança caudalmente, terminando com a formação do processo xifoide na 9^a semana. Assim como as costelas, os ossos do esterno ossificam-se a partir de precursores cartilaginosos. As barras esternais ossificam-se a partir do 5º mês até pouco depois do nascimento, originando os ossos definitivos do **esterno: manubrio, corpo do esterno e processo xifoide**.

No Laboratório de Pesquisa

Especificação da identidade das vértebras

Embora os somitos do tronco sejam morfologicamente indistinguíveis uns dos outros, eles apresentam especificações para formar estruturas características de determinados níveis do corpo. Além disso, o desenvolvimento característico de vértebras específicas parece estar relacionado com as propriedades intrínsecas de seus somitos precursores. Somitos transplantados para outra região formam estruturas típicas da região da qual se originam. Por exemplo, somitos torácicos transplantados para a região lombar formam vértebras e costelas torácicas típicas na região lombar ectópica. Com base em experiências como estas, foi sugerido que os somitos adquirem sua especificação regional no mesoderma paraxial, antes mesmo de sua segmentação.

No embrião humano é formado um número específico de somitos cervicais, torácicos, lombares, sacrais e coccígeos, o que resulta em um número relativamente invariável de cada tipo de vértebra (7, 12, 5, 5 e 4, respectivamente). No entanto, ocorre variação significativa no número de somitos e vértebras entre diferentes organismos vertebrados. Por exemplo, nos anfíbios, o número de vértebras cervicais é somente 3 ou 4, enquanto no ganso o número de vértebras cervicais é 17. Camundongos e mesmo girafas apresentam o mesmo número de vértebras cervicais que os humanos (7), mas os camundongos têm 13 (não 12) vértebras torácicas, 6 vértebras lombares (não 5) e 4 (não 5) vértebras sacrais. As cobras têm centenas de vértebras, enquanto os sapos 10 ou menos vértebras. Quais os fatores que especificam as diferenças regionais nas vértebras? E como é determinado o número de vértebras em uma região? Ambas as questões podem agora ser respondidas a partir do entendimento da regulação da expressão de genes Hox.

É interessante observar que uma única combinação de expressão do gene Hox ocorre praticamente em cada segmento do tronco, com expressão mais cranial de alguns genes Hox parálogos, como demonstrado a partir de hibridização *in situ* ou do uso do gene repórter LacZ, ocorrendo nos principais limites entre os somitos. Por exemplo, durante o início da somitogênese, a expressão cranial dos genes Hox6 parálogos é agrupada no limite cervical/torácico e a expressão dos genes Hox10 parálogos tende a cair na transição torácico/lombar, enquanto Hox11 parálogos têm sua expressão diminuída no limite lombar/sacral (Fig. 8-10). Essa organização resulta em combinações únicas da expressão de gene Hox em todos os segmentos do tronco; essa organização é consistente com o modelo de especificação de segmento do artrópode Homc, segundo o qual os genes homeóticos podem especificar a diversidade de um **código combinatório**.

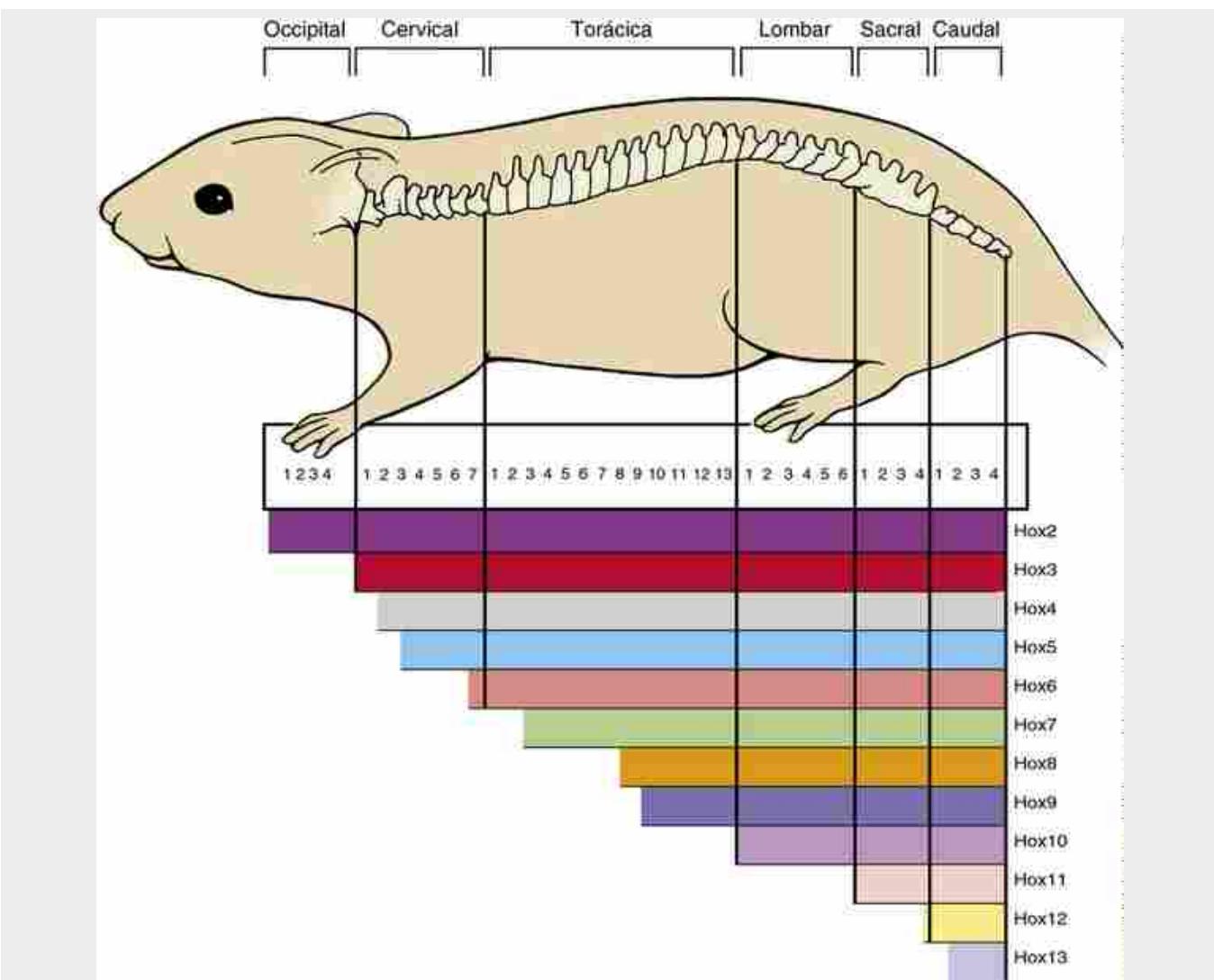


FIGURA 8-10 O código Hox estabelece os padrões da vértebra. Diagrama mostrando os limites da expressão do gene Hox ao longo do eixo craniocaudal do corpo. Os genes Hox são expressos em padrões inseridos (aninhados) ao longo do eixo craniocaudal, e cada vértebra ou pequenos grupos de vértebras apresenta um distinto código Hox combinatório. Os limites de alguns genes Hox correlacionam-se com as mudanças na identidade da vértebra e com a formação do esqueleto ependicular (*i.e.*, membros anteriores sempre se formam no limite cervical/torácico, enquanto os membros posteriores sempre se formam no limite lombar/sacral). Essa correlação entre a expressão do gene Hox e a identidade da vértebra é conservada nas espécies.

De acordo com este modelo, a perda de um único gene Hox (*i.e.*, Hox9) altera o código combinatório, resultando na transformação homeótica de uma ou duas vértebras (a identidade de uma ou duas das vértebras é transformada em uma outra vértebra). A perda adicional de genes parálogos (Hoxc9 junto com a perda do Hoxb9 e Hoxd9) afeta de forma significativa o desenvolvimento vertebral, resultando na transformação homeótica anterior (“**cranialização**”) de vários segmentos somáticos do tronco. As regiões afetadas pela perda de genes Hox parálogos estão resumidas na [Figura 8-11A](#). Após a perda dos parálogos Hox4, as vértebras C2-C5 são transformadas em vértebras com características C1, e a perda de parálogos Hox5 transforma as vértebras, entre C3 e T2, em uma vértebra com morfologia semelhante à de C2. Os parálogos Hox9 são necessários tanto para o desenvolvimento das costelas flutuantes quanto para as que são ligadas ao esterno. A perda de todos os parálogos Hox10 resulta na perda de vértebras com características lombares — estas desenvolvem-se como vértebras torácicas completas, com costelas ([Fig. 8-11B](#)), enquanto, com a perda de parálogos Hox11, a região sacral adquire características lombares.

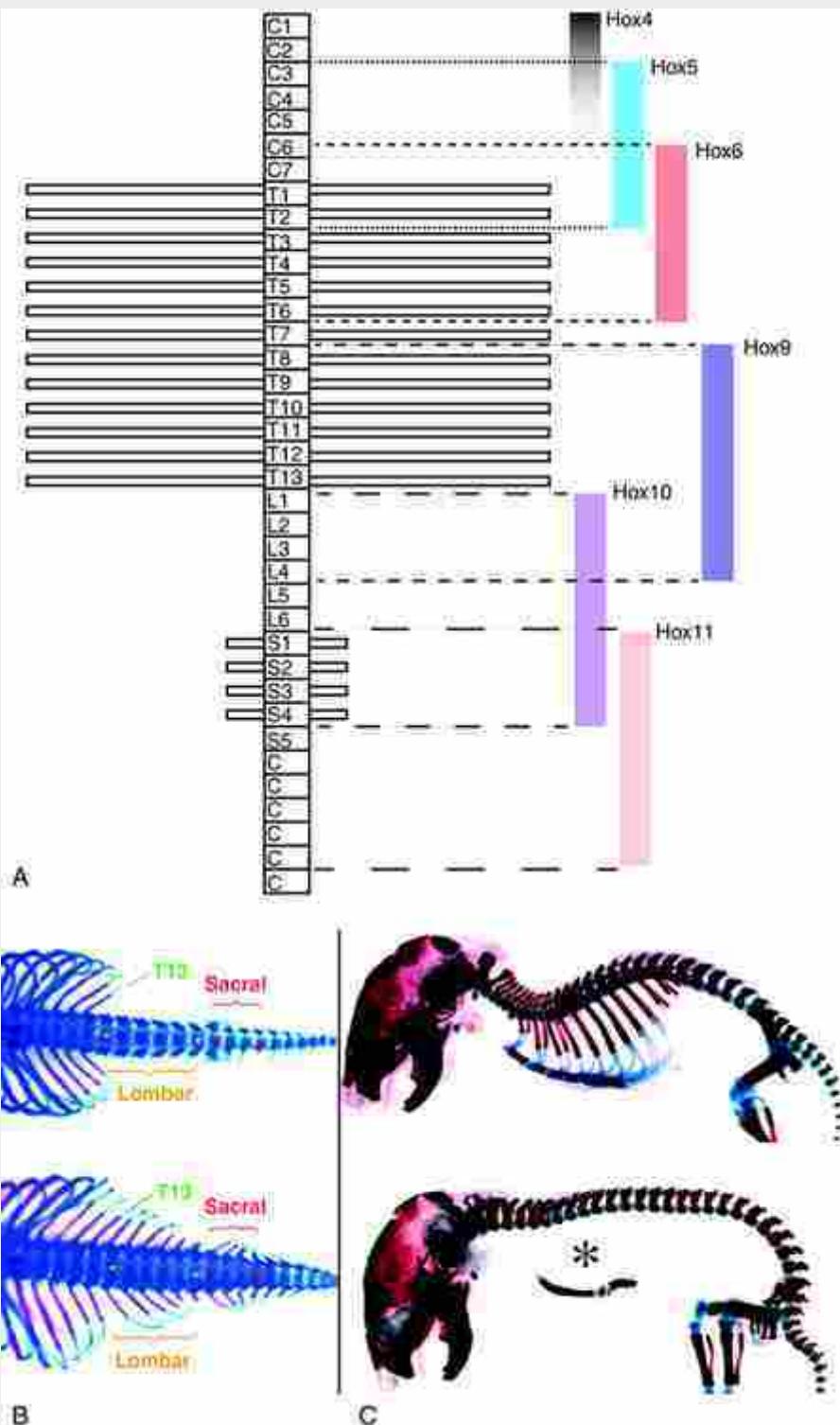


FIGURA 8-11 Transformação homeótica. *A*, Diagrama mostrando genes Hox específicos para diferentes tipos de vértebras. *B*, A perda de parálogos Hox10 converte as vértebras lombares e sacrais em vértebras torácicas completas com costelas. *C*, O ganho de função Hox10 no mesoderma pré-somítico converte a vértebra torácica em vértebra lombar sem costelas. O esterno forma-se em área superficial ao asterisco (abaixo).

Por outro lado, o aumento na expressão de genes Hox “caudaliza” as vértebras. O aumento na função de Hox6 induz o desenvolvimento da costela em cada vértebra. A expressão defeituosa de Hox10 reespecifica as vértebras torácicas para formar vértebras com características lombares, ou seja, elas perdem as costelas (Fig. 8-11C). Esse efeito é oposto ao que ocorre com a perda do grupo parálogo Hox10, descrito anteriormente. A expressão defeituosa de Hox6 ou Hox10 no mesoderma pré-somítico, ou, mais tarde, nos somitos, tem diferentes efeitos. Somente quando Hox6 ou Hox10 são expressos com defeito no mesoderma pré-somítico, há transformações nas vértebras. Por outro lado, se já tiver ocorrido expressão defeituosa tardia após a somitogênese, haverá

anormalidades relativamente menores.

O padrão anterior-posterior, inserido/aninhado, de expressão do gene Hox é estabelecido durante a gastrulação e o estágio caudal e é refinado durante o início da somitogênese. Os genes Hox são expressos quando células do mesoderma paraxial ingressam através da linha primitiva ([Cap. 3](#)). Células que expressam mais genes 3'Hox (anterior) ingressam antes das células que expressam mais genes 5'Hox (posterior). O momento do ingresso pode ser alterado experimentalmente alterando-se a expressão do gene Hox. A expressão ectópica do gene 5'Hox atrasa o ingresso, enquanto a expressão ectópica do gene 3'Hox promove o ingresso. Assim, um padrão de expressão de gene Hox é estabelecido ao longo do eixo anterior-posterior. Além de controlarem a especificação do tipo vertebral, os genes Hox controlam o alongamento do eixo. As últimas células a serem formadas expressam genes 5'Hox (Hoxb13) a mais, e isso diminui a expressão Wnt3a necessária para a proliferação e manutenção do mesoderma pré-somítico. A diminuição de Wnt3 também quebra o balanço entre o antagonista Wnt/Fgf e os sinais de ácido retinoico necessário para a formação de somitos ([Cap. 4](#)), e, assim, o ácido retinoico promove apoptose dentro do mesoderma pré-somítico, também evitando a formação somítica. Uma prematura expressão Hoxb13 resulta em um esqueleto axial truncado. Por outro lado, mais vértebras são formadas na ausência de Hoxb13.

Durante a gastrulação e no mesoderma pré-somítico após a gastrulação, a expressão de genes Hox é regulada por Wnt, Bmp11 (também conhecido como Gdf11) e sinalização pelo ácido retinoico. Assim, alterações nesses sinais podem resultar em transformações homeóticas. O **ácido retinoico** regula a expressão do gene Hox, em parte pela indução de outro gene homeobox denominado **caudal**. A perda da função genética de dois ou mais membros da família dos **receptores de ácido retinoico** resulta na **cranialização** dos segmentos vertebrais ([Fig. 8-12](#)). Essa cranialização é similar à que é observada nas mutações homeóticas dos genes Hox descritas anteriormente. Por outro lado, aplicações ectópicas de ácido retinoico em excesso resultam em **caudalização** dos segmentos vertebrais, semelhante ao que ocorre no mutante Hox “homeótico” ganho-de-função ([Fig. 8-12](#)). Esse processo é similar à regulação de ácido retinoico para a expressão do gene Hox do mesencéfalo, o qual determina a identidade do rombômero ([Caps. 9 e 17](#)). A perda de Bmp11 resulta na cranialização das vértebras, enquanto a perda de Wnt3 afeta diretamente a expressão de membros da família dos genes Hox: ocorre caudalização da vértebra torácica-mediana, juntamente com a cranialização da vértebra sacral.

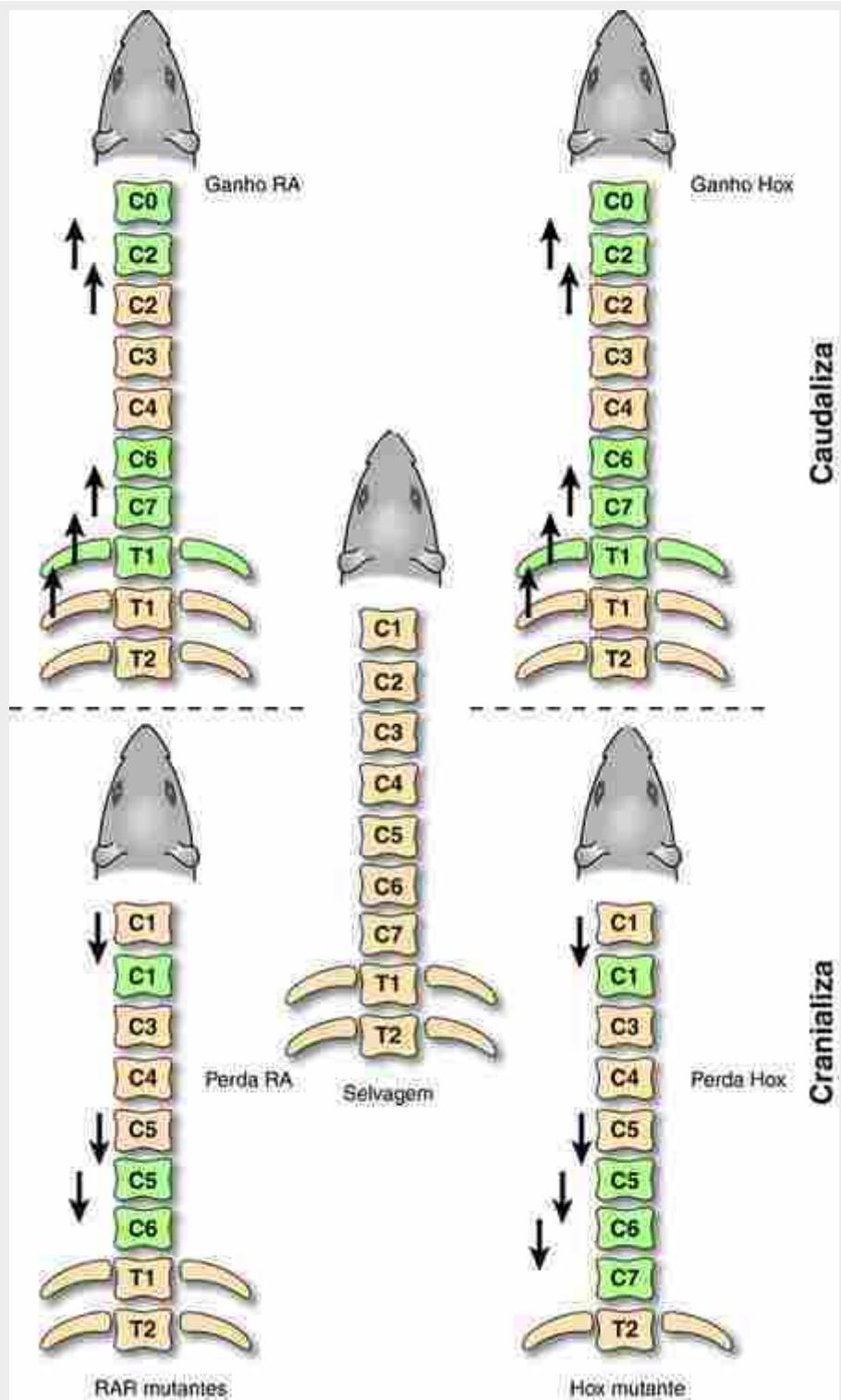


FIGURA 8-12 Transformações homeóticas após ganho (desenhos no topo) e perda (desenhos na parte inferior) de funções do gene Hox (direita) ou da sinalização de ácido retinoico (esquerda). A condição selvagem é mostrada no centro do desenho.

O mecanismo pelo qual é alcançada a identidade segmentar nas vértebras é, sem dúvida, muito mais complexo do que é sugerido nesta breve discussão, e nem um código combinatório Hox nem modelos de prevalência posterior podem explicar totalmente as observações. Por exemplo, ao contrário das mutações Hox perda-de-função, discutidas anteriormente, já foi demonstrado que uma mutação de Hoxa6 caudaliza a sétima vértebra cervical, como indica a formação de uma costela por esta vértebra. Mutantes para alguns outros genes Hox cranializam uma região da coluna vertebral e caudalizam outra região simultaneamente. Portanto, embora o ácido retinoico e os genes Hox pareçam desempenhar um papel na especificação craniocaudal das vértebras, talvez eles somente estabeleçam o padrão geral da especificação regional. Outros fatores, incluindo a capacidade de alguns membros da família Hox de antagonizar a função de outros genes Hox, podem exercer controle na regulação da

diferenciação específica dos segmentos.

Na Clínica

Defeitos vertebrais

Vários defeitos na coluna vertebral são causados por uma indução anormal dos esclerótomas. **Espinha bífida oculta ou vértebras fendas**, defeito no qual o próprio tubo neural não está morfologicamente afetado (*i.e.*, está fechado), é causada pela indução anormal dos rudimentos do arco vertebral pelo tubo/ectoderma neural. A indução e morfogênese defeituosas dos corpos vertebrais em um lado do corpo podem resultar em **escoliose** congênita grave (encurvamento lateral da coluna vertebral), que pode necessitar de correção cirúrgica. Vértebras fendas também podem ser uma consequência secundária do não fechamento do tubo neural, como ocorre na **espinha bífida**. A espinha bífida é discutida com mais detalhes no [Capítulo 4](#).

As vértebras, em conjunto com anomalias de costela, podem mostrar defeitos isolados, como em um grupo heterogêneo de condições que incluem **disostose espondilo-torácica** e **espondilocostal**. Tipicamente, a disostose espondilocostal é caracterizada por defeitos vertebrais em toda a coluna vertebral, como hemivértebras, fusões de costelas e cifoescoliose (encurvamento da coluna vertebral em ambos os planos, lateral e anterior-posterior) ([Fig. 8-13A](#)). Mutações no **DELTA3**, um ligante da via de sinalização NOTCH, e **LUNATIC FRINGE**, um fator intramolecular que modula receptores NOTCH, alteram suas afinidades com seus ligantes, podendo ocasionar disostose espondilocostal ([Fig. 8-13A](#)). Todos os genes supramencionados estão associados à via de sinalização Notch e são necessários para o funcionamento do relógio da segmentação e, consequentemente, da somitogênese.



FIGURA 8-13 Diferentes tipos de defeitos vertebrais. *A*, Paciente com uma mutação MESP2 apresentando defeitos graves de segmentação vertebral. *B*, Disostose cervical mostrando corpos vertebrais cervicais fundidos (*cabeça da seta*). *C*, Síndrome Alagille mostrando vértebra “borboleta” (*a cabeça da seta* indica uma vértebra; observe a fissura profunda mediana em cada vértebra).

Os defeitos vertebrais podem também ser restritos a determinadas regiões específicas da coluna vertebral, como **disostose cérvico-torácica** (previamente conhecida como **síndrome de Klippel-Feil**) (Fig. 8-13B), a qual afeta as vértebras cervicais e torácicas de tal modo que o pescoço fica mais curto com o movimento restrito (vértebras cervicais são às vezes fundidas). Defeitos vertebrais que são facilmente identificados em exames pré-natal podem também indicar uma condição denominada **VATER/VACTERL** (vértebra-anal-cardíaco-traqueo-esofagofaríngeo-rins-membro), síndrome de **Alagille** e **CHARGE** (essas anomalias são discutidas nos [Caps. 3, 5 e 12 até 14](#)). Na **síndrome de Alagille** (resultantes de mutações em JAGGED1, um ligante NOTCH ou NOTCH2), vértebras-borboleta são uma característica de aproximadamente 60% dos casos (Fig. 8-13C).

Desenvolvimento dos miótomas em níveis segmentares

Como já mencionado anteriormente, durante a formação do esclerótomo, a região dorsal do somito permanece epitelial e é denominada **dermomiotomo**. Essa estrutura origina o **miótomo** (Fig. 8-14; Fig. 8-3A e 8-4) e a derme do pescoço e das costas (incluindo gordura e tecido conjuntivo). No entanto, como discutido no [Capítulo 7](#), a maior parte da derme é originada da placa da somatopleura do mesoderma lateral (como discutido no [Cap. 17](#), a derme da face também origina-se das células da crista neural).

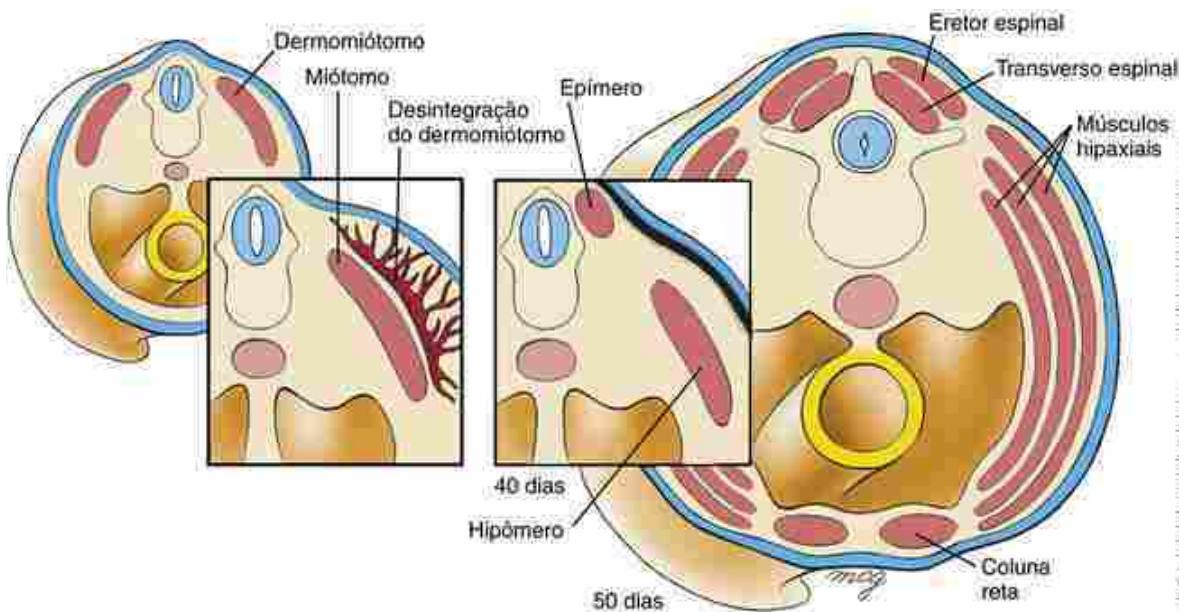


FIGURA 8-14 Destino do dermotomio e do miótomo. Os dermotomios dão origem aos miótomas e à derme subjacentes. As células precursoras dérmicas migram para a superfície ectodérmica da região segmentar correspondente. Lá, junto com células provenientes da placa lateral de mesoderma, elas formam a derme. Cada miótomo se divide primeiro em epímero dorsal e hipómero ventral. O epímero forma os músculos profundos das costas. Na região torácica, o hipómero se divide em três camadas de músculos anterolaterais (obliquo externo, obliquo interno e abdominal transverso); na região abdominal, o segmento da quarta vértebra também se diferencia e forma o músculo reto abdominal.

Os miótomas diferenciam-se das células miogênicas (produtoras de músculos) (Fig. 8-14). Cada miótomo divide-se em duas estruturas: o **epímero** dorsal e o **hipómero** ventral (Figs. 8-3A e 8-4). Os epímeros originam os **músculos epaxiais** das costas, incluindo os **paraespinhos** e o grupo **transversospinal**. Estes músculos são inervados pelo **ramo dorsal do nervo espinal**. Os hipómeros originam os **músculos hipaxiais** da parede lateral e ventral do corpo, no tórax e abdome. Eles são inervados pelo **ramo ventral do nervo espinal**. Os músculos hipaxiais incluem três categorias de **músculos intercostais** no tórax (**intercostais interno** e **externo** e **intercostais mais profundos**), as três camadas homólogas da musculatura abdominal (**oblíquo externo**, **oblíquo interno** e **transverso do abdome**) e o **reto abdominal**; músculos flanqueiam a linha média ventral. Em geral, a coluna do reto está limitada à região abdominal, mas ocasionalmente se desenvolve de ambos os lados do esterno como os **músculos esternais**. Na região cervical, os mioblastos hipaxiais, juntamente com a placa lateral mesodérmica occipital, formam os músculos do pescoço, incluindo o **escaleno** e o **infra-hiódeo**. Na região lombar, os hipómeros formam o músculo quadrado lombar. Os músculos dos membros e da língua desenvolvem-se a partir do dermotomo hipaxial. Nos níveis formadores dos membros, os mioblastos se originam dos dermotomos hipaxiais e a musculatura dos **membros** (Figs. 8-21 e 8-23). Na região occipital, mioblastos hipaxiais dos somitos (occipital; Cap. 17) surgem do dermotomo hipaxial e migram ao longo do cordão hipoglosso para originar a **musculatura intrínseca e extrínseca da língua**. Os tendões conectados aos músculos e vértebras surgem do **sindétomo**, região do somito entre o desenvolvimento do esclerotomo e miótomo (Fig. 8-3A).

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento do dermotomo e miótomo

O dermotomo é uma estrutura multipotente transitória que origina, sob o controle de diferentes fatores de sinalização, células endoteliais, células musculares lisas vasculares, músculo esquelético incluindo células-satélite, derme dorsal e tecido adiposo marrom. O comprometimento miogênico inicial ocorre com o lábio dorsomedial (DML) em resposta à sinalização Wnt da porção dorsal do tubo neural, sinais notch de células em migração da crista neural, Shh da notocorda e superfície da placa, e ativação da expressão de noggin dentro do DML (Fig. 8-15A). O noggin bloqueia a ação repressiva de Bmps (produzido tanto pelo tubo neural dorsal quanto pelo ectoderma), resultando no início de expressão do Myf5. Durante a miogênese primária, células miogênicas do DML (“células pioneiras”) delaminam-se e entram no miótomo para formar os miócitos pós-mitóticos. Isso segue-se à entrada de células miogênicas a partir de todas as bordas do dermotomo (Fig. 8-15A). Essas células miogênicas fundem-se com as células pioneiras para formar miofibrilas multinucleadas. Os miócitos alinham-se e alongam-se

ao longo do eixo anterior-posterior do miótomo. Este comportamento polarizado é controlado pela expressão Wnt11 do DML, que atua através da via de sinalização do PCP. Durante a miogênese secundária, as células em proliferação, não comprometidas, entram no miótomo pela região central do dermomiótomo, a qual expressa Pax3 e Pax7. As células centrais do dermomiótomo têm caráter bipotencial e dividem-se perpendicularmente ao dermomiótomo: aquelas que entram no miótomo originam as células musculares durante a miogênese secundária no feto, bem como as células-satélite, que originarão miócitos pós-natais. Estas células mantêm a expressão Pax3 e Pax7. As outras células que derivam de tais divisões não expressam esses genes e originam a derme, sob o controle da via de sinalização Wnt canônica.

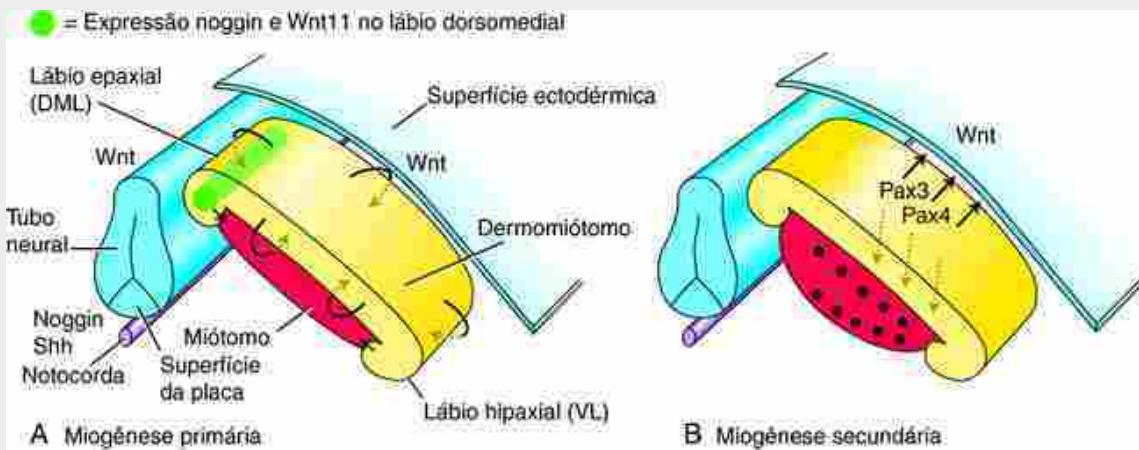


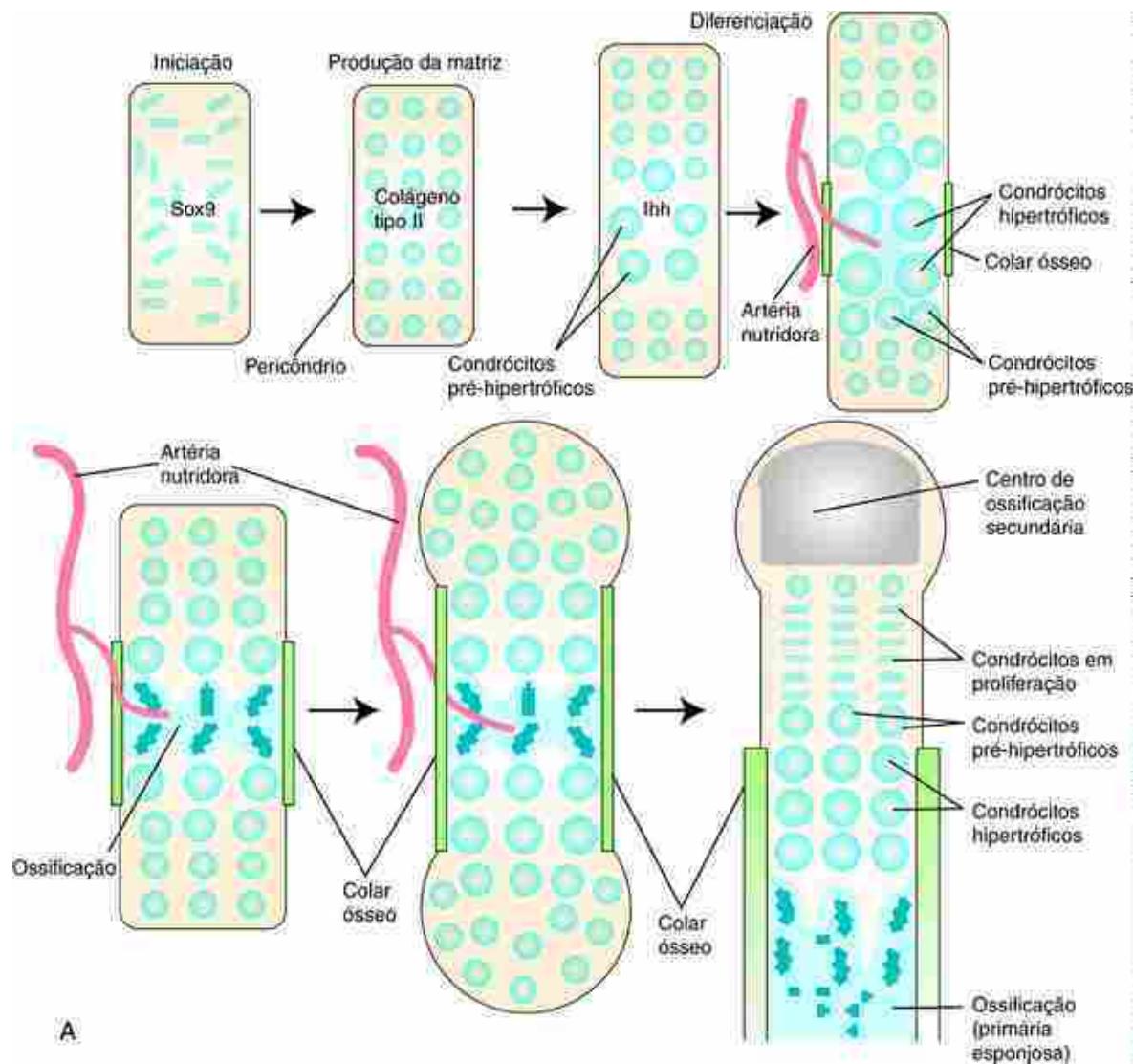
FIGURA 8-15 Desenvolvimento dos miótomas. A, As células miogênicas do miótomo primeiro formam-se das bordas do dermamiótomo (i.e., lábios epaxiais ou dorsomediais; DML, lábios hipaxial e ventrolateral, VL, e limites cranial e caudal) em resposta à sinalização Wnt do ectoderma e porção dorsal do tubo neural; Shh da superfície da placa e notocorda e Notch das células da crista neural em migração (não mostrado), juntos com o antagonista de noggin da sinalização Bmp. As setas indicam a direção dos movimentos celulares do dermomiótomo para o miótomo durante a miogênese primária. Wnt11 (dentro do DML) controla a migração polarizada e alongamento dos miócitos durante o estabelecimento do miótomo. B, População de precursores miogênicos do miótomo a partir da região central do dermamiótomo, os quais expressam Pax3 e Pax7. Estes contribuem para as fases posteriores do crescimento. Os dermamiótomas também originam as células dérmicas. As setas indicam os movimentos celulares do dermomiótomo para o miótomo (setas curvas e retas) durante a miogênese primária (A), e do dermamiótomo no miótomo (setas tracejadas dando origem a células de cor preta) e do dermomiótomo para a derme (setas sólidas) durante o desenvolvimento posterior (B).

A proliferação e diferenciação de células que expressam Pax3/Pax7 é controlada pela notch, Fgfs e miostatina. O notch é necessário para a autorrenovação celular, enquanto Fgfs e miostatina promovem diferenciação terminal (também conhecido como Gdf8, fator 8 de crescimento e diferenciação, um membro da família Tgf β). Mutações que ocorrem naturalmente na **miostatina** são observadas em gados musculosos, como o Belgian Blue e o Paimontês, e na raça Texel de ovelhas. Essa musculatura desenvolvida é consequência de hiperplasia e hipertrofia muscular. Mutações na miostatina também foram relatadas na raça de cachorros Whippet; Whippets heterozigotos para mutações de miostatina são capazes de correr mais rapidamente. Mutações MIOSTATINA também foram relatadas em seres humanos e estão associadas a aumento da força muscular.

Desenvolvimento dos ossos longos e das articulações

Com exceção da parte da clavícula, os ossos dos membros e das cinturas (constituem o **esqueleto apendicular**) são formados pelo processo de **ossificação endocondral**. Parte da clavícula, ao contrário, é um osso membranoso.

A maior parte dos ossos endocondrais dos membros é constituída de ossos longos. Sua formação tem início com a condensação de células mesenquimais, as quais se caracterizam pela expressão Sox9 (o desenvolvimento dos ossos longos está resumido na Fig. 8-16A). Em resposta a fatores de crescimento **condrócitos**, diferenciam-se dentro do mesenquima e iniciam a síntese de moléculas características da matriz extracelular cartilaginosa, como o colágeno tipo II e proteoglicanos.



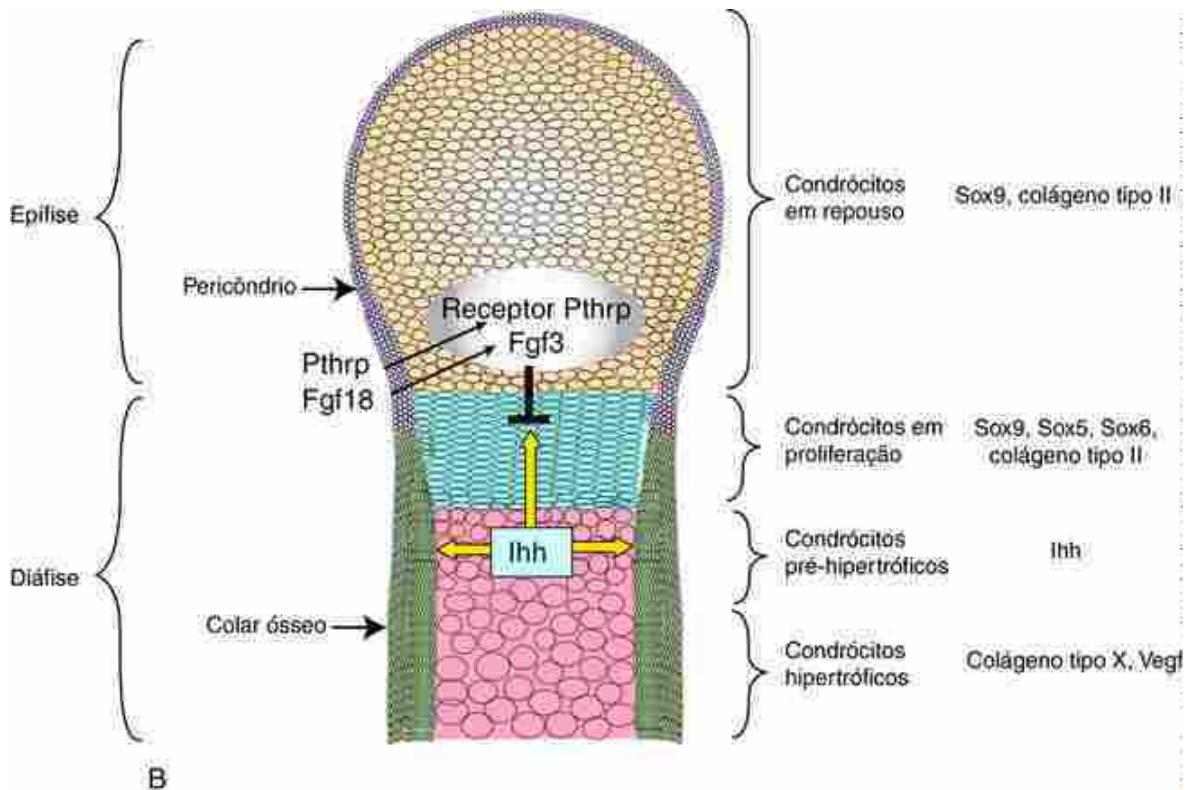


FIGURA 8-16 Desenvolvimento dos ossos longos. A, Resumo dos eventos. B, Quatro camadas distintas de condrócitos no desenvolvimento de elementos cartilaginosos. Hedgehog indian (Ihh), proteína relacionada com o hormônio paratireóideo (Pthrp) e Fgf18 são três genes essenciais que regulam a diferenciação de condrócitos.

Formam-se camadas distintas de condrócitos pré-hipertróficos e, depois, hipertróficos (Fig. 8-16A). As células progenitoras da cartilagem em crescimento (condrócitos em repouso) localizam-se nas extremidades, ou **epífises**, do osso longo (Fig. 8-16B). Na região central, ou **diáfise**, do osso longo há uma camada de condrócitos em proliferação, seguida por uma zona **pré-hipertrófica** na qual os condrócitos aumentaram de tamanho. Finalmente, na região central estão os condrócitos aumentados, ou **hipertróficos**, diferenciados terminalmente, já envolvidos por matriz calcificada (Fig. 8-16A, B). Condrócitos hipertróficos expressam colágeno tipo X.

Após a diferenciação terminal (*i.e.*, hipertrofia), o processo de **ossificação** começa no **centro de ossificação primária** do osso longo (Fig. 8-16A). A ossificação começa quando o osso em desenvolvimento é invadido por múltiplos vasos sanguíneos provenientes da vasculatura do membro (Cap. 13). Um desses vasos torna-se dominante e origina a **artéria nutriente** que nutre o osso. O estabelecimento da vasculatura traz para o osso células pré-osteoblásticas que se diferenciam em osteoblastos e substituem os condrócitos hipertróficos. Os osteoblastos depositam colágeno tipo I e matriz mineralizada. A ossificação se espalha a partir do centro primário de ossificação em direção às epífises do blastema cartilaginoso, formando uma **rede frouxa de trabéculas ósseas**.

Além de osteoblastos, os vasos sanguíneos também trazem células denominadas **osteoclastos**, que reabsorvem o tecido ósseo anteriormente formado. Essas células são importantes para a remodelação do osso em crescimento. Os ossos são continuamente remodelados durante todo o desenvolvimento e na vida adulta.

A região que envolve a diáfise ossifica-se formando um colar de **tecido ósseo primário** em torno da circunferência do osso. Este colar de osso primário torna-se mais espesso com a diferenciação de osteoblastos em camadas progressivamente mais periféricas ao pericôndrio, constituindo o **osso cortical**.

Ao nascimento, as **diáfises** – ou porções mais longas dos ossos dos membros (constituídas de um colar de osso compacto e um eixo central trabecular) – estão completamente ossificadas, ao passo que as extremidades dos ossos, denominadas **epífises**, ainda são cartilaginosas. Após o nascimento, formam-se nas epífises **centros secundários de ossificação** que se ossificam gradualmente (Fig. 8-16A). No entanto, uma camada de cartilagem denominada **placa de cartilagem epifisiária (placa de crescimento)** persiste entre a epífise e a extremidade em crescimento da diáfise (metáfise). Na placa de cartilagem epifisiária estão presentes zonas distintas de condrócitos (proliferativa, pré-hipertrófica e hipertrófica), e, como o crescimento ocorre predominantemente ao longo do eixo maior do osso, os condrócitos estão dispostos em colunas (Fig. 8-16A). Na placa de crescimento, a proliferação continuada dos condrócitos, seguida pela diferenciação e substituição por osso, possibilita o crescimento (alongamento) da diáfise. Finalmente, quando o crescimento do corpo está completo, com cerca de 20 anos de idade, a placa de crescimento

epifisiária encontra-se totalmente ossificada.

O processo de ossificação é semelhante em outros ossos endocondrais, embora alguns elementos cartilaginosos, tais como as cartilagens da laringe, discos intervertebrais e pavilhão auricular, não se ossificarem. As cartilagens condrocostais também permanecem não ossificadas até cerca de 50 anos de idade.

A [Figura 8-17](#) ilustra o processo de desenvolvimento das **articulações diartroses (sinoviais)**, que conectam os ossos dos membros. Inicialmente, o mesenquima das interzonas entre os primórdios cartilaginosos do osso diferenciam-se em **tecido fibroso** (tecido conjuntivo indiferenciado). Em seguida, as extremidades proximais e distais deste tecido diferenciam-se em **cartilagem articular**, revestindo ambos os lados do osso primordial da articulação, os quais são separados por uma região de tecido conjuntivo denso. O tecido conjuntivo dessa região central origina os elementos internos da articulação. Proximal e distalmente, ele se condensa para formar o **tecido sinovial** que revestirá a futura cavidade articular. A zona central origina os **meniscos** e **ligamentos articulares**, como os ligamentos cruzados do joelho. Na região central do tecido conjuntivo formam-se vacúulos que coalescem formando uma cavidade, a **cavidade sinovial**, preenchida por um líquido lubrificante e antiaderente que permite o movimento da articulação. A cápsula articular também origina-se do tecido mesenquimal que envolve toda a interzona.

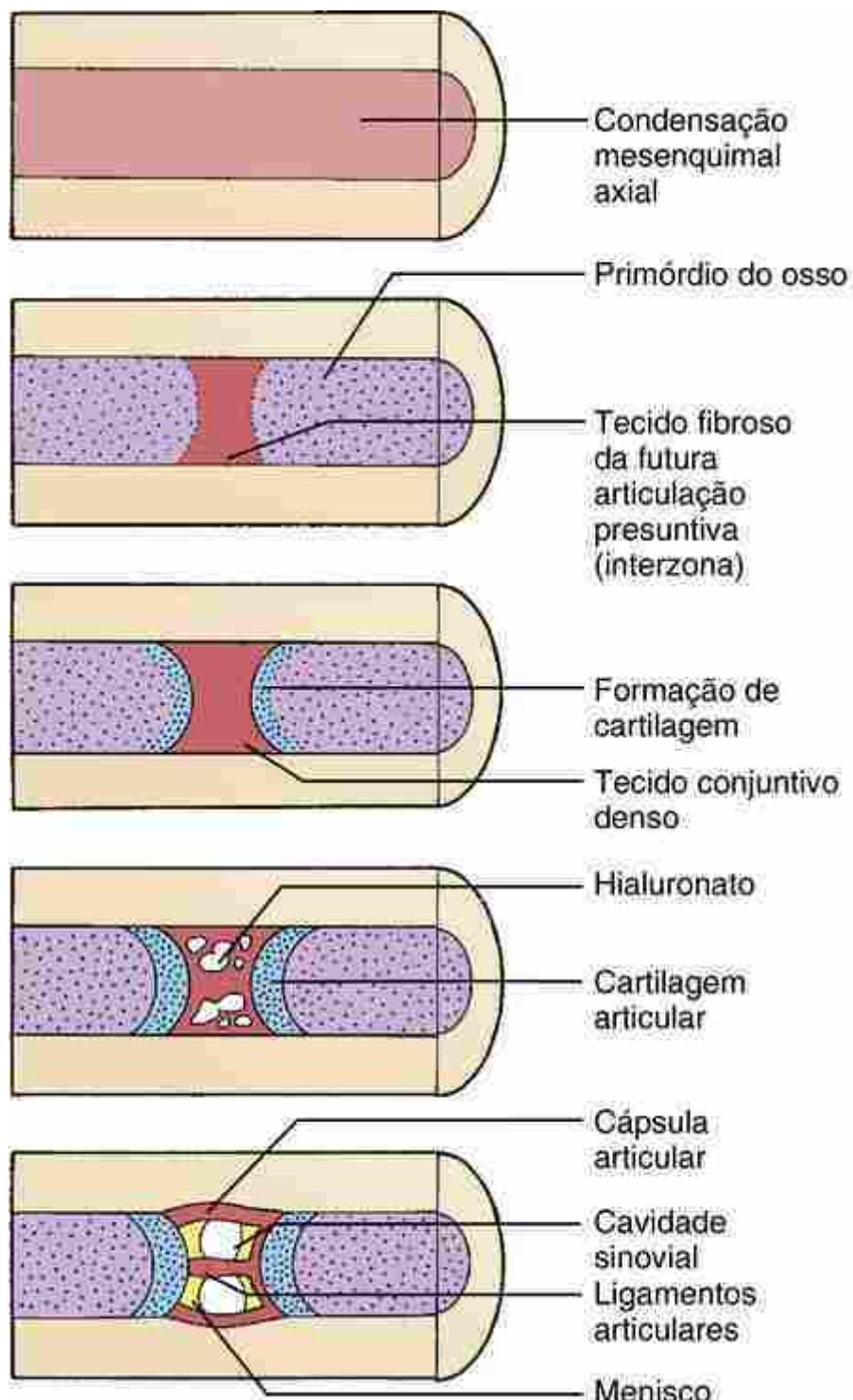


FIGURA 8-17 Formação das articulações. Cartilagem, ligamentos e elementos capsulares das articulações desenvolvem-se a partir das condensações mesenquimais axiais das regiões de interzonas, que formam os ossos longos dos membros.

Articulações do tipo **sincodrose** ou **articulações fibrosas**, como as que unem os ossos da pelve, também desenvolvem-se a partir de interzonas. No entanto, o mesênquima interzona diferencia-se apenas em uma única camada de fibrocartilagem.

No Laboratório de Pesquisa

Regulação molecular óssea e desenvolvimento da articulação

O conhecimento do desenvolvimento esquelético não é apenas essencial para o entendimento das síndromes

humanas, mas também pode ser utilizado na elaboração de estratégias para patologias pós-natais, como a perda de massa óssea após a menopausa e a degeneração da cartilagem articular, que têm capacidade de regeneração limitada. Além disso, sabe-se hoje que o endurecimento de uma artéria ocorre como resultado da ativação da sinalização Bmp e expressão do Runx2 nas células musculares lisas. Neste caso, os processos embrionários são recapitulados erroneamente no adulto, causando a doença e a patologia.

A condrogênese requer sinalização Bmp e Fgf, que resulta na condensação de células devido ao aumento da expressão de moléculas celulares como N-caderina. As células condensadas iniciam a expressão de Sox9, que, por sua vez, regula a expressão de colágeno do tipo II (Fig. 8-16A). Na ausência de Sox9 não ocorre a condensação de células cartilaginosas. Sox5 e Sox6, que são coexpressos com Sox9 ligeiramente mais tarde durante a diferenciação, são também necessários para a condrogênese (Fig. 8-16B). Em ratos mutantes Sox5 e 6, o estágio precoce de condensação da cartilagem ocorre, mas as células não se diferenciam.

Uma vez que os condrócitos e o pericôndrio — tecido conjuntivo com fibroblastos que envolve o tecido cartilaginoso — tenham se formado, o desenvolvimento do esqueleto passa a envolver uma interação entre o pericôndrio e os condrócitos (Fig. 8-16B). A expressão do Sox9, que inibe a pré-hipertrofia, agora se torna restrita aos condrócitos epifisários. Como as células se dividem, a orientação e o empilhamento dos condrócitos são controlados pela sinalização Wnt-PCP. Indian hedgehog (Ihh), Fgf 18 e proteína relacionada com o hormônio da paratireoide (PthP) são os três reguladores moleculares imprescindíveis no controle da taxa de proliferação e maturação dos condrócitos. Fgf18 é expresso pelo pericôndrio e reduz a proliferação e diferenciação dos condrócitos achados/proliferando, os quais expressam Fgfr3. A via de sinalização Fgfr3 induz a expressão de p21, um inibidor de ciclo celular. Na ausência de Fgf18 ou Fgfr3, ocorre uma zona de proliferação expandida e um aumento no comprimento dos ossos, enquanto a superexpressão na sinalização Fgf resulta em encurtamento dos ossos dos membros (veja o quadro “Na Clínica” intitulado “Defeitos no Desenvolvimento Esquelético”).

Ihh é expresso pelo condrócito pré-hipertrófico que sinaliza para o pericôndrio periarticular que induz a expressão de Pthrp. Pthrp expressa de volta sinais para condrócitos pré-hipertróficos e em proliferação, que expressam o receptor Pthrp. Esse retorno de sinalização impede a hipertrofia. Ihh também promove a proliferação de condrócitos independentemente de Pthrp. Tanto em humanos quanto em camundongos, mutações no Ihh ou Pthrp resultam em membros curtos devido à hipertrofia e depleção de um conjunto de progenitores.

Fatores de transcrição Runx2 e Runx3 são necessários para a hipertrofia. A hipertrofia é induzida pela via de sinalização canônica de Wnt e Ihh e é inibida por Bmps. Runx2 induz a expressão de colágeno tipo X e do fator de crescimento do endotélio vascular (Vegf), o qual, como em outras regiões do corpo, promove vascularização (Cap. 13).

As articulações surgem a partir do desenvolvimento da interzona, a qual é caracterizada pela expressão do fator de crescimento do desenvolvimento (Gdf) 5/6 (membros da família Bmp), noggin (um antagonista Bmp) e Wnts (especialmente, Wnt9a — anteriormente denominado Wnt14 — e Wnt4), o qual atua via sinalização de β-catenina (Fig. 8-18). Estudos de mapeamento de destino têm demonstrado que a interzona origina a cartilagem articular, revestimento sinovial, ligamentos e cápsula tecidual. Na interzona da articulação, antagonistas de Bmp e Wnt regulam o desenvolvimento da articulação impedindo a diferenciação condrogênica, enquanto Gdf5/6 promove a condrogênese. Assim, a interzona da articulação é caracterizada pelas atividades condrogênica e anticondrogênica, que podem ser necessárias para o desenvolvimento de diferentes tipos celulares no interior da articulação em desenvolvimento (p. ex., cartilagem articular *versus* células sinoviais). Acredita-se que, para manter o fenótipo dos condrócitos articulares, o fator de transcrição Erg, também expresso na interzona, previne a diferenciação terminal de condrócitos.



FIGURA 8-18 Expressão de Gdf5 no desenvolvimento nas interzonas das articulações do autópole.

Seguindo especificação da articulação, a sua cavitação para formar a cavidade articular (sinovial) é conseguida pela secreção de hialuronato (também denominado ácido hialurônico, um glicosaminoglicano que pode prontamente absorver água, criando assim espaços no tecido). O movimento promove a síntese de ácido hialurônico; se o movimento é impedido durante o desenvolvimento (p. ex., por uma paralisia neuromuscular), as articulações ou não cavitam, ou, se já tiverem sido iniciadas, elas se fundem e a articulação torna-se imóvel. Portanto, a perda de movimento devido a um espaço restrito (p. ex., pouco fluido amniótico) pode contribuir para a **arthrogripose** – fusão, endurecimento ou deformação das articulações.

O desenvolvimento ósseo endocondral e o desenvolvimento articular são interconectados. Por exemplo, a perda de sinalização Ihh afeta a morfogênese articular assim como as interzonas não se formam adequadamente. Por outro lado, fatores de desenvolvimento articular, como Gdf5, sinalizam para elementos esqueléticos adjacentes a fim de controlar a proliferação de condrócitos. Isso explica o encurtamento dos elementos cartilaginosos apendiculares em braquiópodes, camundongos mutantes para GDF5 e em seres humanos com mutações GDF5 (veja o quadro “Na Clínica” intitulado “Defeitos no Desenvolvimento Esquelético”).

O desenvolvimento osteoblástico é controlado por fatores de transcrição, Runx2 e osterix, e necessita da sinalização canônica Wnt, Ihh, e Tgf β /Bmp (veja o quadro “Na Clínica” intitulado “Defeitos no Desenvolvimento Esquelético”). Runx2诱导 a diferenciação inicial dos pré-osteoblastos, impedindo assim a formação de outros tipos celulares a partir dessas células mesenquimais precursoras, enquanto a sinalização de β -catenina e osterix é necessária para dar continuidade à diferenciação em osteoblastos. A diferenciação terminal de osteoblastos (ou seja, a formação de osteócitos) requer o fator de transcrição Atf4.

O desenvolvimento de osteoclastos depende de osteoblastos. Inicialmente, os osteoblastos expressam o fator estimulador de colônias de macrófagos, o qual promove a proliferação e sobrevivência de precursores de osteoclastos e regula a expressão de um receptor denominado Rank (receptor de ativação do fator nuclear kappa B). Os osteoblastos também expressam o ligante Rankl, o qual se liga ao receptor Rank presente na membrana dos precursores dos osteoclastos. Esta interação promove a diferenciação dos osteoclastos e a ativação dos osteoclastos maduros. Enfatizando essa importância, a inativação do gene de Rank ou Rankl resulta em uma completa ausência de osteoclastos.

Na Clínica

Defeitos no desenvolvimento esquelético

Defeitos no desenvolvimento esquelético podem ser resultado de defeitos na sinalização de fatores de crescimento (p. ex., FGF e GDF5), fatores de transcrição (p. ex., SOX9 e RUNX2) e componentes-matriz (COLÁGENO TIPO I, II e X). Esses defeitos podem incluir síndromes nas quais todos os ossos endocondrais são afetados, como na **acondroplasia**. Alternativamente, esses defeitos podem incluir condições nas quais um subconjunto de estruturas do esqueleto é afetado, como na **condroplasia do tipo Grebe** (Fig. 8-19), que atinge especificamente o esqueleto dos membros, ou como nas síndromes de displasia espondilocostal, discutida inicialmente neste capítulo. De modo semelhante, ossos membranosos podem ser especificamente afetados como na **craniossinostose** (discutida no primeiro quadro “Na Clínica” do Cap. 17, intitulado “Craniossinostose”). Defeitos no desenvolvimento esquelético podem estar associados a alterações no estabelecimento de padrões, como em algumas anormalidades espondilocostais (outros exemplos são discutidos no Cap. 20), ou podem refletir mudanças intrínsecas nos tecidos esqueléticos. As diferentes síndromes esqueléticas estão resumidas na Figura 8-20.

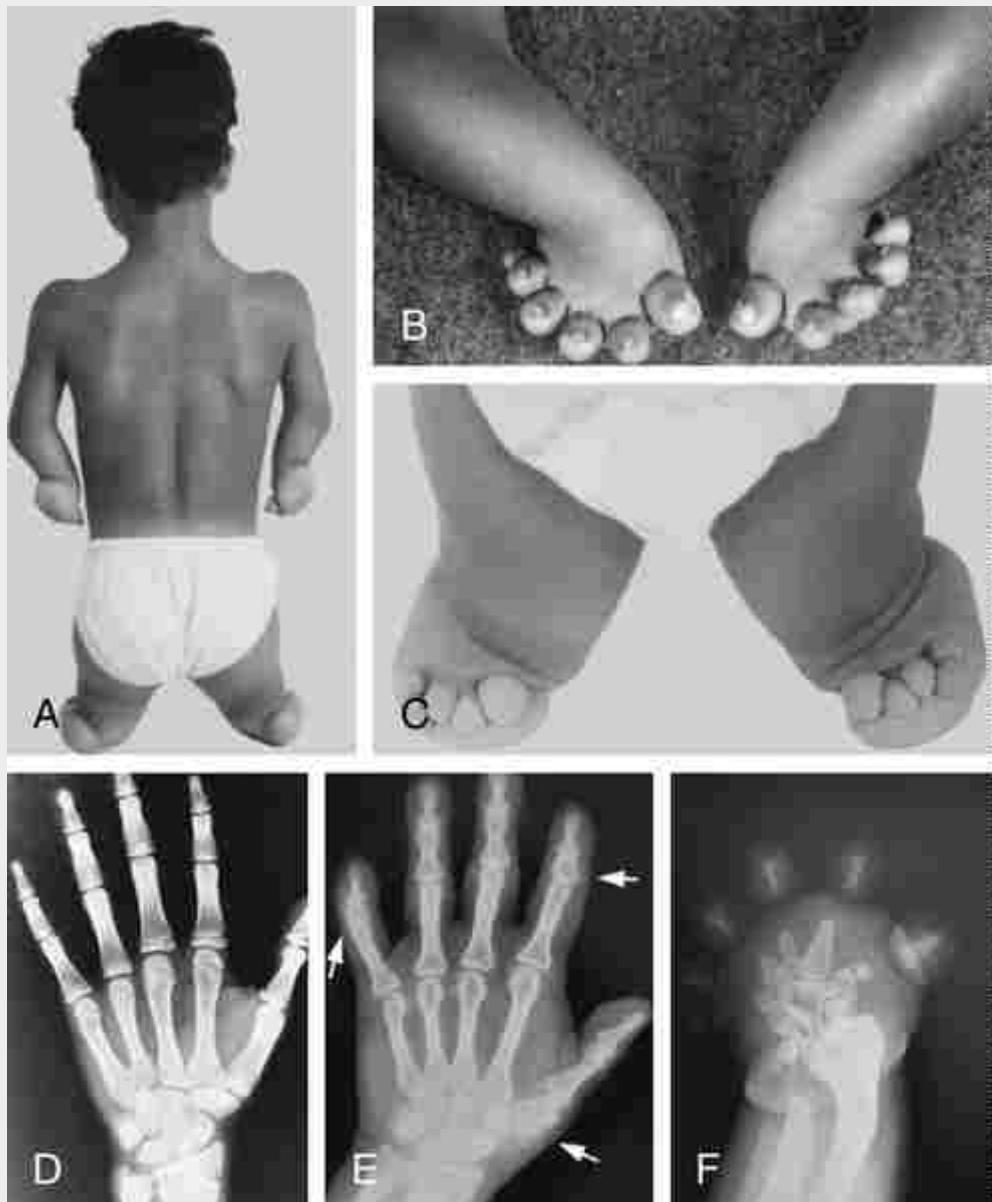


FIGURA 8-19 Mutações no GDF5 causam condrodisplasia tipo Grebe. Todas as anormalidades esqueléticas são restritivas aos membros. *A*, Garoto de 10 anos com uma mutação GDF5 mostrando graves anomalias nos membros inferiores e membros superiores. *B, C*, Vistas ampliadas de membros superiores e inferiores, respectivamente. *D*, Raios X da mão normal de uma criança de 10 anos. *E*, Raios X da mão de uma criança com uma mutação heterozigota; observe o encurtamento dos elementos das falanges (assinalada pelas setas). *F*, Raios X da mão de uma criança com uma mutação homozigota mostrando anomalias graves do carpo e das falanges, bem como anomalias distais da ulna e do rádio.

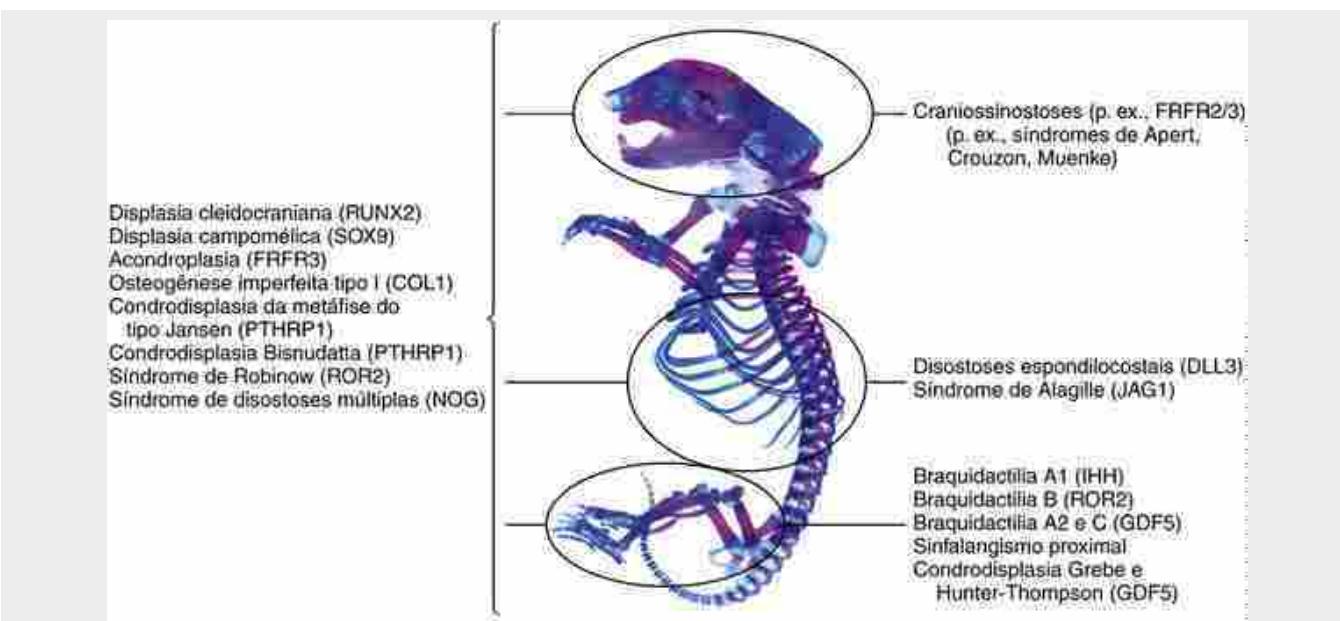


FIGURA 8-20 Esquema mostrando que diferentes mutações genéticas em seres humanos afetam diferentes regiões do esqueleto (o esqueleto mostrado é de um rato).

A **acondroplasia**, uma síndrome autossômica dominante, é a forma mais comum de nanismo (Fig. 8-1). É caracterizada pelo encurtamento dos ossos longos, uma face pequena resultante de defeitos na base craniana (esta última derivada de ossos endocondrais, como discutido no Cap. 17) e curvatura da coluna vertebral. A acondroplasia é resultado de uma mutação na ativação do FATOR DE CRESCIMENTO DO RECEPTOR 3 DE FIBROBLASTO (FCRF3). Mutações no FCRF3 também podem ocasionar síndromes neonatais mais graves, como a **displasia tanatofórica tipos I e II** e outras síndromes esqueléticas. Modelos animais com mutações na ativação de FCRF3 foram utilizados para demonstrar que o crescimento esquelético anormal ocorre devido à diminuição na proliferação de condrócitos (veja o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Regulação Óssea e Desenvolvimento da Articulação”).

Por outro lado, algumas síndromes afetam grupos definidos de ossos. Exemplos típicos são a **condroplasia tipo Hunter-Thompson** e **Grebe** e **braquidactilia tipo C e A2** (Figs. 8-19 e 8-20). Todas essas síndromes são caracterizadas pelo encurtamento do esqueleto dos membros (braquidactilia significa dedos curtos) e perda de alguns conjuntos. Todas elas resultam de mutações no GDF5. Como outras Bmps, GDF5 promove a condrogênese pelo aumento do tamanho da condensação inicial de condrócitos e aumento na proliferação deles. As síndromes de Hunter-Thompson e Grebe podem afetar todos os elementos do esqueleto dos membros, com gravidade crescente na direção proximal-paradistal; nas síndromes da braquidactilia, somente as falanges são afetadas (encurtadas). As síndromes de Hunter-Thompson e Grebe são autossômicas recessivas, mas a condroplasia do tipo Grebe é mais grave do que a do tipo Hunter-Thompson. Isso é atribuído às diferentes mutações no gene GDF5 (denominada **correlação genótipo-fenótipo**). Acredita-se que a condrodisplasia Hunter-Thompson seja causada por perda de função, enquanto na condrodisplasia do tipo Grebe a proteína GDF5 mutada é capaz de formar dímeros com outros membros Bmp, que não podem ser secretados. Portanto, a síndrome de Grebe resulta na perda de função GDF5, como na síndrome Hunter-Thompson, jutamente com um efeito negativo dominante sobre outros membros da família Bmp. Os fenótipos da braquidactilia são mais brandos nesta síndrome, pois somente uma cópia do gene GDF5 sofre mutação/perda de função.

Mutações GDF5 são também encontrados no **sinfalangismo proximal** autossômico dominante – uma fusão de articulações interfalângicas, pulso e tornozelo. A análise de uma dessas mutações demonstrou que ela é uma mutação ganho-de-função, com uma proteína mutante mostrando aumento da ligação ao receptor BMPR1. Parece que a perda da articulação pode estar relacionada com a condrogênese excessiva. Mutações em NOGGIN, um antagonista de Bmp, também resultam em sinfalangismo proximal e na **síndrome múltipla sinostose tipo 1**, que é caracterizada pela fusão das articulações dos membros e por anomalias craniofaciais tipificadas pela perda auditiva condutiva e um nariz largo. Essa síndrome pode também envolver sinostoses das vértebras. Do mesmo modo, um camundongo com mutação noggin tem múltiplas fusões de ossos tanto no esqueleto apendicular quanto no axial. O estudo dessas mutações esqueléticas em humanos nos ensinou que o aumento da atividade de Bmp/GDF5 causa fusões nas articulações e que o bloqueio na atividade de Bmp é necessário tanto para o desenvolvimento normal das articulações no embrião quanto para a manutenção da cavidade articular após o nascimento. Não está esclarecido ainda por que a mutação, com perda de função do GDF5, pode resultar na ausência de algumas

articulações.

Outro exemplo notável do papel da sinalização Bmp durante a ossificação endocondral é mostrado na síndrome **fibrodisplasia ossificante progressiva** (FOP), que ocorre devido a uma ativação mutante no receptor de Bmp, AVCR1. Na FOP seguida de lesão e inflamação ocorre, em músculos e tecidos conjuntivos, a formação de um tecido ósseo ectópico que usualmente resulta em morte aos 40 anos de idade.

A diminuição de número de osteoblastos funcionais e/ou um aumento no número de osteoclastos resulta em **osteoporose**, perda de massa óssea associada ao aumento da fragilidade esquelética e fraturas ósseas. A situação inversa resulta em excesso de massa óssea ou **osteopetrosse**. Mutações na PROTEÍNA RECEPTOR LIPOPROTEÍNA, LRPS, um correceptor Wnt, resulta em aumento na massa óssea ou em diminuição da massa óssea (**síndrome de osteoporose pseudoganglioma**), ambas atribuídas a alterações no desenvolvimento dos osteoblastos. Wnts e Lrp5 controlam a proliferação, diferenciação e sobrevivência dos osteoblastos, e as mutações em LRP 5 que resultam na diminuição da massa óssea são causadas pela perda de função LRP5. Pesquisas recentes têm demonstrado que Lrp5 é tanto necessário para as células enterocromafins do trato gastrointestinal, para aumentar os níveis de serotonina circulante, quanto para controlar diretamente o desenvolvimento de osteoblastos a partir do receptor Hltr18.

Mutações em LRPS que resultam em ganho de massa óssea afetam a capacidade do antagonista de Wnt DICKKOF 1 de se ligar ao receptor LRPS e bloquear a via de sinalização Wnt. Consequentemente, essas mutações resultam em aumento da via de sinalização Wnt, via β-CATENINA. Outras mutações que resultam em osteoporose incluem aquelas que afetam aspectos diferentes da função osteoclástica. Mutações na bomba de prótons vacuolar, como na **osteopetrosse maligna infantil**, impedem o estabelecimento de um ambiente ácido necessário para solubilizar a matriz mineral. A CATEPSINA K é uma enzima secretada pelos osteoclastos que funciona em pH baixo para degradar resíduos orgânicos expostos. Mutações em CATEPSINA K resultam em **picnodisostose**, outra condição com consequência no aumento da massa óssea.

Além de mutações em genes expressos em tecidos esqueléticos, defeitos em tecidos fora do esqueleto podem afetar o seu desenvolvimento. O crescimento pós-natal é regulado por hormônios e defeitos na glândula pituitária (hipófise), como na **acromegalia**, uma condição na qual há um aumento na produção de hormônios e pode-se observar o aumento do tamanho das mãos, pés e rosto.

Desenvolvimento da musculatura dos membros

Os músculos axiais do tronco e os músculos dos membros desenvolvem-se de modo semelhante. Ambos os grupos de músculos originam-se de miótomas dos somitos e migram ventralmente – saem da parede dorsolateral do corpo e vão para a parede ventral do corpo, no caso da musculatura axial, e ventralmente para os brotos dos membros, no caso da musculatura apendicular. Ambos os grupos de músculos são inervados pelos nervos espinhais que margeiam o nível de origem (por ramos dorsais e ventrais no caso dos músculos axiais, e somente pelos ramos ventrais no caso dos músculos dos membros). Como foi discutido nos [Capítulos 10 e 11](#), o músculo do diafragma também origina-se de miótomas dos somitos (especificamente dos miótomas cervicais 3, 4 e 5). Portanto, quando o diafragma desce para formar uma parede separando a cavidade pleural da abdominal, ele traz junto sua inervação – o **nervo frênico** –, o que explica por que uma estrutura torácica/abdominal é inervada por um nervo que se origina na região cervical.

Em embriões humanos, a migração de precursores miogênicos para os brotos dos membros tem início durante a 5^a semana do desenvolvimento. Os mioblastos invasores formam duas grandes condensações, dorsal e ventral, no broto do membro ([Fig. 8-21](#)). A massa dorsal muscular origina, em geral, os **extensores** e **supinadores** dos membros superiores e os **extensores** e **abdutores** dos membros inferiores, enquanto a massa ventral muscular origina os **flexores** e **pronadores** dos membros superiores e **flexores** e **abdutores** de membros inferiores ([Tabela 8-1](#)). Estudos experimentais em modelos animais demonstram que essas células progenitoras, ao migrarem em direção ao broto do membro, apresentam bipotencialidade, podendo originar miócitos e/ou células endoteliais (veja o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Migração de Músculos Progenitores”). De forma contrária aos músculos dos membros, os quais surgem dos miótomas somáticos, os tendões dos membros originam-se da placa lateral mesodérmica.

Tabela 8-1**Derivados da massa muscular ventral e dorsal dos brotos dos membros**

Massa Muscular Ventral	Massa Muscular Dorsal
Membro Superior	Membro Superior
Compartimento anterior do braço e antebraço	Músculos do compartimento posterior do braço e antebraço
Todos os músculos na superfície palmar da mão	Deltóide Músculos do compartimento lateral do antebraço e da mão Grande dorsal Romboide Levantador da escápula Serrátil anterior Redondo maior e menor Subescapular Supraespinhosos Infraespinhal
Membro inferior	Membro inferior
Músculos do compartimento medial da coxa Músculos do compartimento posterior da coxa, exceto as cabeças curtas do bíceps femoral Músculos do compartimento posterior da perna Todos os músculos da superfície plantar dos pés Obturador interno Gêmeo superior e inferior Quadrado femoral	Músculos do compartimento anterior da coxa e perna Tensor da fáscia lata Cabeça curta do bíceps femoral Músculos do compartimento lateral da perna Músculo do dorso dos pés Glúteo máximo, médio e mínimo Piriforme Ilíaco Psoas

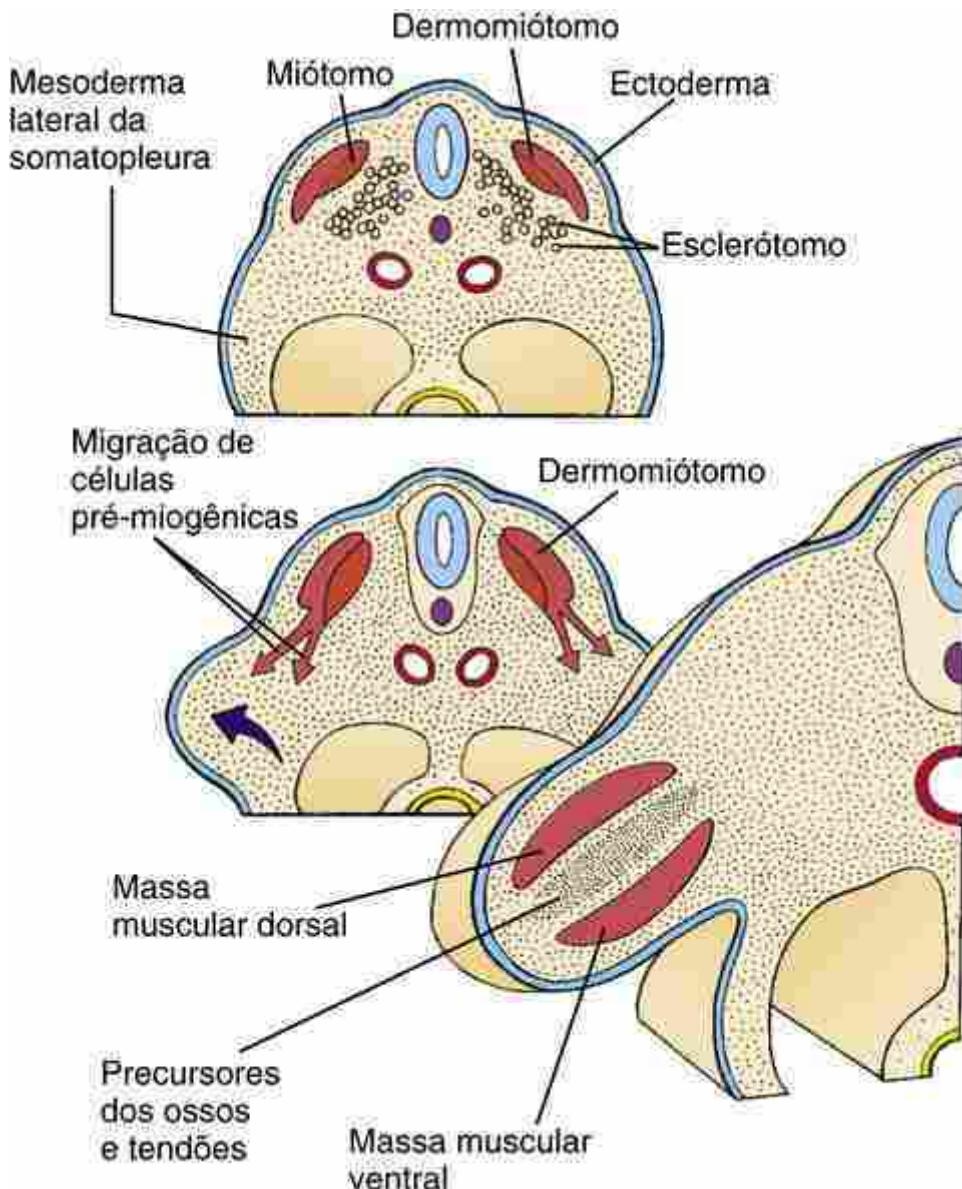


FIGURA 8-21 Logo após o crescimento do broto do membro a partir do mesoderma lateral da somatopleura (seta azul-escura), os progenitores musculares (ou seja, as células pré-miogênicas) migram do dermomiótomo e entram no broto do membro, formando inicialmente duas principais massas musculares. A massa muscular ventral origina principalmente os flexores, pronadores e adutores, enquanto a massa muscular dorsal dá origem principalmente aos extensores, supinadores e abdutores.

No Laboratório de Pesquisa

Migração dos progenitores musculares

Experimentos clássicos de recombinação codorna-pinto (Cap. 5) mostraram que as células miogênicas dos membros originam-se a partir dos somitos. Portanto, se um somito de codorna for transplantado para um pinto hospedeiro, os músculos dos membros serão originados da codorna (Fig. 8-22). Experimentos como este têm demonstrado que os músculos dos membros são padronizados por tecidos conjuntivos circundantes, como ocorre em outras regiões do corpo.

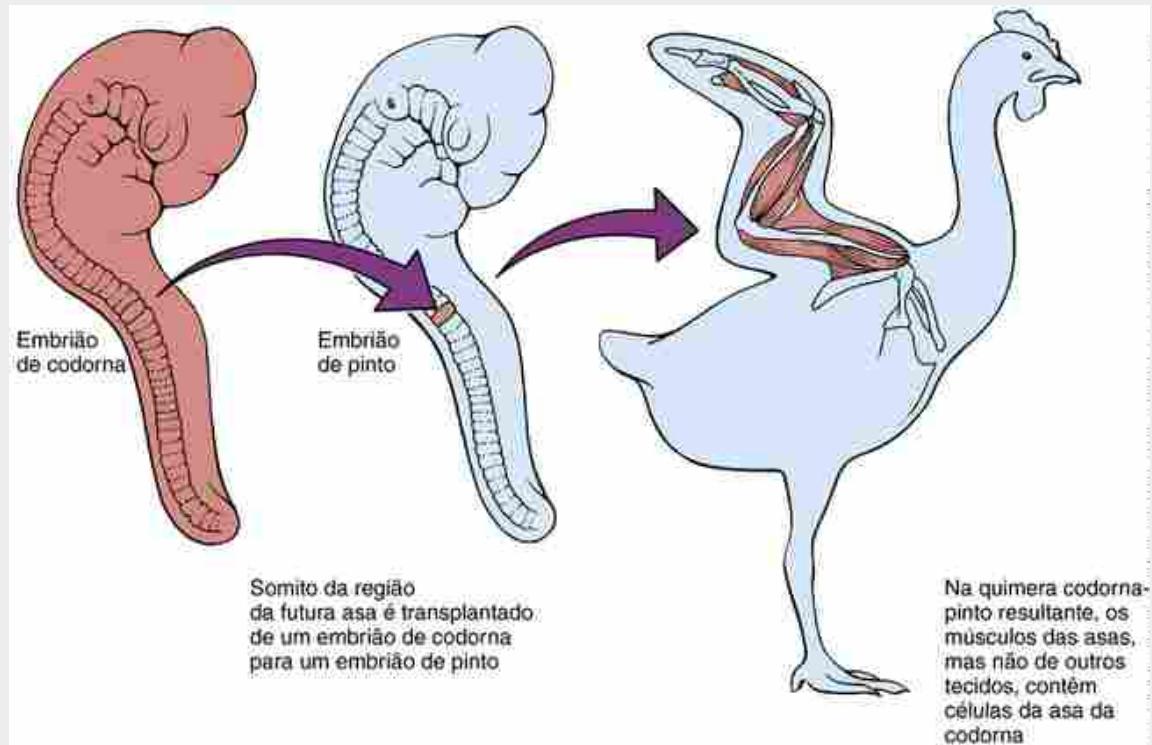


FIGURA 8-22 Esquema mostrando um experimento de rastreamento de células que utiliza quiremas de transplante codorna-pinto. Esta experiência demonstrou que a musculatura dos membros se origina do mesoderma somítico, enquanto os ossos dos membros se originam da placa lateral de mesoderma. Somitos de codorna transplantados para o nível axial, no qual os brotos dos membros se formam, dão origem aos miócitos dos membros.

Como discutido inicialmente neste capítulo, as células miogênicas que originam os músculos dos membros, língua e diafragma se delaminam do miótomo e migram para os seus respectivos ambientes finais. A delaminação e a migração de progenitores musculares necessitam de vários fatores. No broto do membro (Fig. 8-23) esses fatores incluem Pax3 (um fator de transcrição paired-box), c-Met (um proto-oncogene, que representa um gene normal que, quando mutado, pode tornar-se um oncogênio, resultando no desenvolvimento de um câncer), Hgf (fator de crescimento de hepatócitos)/scatter factor e Lbx1 (homólogo do gene da fêmea de *Drosophila*, um fator de transcrição homeobox). Em resposta à sinalização Hgf no broto inicial do membro, células que expressam c-Met no dermomiótomo somítico delaminam e iniciam a migração. Pax3 regula a expressão de c-Met, o receptor HGF necessário para a migração. Por isso, no camundongo **Splotch (Pax3 mutante)** os músculos dos membros estão ausentes (inclusive o diafragma). O fator de transcrição Lbx1 é também requerido. Em mutantes para Lbx1, precursores miogênicos delaminam, mas não migram adequadamente; consequentemente, os músculos dos membros posteriores estão totalmente ausentes, mas os músculos flexores (massa muscular ventral) formam-se nos membros anteriores. Uma vez dentro do broto do membro, as células pré-miogênicas proliferam (requerem vários genes como listados na Fig. 8-23) e se tornam comprometidas com a via miogênica. Esse comprometimento requer Pax3, que regula a expressão do Myf5 (discutido inicialmente neste capítulo). Meox2 (um gene homeobox; também denominado Mox2) é necessário para desenvolvimento adequado de um número de células miogênicas nos membros; o que, por sua vez, leva à formação de uma gama completa de músculos e de membros normais; na ausência da função Meox2, alguns dos músculos dos membros não se formam ou apresentam um padrão anormal.

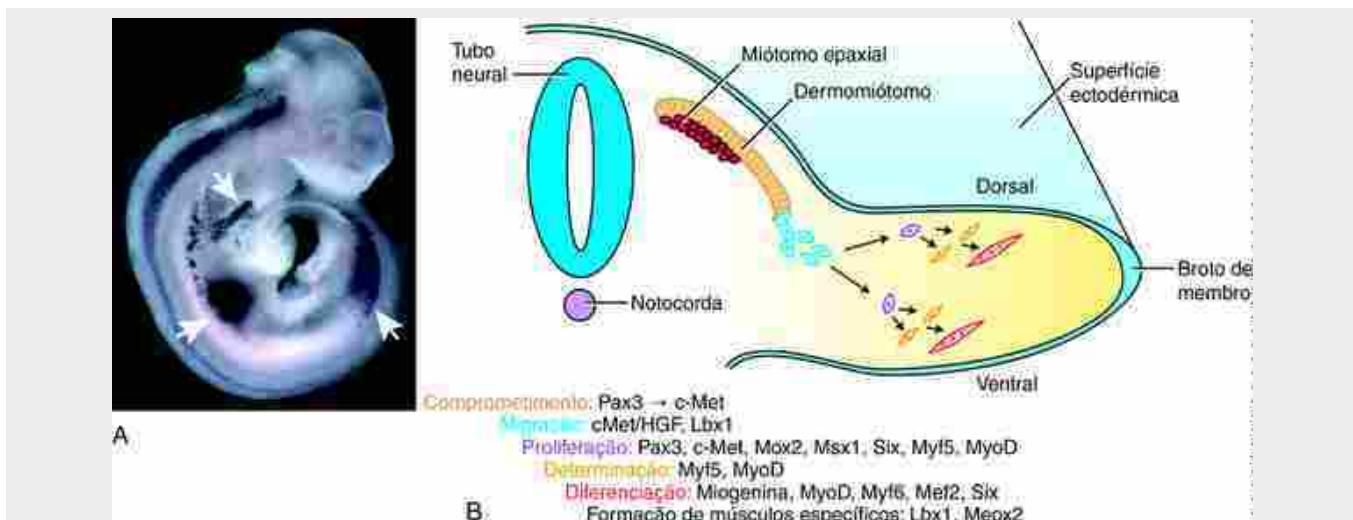


FIGURA 8-23 Regulação da miogênese do membro. A, Expressão do Lbx1, um gene necessário para a migração de precursores musculares do membro e da língua (setas). B, Esquema mostrando os reguladores moleculares da miogênese dos membros.

Estudos de mapeamento de destino têm mostrado o resultado surpreendente de que a massa ventral do músculo do membro posterior também origina a musculatura do períneo (*i.e.*, músculos localizados na região do perineal). Estes músculos incluem o esfíncter externo anal, o músculo períneo transverso superficial, o músculo isquiocavernoso, o músculo bulboesponjoso, o músculo períneo transverso profundo e o músculo do esfíncter da uretra. Durante a sua formação, os futuros músculos perineais deslocam-se caudalmente dos membros posteriores para a região do períneo em formação.

Comprometimento das células musculares e tipo de fibras

Estudos de linhagem celular nos quais uma célula individual hipoaxial pré-migratória é marcada com um marcador molecular exclusivo mostram que, ao saírem dos somitos, elas ainda não estão comprometidas para tornarem-se células endoteliais ou miogênicas (como discutido no Cap. 13, o mesoderma paraxial também contribui para a formação do endotélio e de vasos sanguíneos intraembrionários). Assim, a diferenciação endotelial e miogênica ocorre em consequência de sinais locais dentro do broto do membro. De forma semelhante, as células miogênicas iniciais ainda não estão comprometidas para formar miócitos da variedade **lenta** ou **rápida**. A distribuição dos miócitos lentos e rápidos determina o funcionamento do músculo. Simplificando, os miócitos lentos caracterizam-se pela expressão da cadeia pesada de miosina lenta (MyCH); miócitos lentos apresentam contração lenta e metabolismo oxidativo (*i.e.*, metabolismo aeróbico). Consequentemente, essas fibras não se cansam rapidamente e estão envolvidas na manutenção da postura. Ao contrário, fibras “rápidas” tendem a expressar MyCHs rápidas, têm contração rápida com grande força e um metabolismo glicolítico (*i.e.*, metabolismo anaeróbico). As fibras rápidas são necessárias para os movimentos. De forma análoga à determinação do destino das células, sinais ambientais locais também controlam a diferenciação das fibras lentas e rápidas dentro dos brotos dos membros durante a miogênese primária. No entanto, durante a miogênese secundária e pós-natal, o tipo de fibra é também influenciado pela inervação.

Diferenças regionais no desenvolvimento dos músculos

O desenvolvimento da musculatura axial e dos membros já foi enfatizado neste capítulo. No entanto, é importante ressaltar que existem diferenças entre o que foi descrito antes no desenvolvimento da musculatura dos membros e axiais e o desenvolvimento dos músculos craniofaciais (Cap. 17). Por exemplo, como discutido anteriormente no quadro “No Laboratório de Pesquisa: Migração de Músculos Progenitores”, apesar de mutações em Pax3 afetarem o desenvolvimento dos músculos do tronco e dos membros, a musculatura craniofacial não é afetada. Inversamente, a inativação da capsulina (também conhecida como Tcf21) e MyoR, dois fatores de transcrição relacionados com os fatores que regulam a miogênese (discutidos inicialmente neste capítulo), resulta na perda de um subconjunto de músculos da mastigação, deixando a maioria dos músculos axiais sem ser afetada. O gene homeobox, Pitx2, é necessário para o desenvolvimento dos músculos extraoculares (Fig. 8-24). Assim, os músculos axiais, branquiométricos e extraoculares são distintos e parecem ser controlados por diferentes redes de moléculas sinalizadoras. Além disso, enquanto a sinalização Wnt é necessária para o comprometimento miogênico nos membros e tronco, a sinalização Wnt é também inibitória para a miogênese dos arcos faríngeos. A rede reguladora que controla a expressão de Mrfs também varia regionalmente, como ilustrado pela regulação do MyoD. MyoD é ativado pela combinação do Myf5 e Myf6 em músculos extraoculares, Tbx1 e Myf5 nos arcos faríngeos e Myf4 e

Pax3 nos músculos do tronco. Portanto, em camundongos duplamente mutantes para Myf5/Myf6, os músculos extraoculares estão ausentes, enquanto outros músculos podem se desenvolver como resultado da habilidade de Tbx1 e Pax3 em ativar MyoD independentemente da expressão de Myf5/Myf6. Essas diferenças moleculares são também encontradas em células-satélite, as quais compartilham as mesmas origens teciduais, o que pode explicar, em parte, as várias suscetibilidades de diferentes músculos nas miopatias.

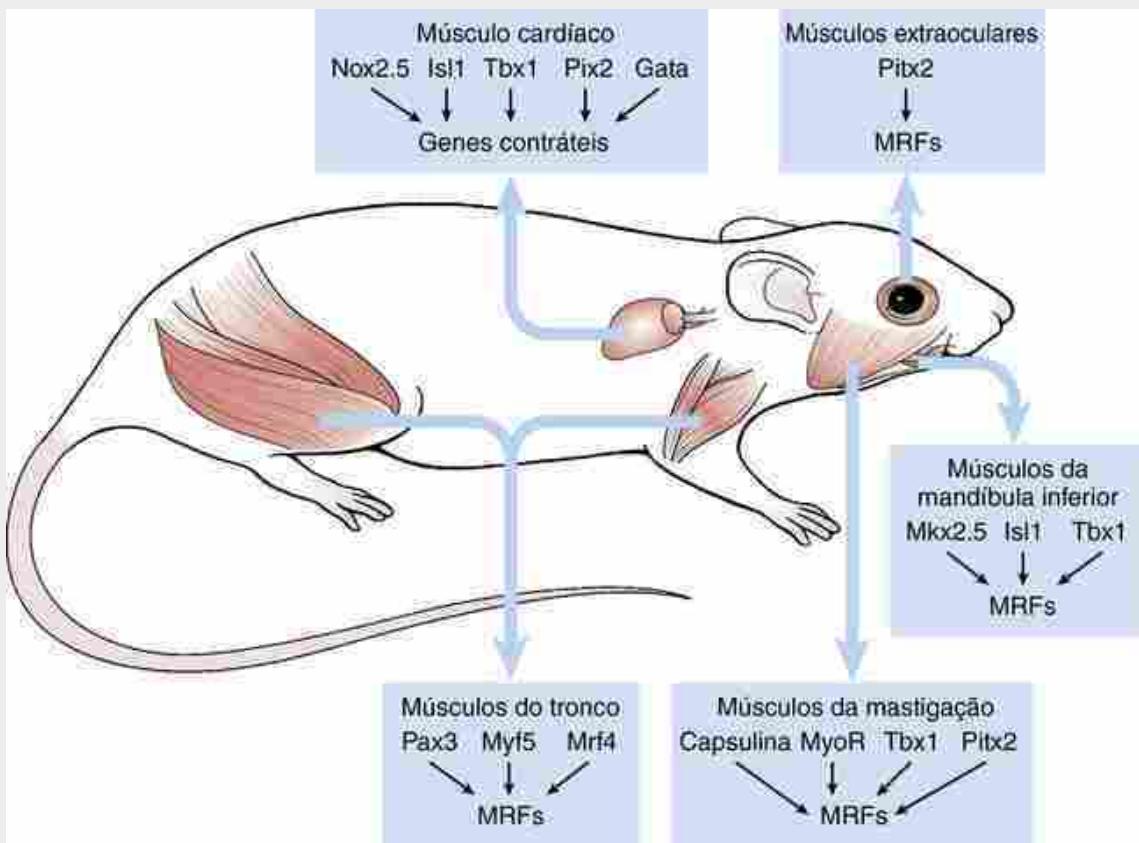


FIGURA 8-24 Comparação da miogênese craniofacial e tronco/membro. Alguns músculos craniofaciais compartilham origens teciduais com o campo cardíaco secundário. MRFs, fatores de regulação muscular.

Um subconjunto de músculos dos arcos faríngeos (p. ex., milo-hiódeo, estílo-hiódeo e digástrico) surge dentro da câmara cardíaca secundária e compartilha características moleculares com células cardíacas em desenvolvimento (Tbx1, Pitx2) (Fig. 8-24). O desenvolvimento de músculos esqueléticos é inicialmente suprimido pelo Bmps na câmara cardíaca secundária a fim de possibilitar a expansão dos progenitores cardíacos (também abordados no Cap. 12). Células-satélite desses músculos retêm alguma plasticidade e, ao contrário das células-satélite dos músculos axiais, podem ser induzidas a expressar marcadores cardíacos. Tem sido proposto que as células-satélite craniais podem ser utilizadas para a reparação de lesões musculares cardíacas após infarto do miocárdio.

Na Clínica

Distrofia muscular

Anomalias musculares incluem as distrofias musculares devastadoras nas quais a massa muscular funcional não é mantida ou as células-satélite, ou progenitoras para crescimento pós-natal ou para o reparo muscular, são defeituosas. A **distrofia muscular de Duchenne**, associada ao cromossoma X, e a **distrofia muscular tipo Becker**, uma condição menos grave, são ambas causadas por mutações na DISTROFINA, uma proteína volumosa (codificada pelo maior gene no genoma humano) que liga as proteínas do citoesqueleto intracelular ao sarcolema, a membrana plasmática da fibra muscular. A distrofia muscular de Duchenne ocorre em 1 a cada 3.500 crianças do sexo masculino e afeta a maioria dos músculos do corpo, incluindo os músculos cardíaco e respiratório, assim, resultando tipicamente em morte ao 30 anos de idade. Já foi demonstrado que a forma truncada da distrofina ocasiona um fenótipo muito menos grave, como observado na distrofia muscular tipo Becker, fornecendo pistas

para o desenvolvimento de terapias para tratamento de miopatias muito mais graves como a de Duchenne. Outras distrofias podem afetar um subconjunto de músculos, como a **distrofia muscular oculofaríngea** (causada por mutações em PABPN1, proteína de ligação nuclear de poliadenilato, NUCLEA1), que afeta os músculos do pescoço, rosto e proximais dos membros. Muitas estratégias estão sendo desenvolvidas na tentativa de reparação dessas miopatias, e muitas delas já entraram nas etapas de ensaios clínicos. Na distrofia muscular de Duchenne, uma abordagem tem sido a produção de uma forma truncada da distrofina por meio de terapia genética, em que uma distrofina truncada é expressa de forma defeituosa utilizando-se vetores de adenoassociados, ou uma forma truncada de distrofina a partir de um gene mutado obtido por *splicing* éxon. No *splicing* éxon, os éxons mutantes são removidos durante o *splicing* RNA para restaurar a abertura de leitura estrutural. Outras estratégias incluem tratamentos medicamentosos que permitem leitura através de uma parada prematura do codón, bloqueando anticorpos contra a miostatina para induzir a hipertrofia muscular, e terapias celulares, tratamento com mesoangioblastos selvagens que expressam distrofina, os quais se fundem com as células musculares.

Os defeitos musculares podem também incluir a ausência de músculos específicos, como ocorre na esporádica **anomalia Poland**, na qual está ausente o músculo grande peitoral de um lado do corpo ou na **síndrome de Prune-Belly**, na qual os músculos da parede abdominal não se formam. Finalmente, o enfraquecimento muscular pode ter um componente extrínseco resultante de defeitos na inervação pelos nervos motores. Isso é exemplificado na **anomalia Duane**, caracterizada pela paralisia lateral do olho (movimentos anormais dos olhos). Na anomalia Duane existem anormalidades nos nervos craniais VI (nervo abdutor), que inervam o reto lateral, músculo extraocular do olho, cuja função é mover o globo do olho lateralmente.

Embriologia na Prática

Ossos frágeis

Uma mulher de 29 anos de idade, grávida pela primeira vez, é submetida a um exame de ultrassom na metade da gestação. A gravidez ocorreu sem incidentes. Infelizmente as imagens sugerem que o feto apresenta uma grave **displasia esquelética**. Em especial, o ultrassom revelou membros superiores e inferiores muito curtos e circunferência peitoral extremamente reduzida. Os ossos longos estão sujeitos a fratura. Além disso, existe uma redução do fluido amniótico (**oligo-hidrâmnio**), com evidência de ruptura prematura das membranas. Uma amostra de líquido amniótico é recolhida e enviada para uma avaliação cromossômica.

Uma semana depois, os cromossomas são relatados como normais. Entretanto, o exame de ultrassom continua a ser extremamente preocupante, revelando um feto muito pequeno para a idade gestacional, com pouco ou nenhum movimento, e piora no quadro de oligo-hidrâmnio. A decisão, com feto não viável, é de realizar o parto induzido na 20^a semana de gestação. Os pais solicitam uma autópsia para determinar, se possível, a etiologia da perda da gravidez, e para informá-los sobre a possibilidade de riscos recorrentes futuros.

A autópsia revelou um feto muito pequeno e com membros curtos arqueados. Os quadris são mantidos na posição “perna de sapo” (abduzidos e flexionados). As medidas do diâmetro do tórax são muito menores do que o segundo percentil, com pulmões muito hipoplásticos. Imagens de raios X mostram múltiplas fraturas (Fig. 8-25A,B), com uma aparência amarrrotada dos ossos longos e pequenas costelas de aspecto “frisado”. O crânio não está ossificado. As escápulas são irregulares, achatadas e pouco ossificadas. Exames histológicos das costelas (Fig. 8-25C) mostram uma ossificação endocondral ordenada, com colunas de condrócitos em proliferação (para a esquerda da imagem em direção à articulação costocondral) tornando-se progressivamente maior em direção à linha de conversão. Tais critérios excluem a **condrodisplasia**. Movimentando-se em direção ao eixo ósseo (para a direita da linha de conversão da imagem), os condrócitos estão sendo substituídos por osteoblastos invasores, que estabelecem a formação de osteoide nas bordas da matriz cartilaginosa. Dentro do eixo ósseo (mais para a direita da imagem), as trabéculas ósseas e a borda do osso cortical nas bordas laterais das costelas são finas e fragmentadas, o que indica múltiplas pequenas fraturas. O contorno longitudinal do osso é distorcido, resultando na aparência “amarrotada” das radiografias.

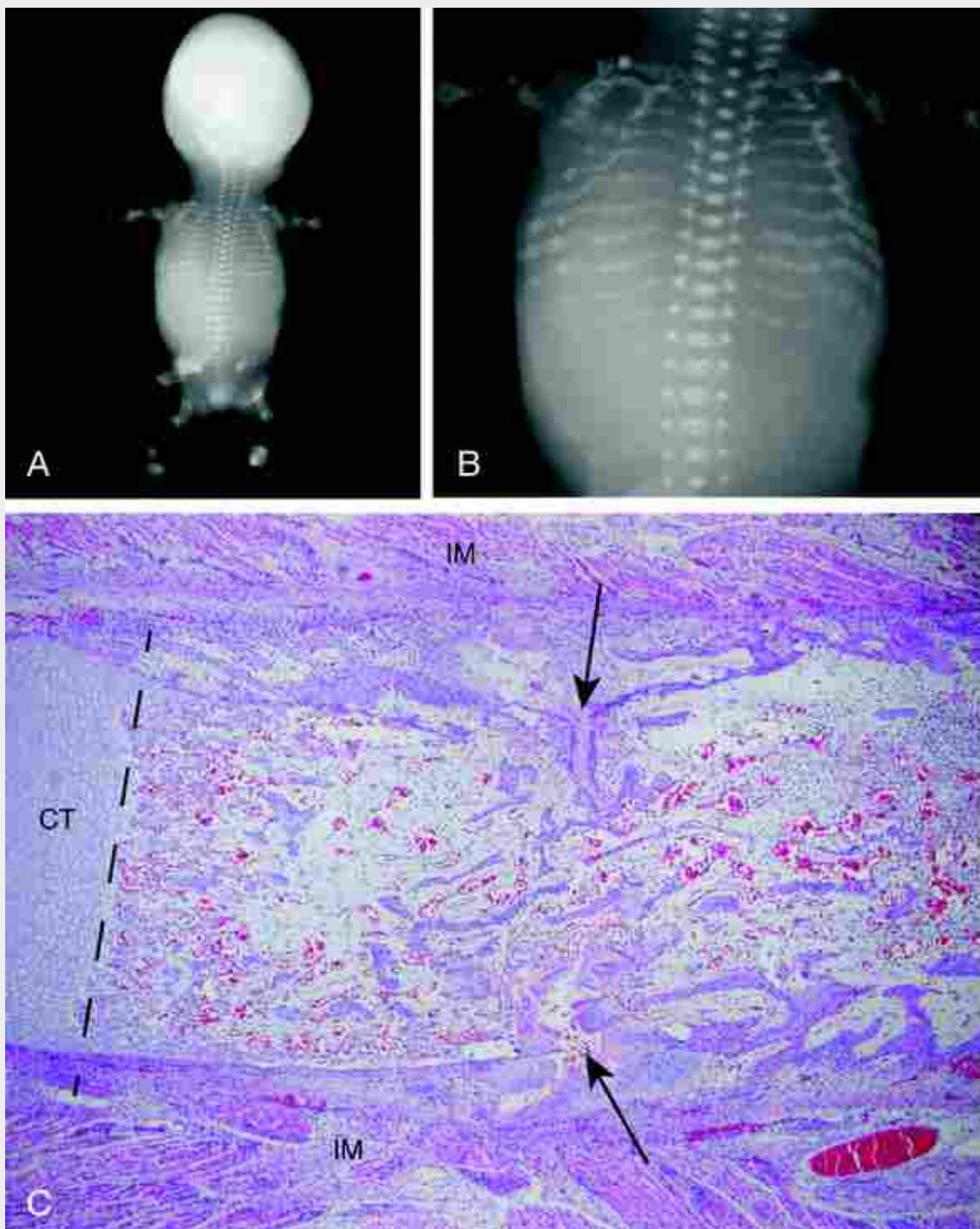


FIGURA 8-25 Feto natimorto de 20 semanas com osteogênese imperfeita do tipo II. A, B, Raios X. C. Corte histológico de costela e tecidos adjacentes. CT, cartilagem da junção costochondral; IM, músculos intercostais. A *linha tracejada* indica localização aproximada da linha de conversão da costela (interface entre cartilagem e formação óssea). As setas indicam grandes fraturas da costela.

O patologista faz o diagnóstico de **osteogênese imperfeita** (OI) do **tipo II** com base em exames histológicos e de raios X. A OI do tipo II é considerada uma “displasia esquelética letal”, e é quase sempre fatal no período neonatal, geralmente resultando de **hipoplásia pulmonar**. A família procurou um especialista em genética, que explicou ser a OI do tipo II uma condição autossômica dominante causada por mutações em genes que codificam o colágeno tipo I, qualquer COL1A1 ou COL1A2. No entanto, eles estão convencidos de que em quase todos os casos a mutação causal ocorre de novo no indivíduo afetado. O risco recorrente em uma futura gravidez é geralmente mensurado em 2% a 4% devido à possibilidade de que a mutação seja herdada de um dos pais, mutação no espermatозoide ou óvulo (**mosaicismo de linhagem germinativa**).

Leituras sugeridas

- Alexander, T., Nolte, C., Krumlauf, R. Hox genes and segmentation of the hindbrain and axial skeleton. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009; 25:431–456.
- Baldridge, D., Shchelochkov, O., Kelley, B., Lee, B. Signaling pathways in human skeletal dysplasias. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2010; 11:189–217.
- Bryson-Richardson, R. J., Currie, P. D. The genetics of vertebrate myogenesis. *Nat Rev Genet.* 2008; 9:632–646.
- Buckingham, M., Vincent, S. D. Distinct and dynamic myogenic populations in the vertebrate embryo. *Curr Opin Genet Dev.* 2009; 19:444–453.
- Cossu, G., Sampaolesi, M. New therapies for Duchenne muscular dystrophy: challenges, prospects and clinical trials. *Trends Mol Med.* 2007; 13:520–526.
- Edwards, J. R., Mundy, G. R. Advances in osteoclast biology: old findings and new insights from mouse models. *Nat Rev Rheumatol.* 2011; 7:235–243.
- Giampietro, P. F., Dunwoodie, S. L., Kusumi, K., et al. Progress in the understanding of the genetic etiology of vertebral segmentation disorders in humans. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1151:38–67.
- Lefebvre, V., Bhattaram, P. Vertebrate skeletogenesis. *Curr Top Dev Biol.* 2010; 90:291–317.
- Mallo, M., Wellik, D. M., Deschamps, J. Hox genes and regional patterning of the vertebrate body plan. *Dev Biol.* 2010; 344:7–15.
- Murphy, M., Kardon, G. Origin of vertebrate limb muscle: the role of progenitor and myoblast populations. *Curr Top Dev Biol.* 2011; 96:1–32.
- Pourquie, O. Vertebrate segmentation: from cyclic gene networks to scoliosis. *Cell.* 2011; 145:650–663.
- Sambasivan, R., Kuratani, S., Tajbakhsh, S. An eye on the head: the development and evolution of craniofacial muscles. *Development.* 2011; 138:2401–2415.

CAPÍTULO 9

Desenvolvimento do Sistema Nervoso Central

Resumo

Mesmo antes do início da neurulação, o primórdio das três **vesículas encefálicas primárias** – **prosencéfalo**, **mesencéfalo** e **rombencéfalo** – são visíveis como dilatações da placa neural. Durante a 5^a semana, o prosencéfalo se subdivide no **telencéfalo** e no **diencéfalo** e o rombencéfalo se subdivide no **metencéfalo** e no **mielencéfalo**. Assim, contando com o mesencéfalo, existem cinco **vesículas encefálicas secundárias**. Durante esse período, o rombencéfalo se divide em pequenos segmentos repetidos denominados **rombômeros**. A extensão do tubo neural caudal aos rombômeros constitui a **medula espinal**.

A porção primordial do cérebro no tubo neural sofre flexão em três pontos. Em dois deles – a **flexura mesencefálica (cranial)** e a **flexura cervical** – as dobras são voltadas para a região ventral. Na **flexura pontina**, a dobra se volta para a porção dorsal.

A citodiferenciação do tubo neural começa no rombencéfalo ao final da 4^a semana. Durante esse processo, o neuroepitélio do tubo neural prolifera para produzir os neurônios, a glia e as células ependimárias do sistema nervoso central. Os neurônios jovens nascem na **zona ventricular** que circunda o lúmen central e migram perifericamente para estabelecer a **zona do manto**, o precursor da substância cinzenta onde está a maioria dos neurônios maduros. Os axônios que partem dos neurônios da camada do manto formam a **zona marginal** (a futura substância branca) periférica à zona do manto. Nas áreas do cérebro que desenvolvem um córtex, incluindo o cerebelo e os hemisférios cerebrais, o padrão de geração e migração dos neurônios é mais complexo.

A zona do manto da medula espinal e do tronco encefálico está organizada em um par de **placas basais (ventral)** e um par de **placas dorsais (alares)**. Lateralmente, as duas placas estão em contato com uma ranhura denominada sulco limitante; dorsal e ventralmente, elas são conectadas por estruturas não neuronais denominadas, respectivamente, a **placa do teto** e a **placa do assoalho**. Os **neurônios de associação** se formam nas placas dorsais, e uma ou duas colunas de células (dependendo do nível) se formam nas placas ventrais: a **coluna motora somática** e a **coluna motora visceral**.

Os núcleos do 3^º ao 12^º nervos cranianos estão localizados no tronco encefálico (mesencéfalo, metencéfalo e mielencéfalo). Alguns desses nervos cranianos são motores, alguns são sensoriais e outros são mistos, surgindo de mais de um núcleo. Os núcleos dos nervos motores cranianos se desenvolvem das placas basais do tronco encefálico e os núcleos sensoriais de associação se desenvolvem das placas alares do tronco encefálico. Os núcleos dos nervos cranianos do tronco encefálico estão organizados em sete colunas longitudinais, que correspondem estritamente aos tipos de função que eles dão suporte. Da ventromedial para a dorsolateral, as três colunas basais contém **motoneurônios eferentes somáticos**, **eferentes branquiais** (ou **viscerais especiais**) e **eferentes viscerais (gerais)** e as quatro colunas alares contêm **neurônios de associação aferentes viscerais gerais**, **aferentes viscerais especiais** (auxiliam no sentido especial do paladar), **aferentes somáticos gerais** e **aferentes somáticos especiais** (auxiliam os sentidos especiais da audição e equilíbrio).

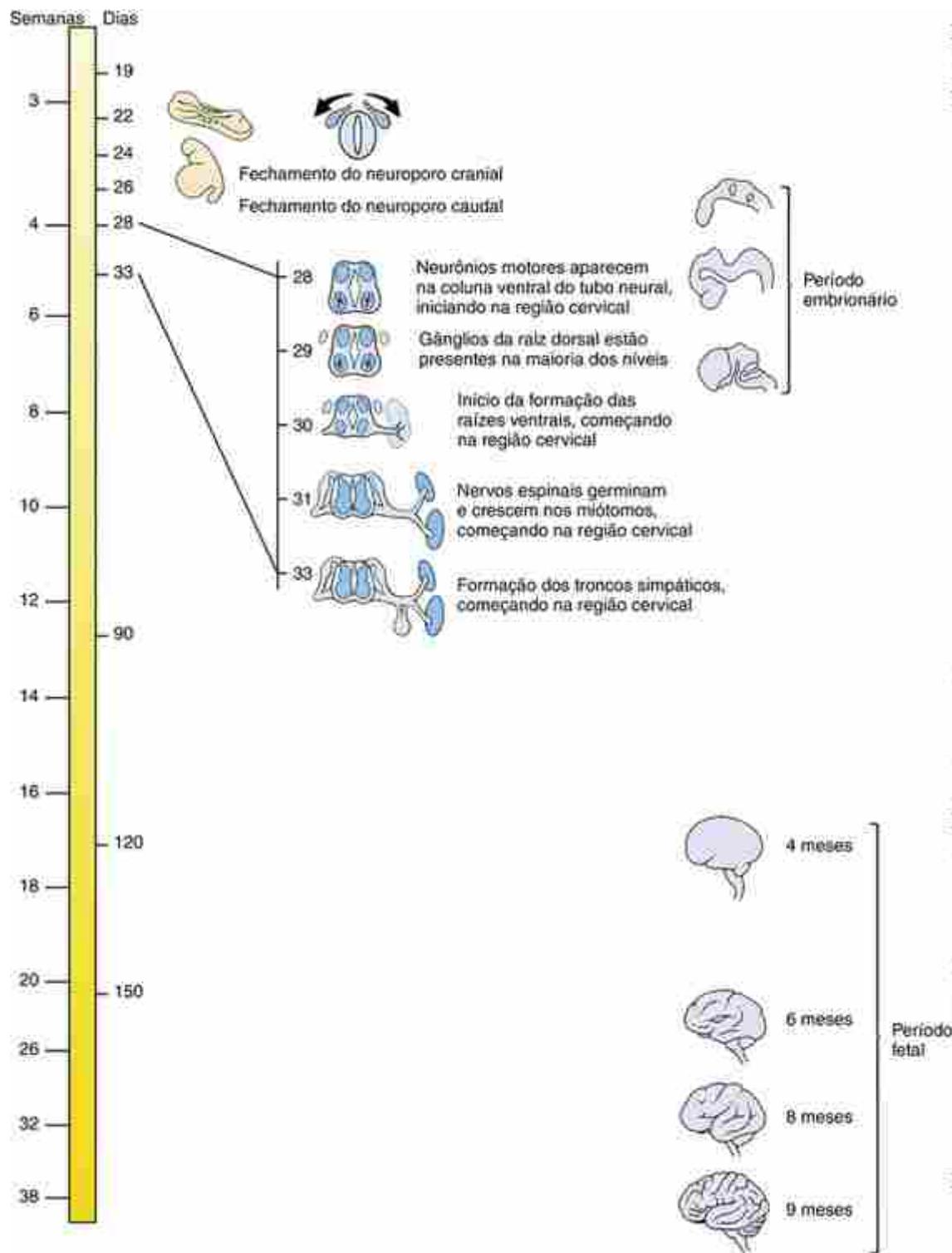
O mielencéfalo dá origem ao **bulbo**, a porção do cérebro mais similar em organização à medula espinal. O metencéfalo dá origem à **ponte**, uma expansão bulbosa que consiste principalmente dos massivos tratos da substância branca que servem o cerebelo e ao **cerebelo**. Um processo especializado de neurogênese no cerebelo dá origem à substância cinzenta do **cortex cerebelar** e aos **núcleos profundos do cerebelo**. O cerebelo controla a postura, o equilíbrio e a execução precisa dos movimentos por coordenar as informações sensoriais que chegam com as funções motoras.

O mesencéfalo contém os núcleos de dois nervos cranianos e várias outras estruturas. Em particular, as placas alares dão origem aos **colículos superior e inferior**, os quais são visíveis como protuberâncias arredondadas na superfície dorsal do mesencéfalo. O colículo superior controla os reflexos oculares; o colículo inferior atua como um retransmissor na via auditiva.

O prosencéfalo não tem placa basal. A placa alar do diencéfalo é dividida em uma porção dorsal e uma porção

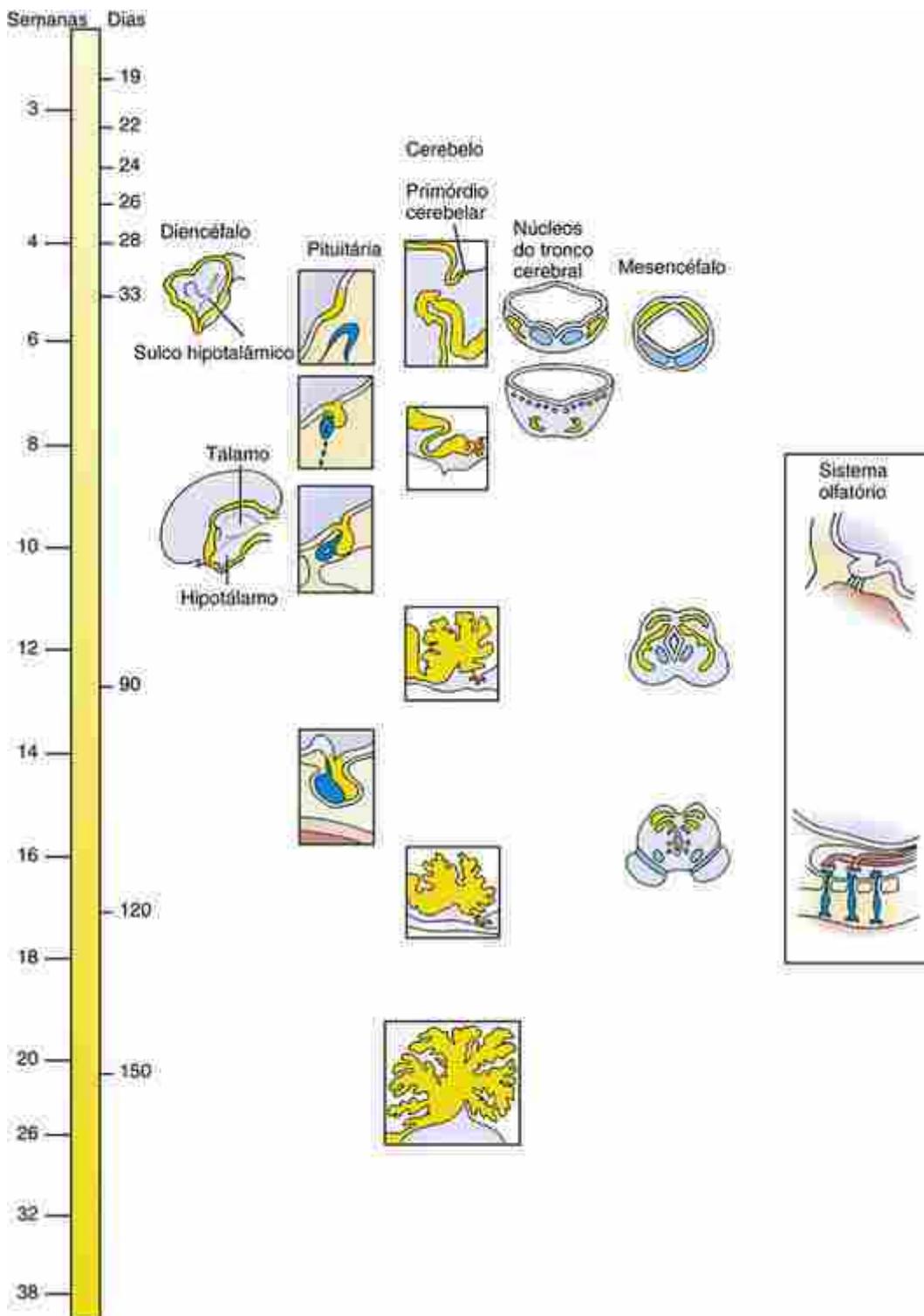
ventral por um sulco profundo denominado **sulco hipotalâmico**. A **intumescência hipotalâmica** ventral a esse sulco se diferencia nos núcleos coletivamente conhecidos como hipotálamo, cuja função mais proeminente é controlar as atividades viscerais, como a frequência cardíaca e a secreção hipofisária. Dorsal ao sulco hipotalâmico, a grande **intumescência talâmica** dá origem ao tálamo, de longe a maior estrutura do diencéfalo, que serve como um centro de retransmissão, processando a informação proveniente das estruturas subcorticais antes de transmiti-la ao córtex cerebral. Finalmente, uma intumescência dorsal, o **epitáalamo**, dá origem a algumas estruturas menores como a **glândula pineal**.

Uma expansão ventral da linha média diencefálica, denominada **infundíbulo**, se diferencia para formar a **hipófise posterior**. Um divertículo correspondente ao assoalho do estomodeu, denominado **bolsa de Rathke**, cresce para encontrar o infundíbulo e se tornar a **hipófise anterior**. Expansões do diencéfalo cranial também formam os olhos, conforme abordado no [Capítulo 19](#).



Linha do tempo.
Desenvolvimento do encéfalo e da medula.

O telencéfalo é subdividido no **pálio** dorsal e no **subpálio** ventral. O último forma os grandes núcleos neuronais dos **núcleos da base (corpo estriado e globo pálido)** – estruturas cruciais para execução dos comandos dos **hemisférios cerebrais**. Essas estruturas corticais surgem como expansões do pálio e crescem rapidamente para cobrir o diencéfalo e o mesencéfalo. Os hemisférios são unidos pela **lâmina terminal** do crânio (representando a zona de fechamento do neuroporo cranial) e por tratos axonais denominados **comissuras**, particularmente o massivo **corpo caloso**. Os **bulbos olfatórios** e os **tratos olfatórios** surgem do telencéfalo cranial e recebem impulsos das células neurosensoriais olfativas primárias, que se diferenciam dos placoides nasais e revestem o teto da cavidade nasal.



Linha do tempo.
Desenvolvimento do encéfalo continuado.

Os **ventrículos primitivos** expandidos, formados pelo canal neural das vesículas encefálicas secundárias, dão origem ao sistema de ventrículos do encéfalo. O líquido cefalorraquidiano que preenche o sistema ventricular é produzido principalmente pelos **plexos coroides** secretores nos ventrículos laterais, terceiro e quarto, que são formados pelo epêndima e a pia-máter vascular sobrejacente. O terceiro ventrículo também contém estruturas ependimárias secretoras denominadas **órgãos circunventriculares**.

Caso Clínico

Uma mãe traz seu filho de 4 anos de idade a você para uma segunda opinião a respeito de sua enurese noturna.

Ela diz que o problema tem se tornado cada vez pior, mas o seu médico anterior continuou a considerá-lo como um comportamento normal. Ela relata sua preocupação, pois seu filho agora tem problemas em reter a urina mesmo durante o dia, quando anteriormente era capaz de reter a urina durante o dia e a noite. Ela está preocupada porque seu filho não parece sentir quando a bexiga está cheia.

O histórico revela que o menino nasceu prematuramente, o que resultou em vários outros problemas médicos em curso, como problemas nos olhos e pulmões. Durante sua permanência na unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN), ele fez uma ultrassonografia que revelou um pequeno sangramento no cérebro. Disseram à mãe que isso era muito comum e que eles teriam que “esperar e ver” se isso iria afetar seu desenvolvimento. Mais recentemente, ela foi informada por seu pediatra de que seu filho poderia estar apresentando sinais leves de paralisia cerebral (PC), com base em sua má coordenação e em sua tendência a “andar na ponta dos dedos”, e que esses sinais de PC poderiam estar relacionados com o sangramento que teve em seu cérebro. Obviamente, ela estava confusa e preocupada, tanto que ela perguntou se a PC tende a piorar com o tempo. Ela afirma que os tropeços e a inabilidade de andar por longas distâncias de seu filho parecem estar piorando, juntamente com sua dificuldade de controlar a bexiga.

No exame você fica alarmado ao notar redução da massa muscular e ausência de reflexos tendinosos profundos em ambas as extremidades inferiores. O garoto tem arcos exagerados em ambos os pés, que podem explicar sua marcha anormal, e você identificou uma ondulação incomum na base da medula que se posiciona levemente fora do centro. Você solicitou um exame de RM (ressonância magnética) da medula, e é feito um diagnóstico de **siringomielia** terminal (um cisto preenchido com líquido na medula) com medula ancorada (uma adesão anormal da medula espinal ao sacro).

Uma variedade de anomalias congênitas ocultas da medula, incluindo a **síndrome da medula ancorada** (SMA), pode levar à disfunção neurológica progressiva. Sinais e sintomas incluem disfunção da bexiga e intestino, anormalidades sensoriais ou motoras nas pernas, perda de massa muscular e deformidades ósseas dos pés. A patogênese do prejuízo neurológico no SMA é desconhecida, mas tem sido levantada a hipótese de que a tração sobre a medula, criada por sua ligação com os tecidos adjacentes em alongamento devido ao crescimento, resulta em diminuição do fluxo sanguíneo e isquemia da própria medula. Com o diagnóstico precoce, o desprendimento cirúrgico pode evitar, ou mesmo reverter, essas sequelas.

Divisões estruturais do sistema nervoso

O sistema nervoso dos vertebrados consiste em duas divisões *estruturais* principais: um **sistema nervoso central** (SNC) e um **sistema nervoso periférico** (SNP). O SNC consiste no encéfalo e na medula espinal. O desenvolvimento do SNC é abordado neste capítulo. O SNP consiste em todos os componentes do sistema nervoso fora do SNC. Assim, o SNP é formado pelos nervos e gânglios cranianos, nervos e gânglios espinais, nervos e gânglios autonômicos e o sistema nervoso entérico. O desenvolvimento do SNP é abordado no [Capítulo 10](#).

Divisões funcionais do sistema nervoso

O sistema nervoso dos vertebrados consiste em duas principais divisões *funcionais*: um **sistema nervoso somático** e um **sistema nervoso visceral**. O sistema nervoso somático inerva a pele e a maior parte dos músculos esqueléticos (i.e. ele fornece componentes tanto sensoriais como motores). Similarmente, o sistema nervoso visceral inerva as vísceras (órgãos do corpo), os músculos lisos e as glândulas nas porções mais periféricas do corpo. O sistema nervoso visceral é também chamado de **sistema nervoso autônomo**. Ele consiste em dois componentes: a **divisão simpática** e a **divisão parassimpática**. O sistema nervoso somático e o visceral são abordados neste capítulo (componentes do SNC) e no [Capítulo 10](#) (componentes do SNP).

Ambas as divisões do sistema nervoso autonômico consistem em vias de dois neurônios. Devido ao fato de os neurônios periféricos autonômicos estarem em gânglios, os axônios dos neurônios simpáticos centrais são denominados **fibras pré-ganglionares** e os axônios dos neurônios simpáticos periféricos são denominados **fibras pós-ganglionares**. Esta terminologia é usada tanto para as vias simpáticas quanto para as vias parassimpáticas (discutidas mais tarde neste capítulo). Algumas vezes, as fibras pré-ganglionares são também denominadas fibras *pré-sinápticas* e as pós-ganglionares, fibras *pós-sinápticas*. Elas são assim denominadas porque os axônios das fibras pré-ganglionares fazem *sinapse* com os corpos celulares dos neurônios pós-ganglionares nos gânglios autonômicos.

As vesículas encefálicas primárias se subdividem para formar as vesículas encefálicas secundárias

Os [Capítulos 3 e 4](#) descrevem como, durante a neurulação, o primórdio do sistema nervoso central surge como a placa neural a partir do ectoderma do disco embrionário e se dobra para formar o tubo neural. O presuntivo encéfalo é visível como uma porção cranial alargada da placa neural ([Fig. 3-20](#)). Mesmo no 19º dia, antes da placa neural começar a dobrar, as três principais divisões do encéfalo – **prosencéfalo (encéfalo anterior)**, **mesencéfalo (encéfalo medial)** e **rombencéfalo (encéfalo posterior)** – são demarcadas por endentações na placa neural. Os futuros olhos aparecem como expansões das pregas neurais do prosencéfalo por volta do 22º dia (abordado no [Cap. 19](#)). A placa neural começa a dobrar no dia 22 e o neuroporo cranial fecha no dia 24. As três divisões são, então, marcadas por expansões do tubo neural denominadas **vesículas encefálicas primárias** ([Fig. 9-1A,B](#)).

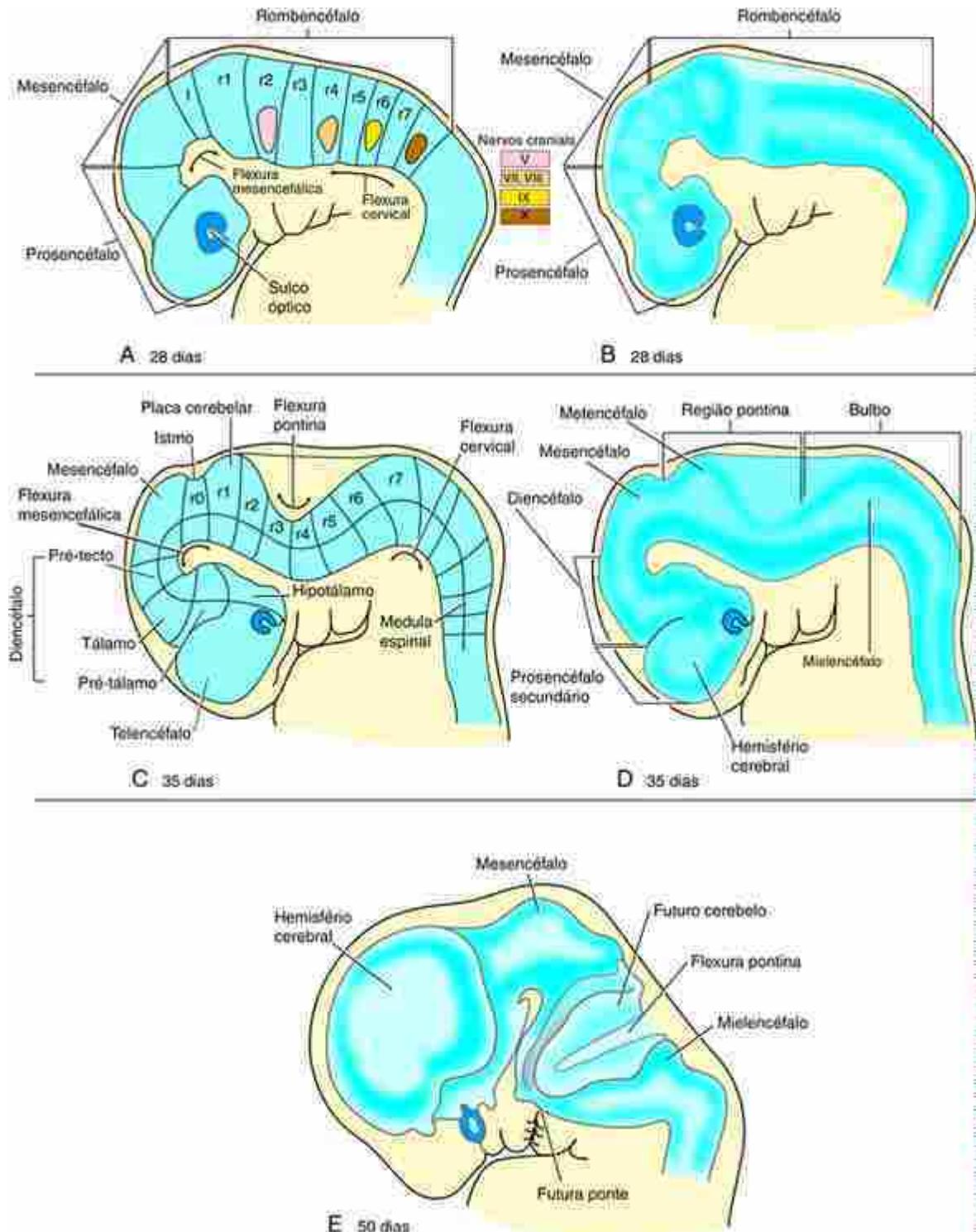


FIGURA 9-1 Desenvolvimento inicial do encéfalo. A, B, Pelo 28º dia, o futuro encéfalo consiste em três vesículas encefálicas primárias (prosencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo). As localizações do mesencéfalo e das flexuras cervicais estão indicadas, como estão as posições do istmo (I), rombômeros (r1-r7) e alguns gânglios dos nervos cranianos (nímeros romanos). C-E, A subdivisão posterior das vesículas encefálicas cria cinco vesículas secundárias: o mesencéfalo aumentado, o metencéfalo e o mielencéfalo (que se originam do rombencéfalo) e o diencéfalo e o telencéfalo (que se originam do prosencéfalo). Os hemisférios cerebrais aparecem e se expandem rapidamente. A flexura pontina dobra o metencéfalo para trás contra o mielencéfalo.

Uma série adicional de protuberâncias estreitas denominadas **neurômeros** se torna aparente no futuro encéfalo (Fig. 9-1A,B). Eles são proeminentes no rombencéfalo, onde 7 ou 8 **rombômeros** (dependendo da espécie) dividem o tubo neural em segmentos de tamanho aproximadamente igual. Os rombômeros são estruturas transitórias que se tornam indistinguíveis por volta da 6ª semana.

Durante a 5ª semana, o mesencéfalo aumenta e o prosencéfalo e o rombencéfalo se dividem cada um em duas

porções, desta forma convertendo as três vesículas encefálicas primárias em cinco **vesículas encefálicas secundárias** (Fig. 9-1C,D). O prosencéfalo divide-se em um **telencéfalo** cranial (“encéfalo terminal”) e um diencéfalo caudal (“entre encéfalos”). O diencéfalo, como o rombencéfalo, se divide em uma série de 3 ou 4 unidades denominadas **prosômeros**. O rombencéfalo se divide em um **metencéfalo** cranial (“encéfalo posterior”, formado pelos rombômeros 1 e 2) e um **mielencéfalo** caudal (“encéfalo bulbar”, formado pelos rombômeros remanescentes). Dentro de cada uma das vesículas encefálicas, o canal neural é expandido em uma cavidade denominada **ventrículo primitivo**. Estes ventrículos primitivos se tornarão os ventrículos definitivos do cérebro maduro (Fig. 9-23). A cavidade do rombencéfalo se torna o **quarto ventrículo**, a cavidade do mesencéfalo se torna o **aqueduto cerebral (de Sylvius)**, a cavidade do diencéfalo se torna o **terceiro ventrículo** e a cavidade do telencéfalo se torna o par de **ventrículos laterais** dos hemisférios cerebrais. Após o fechamento do neuroporo caudal, os ventrículos encefálicos em desenvolvimento e o canal central da porção mais caudal da **medula espinal** são cheios com o **líquido cefalorraquidiano**, um dialisado especializado do plasma sanguíneo.

No Laboratório de Pesquisa

Um dos maiores desafios que o embrião enfrenta é como gerar um número muito grande de diferentes tipos de neurônios e ao mesmo tempo garantir que cada um deles se forme em suas corretas posições no tubo neural. Diferenciados e definidos pela especificidade das suas conexões com outros neurônios, os tipos de neurônios do SNC estão em número de muitas centenas, ou mesmo milhares, e o embrião tem de posicionar as células certas nos lugares certos para que o sistema forme os circuitos de modo apropriado e funcione corretamente. O padrão altamente elaborado de especificação celular, além da subsequente formação de conexões precisas entre células distantes durante o desenvolvimento, coloca o SNC muito além de outros sistemas de órgãos; como esses processos são controlados é, portanto, uma questão importante para os pesquisadores.

A informação posicional modela a placa e o tubo neurais

Ao se abordar a questão da padronização celular, é útil pensar em termos de um sistema cartesiano de **informações posicionais**, em que as células precursoras indiferenciadas podem perceber a sua posição em gradientes ortogonais de **morfógenos** atuando ao longo dos eixos craniocaudal (CrCd) e mediolateral (ML) da placa neural. As células podem adquirir uma “referência de posicionamento” única medindo a concentração ambiente do morfógeno em cada um dos eixos que se cruzam e, então, interpretar o seu **valor posicional**, por selecionar um destino apropriado de uma variedade disponibilizada pelo seu genoma. Este conceito é indubitavelmente simplista, mas não é completamente irreal.

Os eventos que levam à padronização podem ser summarizados como se segue: primeiro, a polarização de todo o eixo CrCd do primódio do SNC; e, depois, o estabelecimento das fontes de fatores morfogenéticos discretos em posições particulares ao longo do eixo que atuam como **centros sinalizadores** locais, informando as células da vizinhança sobre suas posições e destinos (Fig. 9-2A,B). Eventos similares ocorrem no eixo ML da placa neural (posteriormente, o eixo dorsiventral [DV] do tubo neural), exceto porque, por ser consideravelmente mais curto do que o eixo CrCd, as fontes de morfógenos nos polos dorsal e ventral são suficientes para modelar o eixo inteiro (Fig. 9-2C).

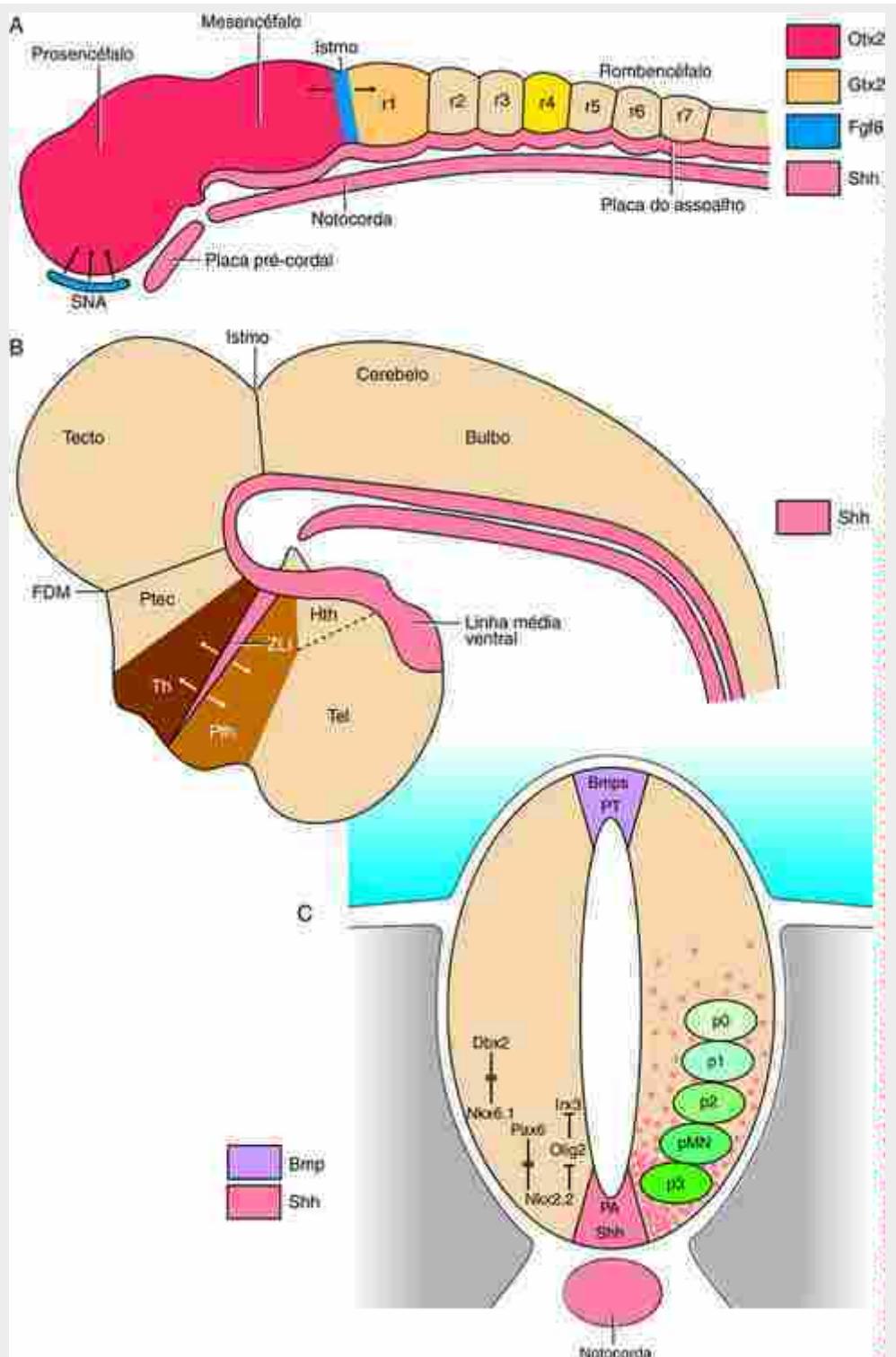


FIGURA 9-2 O eixo neural embrionário inicial é subdividido e particionado por ação de centros locais de sinalização tanto no eixo cranial-caudal (A e B) quanto no dorsal-ventral (C). No embrião inicial (A), fronteiras de sinalização se desenvolvem entre os rombômeros (r1-r7) e na borda mesencéfalo-rombencéfalo (istmo). O último expressa a molécula de sinalização Fgf8, que aciona o desenvolvimento do tecto óptico no mesencéfalo caudal e do cerebelo no r1. Na extremidade cranial da placa neural, uma linha de células que inicialmente expressam inibidores de Wnt se desenvolve na saliência neural anterior (SNA); os Fgfs liberados pelas células do SNA estão envolvidos na especificação do telencéfalo (Tel) em desenvolvimento. Mais adiante no desenvolvimento (B), outro centro de sinalização importante (a zona limitante intratalâmica, ZLI) se desenvolve no diencéfalo medial e regula o desenvolvimento do tálamo (Th) e do pré-tálamo (Pth). FDM, fronteira mesencéfalo/diencéfalo; Hth, hipotálamo; Ptec, pré-tecto. C, Corte transversal através do eixo dorsal-ventral (DV) do tubo neural. As células da linha média ventral (placa do assoalho [PA]) expressam o fator morfogenético sonic hedgehog (Shh), que se difunde através das regiões ventrais formando um gradiente de concentração. Diferentes fatores de transcrição são induzidos por diferentes concentrações de Shh, de modo que seus domínios de expressão subdividem o eixo DV. Alguns desses fatores (mostrados no lado esquerdo da figura) reprimem mutuamente a expressão um do outro, efetivamente tornando nítidas as interfaces entre seus domínios.

Os fatores de transcrição expressos em cada domínio direcionam a expressão de genes que regulam cascata abaixo a identidade das células progenitoras. No lado direito da figura são mostrados os progenitores dos motoneurônios (pMN) e de quatro diferentes tipos de interneurônios (p0-p3). As Bmps são expressas na placa do teto (PT) e induzem interneurônios dorsais.

Durante a gastrulação, quando a região do ectoderma dorsal se diferencia para se tornar a **placa neural** ([Cap. 3](#)), o eixo CrCd é polarizado por um gradiente de moléculas de **Wnt** que se difundem a partir do polo caudal da placa neural e são neutralizadas pelos inibidores de Wnt no polo cranial. Na ausência de sinalização de Wnt, o destino neural padrão do polo cranial se cumpre. Níveis maiores de Wnt efetivamente conferem destinos sucessivamente mais caudais. Gradientes de sinalização de **retinoide**, também altos na extremidade caudal do embrião, operam em adição ao Wnt para polarizar o eixo CrCd. A subdivisão regional inicialmente rudimentar do eixo CrCd se manifesta pela expressão de **genes de controle de transcrição** em domínios distintos que ditam a direção do seu desenvolvimento subsequente. Por exemplo, o Otx2 é expresso unicamente na placa neural cranial (prosencéfalo ou encéfalo anterior e mesencéfalo ou encéfalo medial), ao passo que os genes Hox são expressos nos subdomínios localizados na placa neural caudal (rombencéfalo e medula). Outro gene de controle de transcrição, o Gbx2, é expresso entre o Otx2 e os domínios de expressão de Hox.

As proteínas Gbx2 e Otx2 reprimem mutuamente a expressão uma da outra, tanto que seus domínios estão confinados em uma linha bem definida – que irá se tornar a fronteira entre o mesencéfalo e o rombencéfalo ([Fig. 9-2A](#)). Nesta interface entre os domínios de expressão gênica (uma área conhecida como **istmo**), um grupo de células se diferenciam para secretar o **fator de crescimento de fibroblasto 8** (Fgf8), o que sinaliza a formação do teto óptico no domínio de expressão Otx2 e do cerebelo no domínio Gbx2. O Fgf8 é liberado também de um centro de sinalização no polo cranial do eixo (denominado crista neural anterior [CNA]), induzindo a expressão local de fatores de transcrição tais como o Bf1 (também conhecido como FoxG1) que estabelecem o telencéfalo como uma região distinta do prosencéfalo ([Fig. 9-2A](#)). Similarmente, um centro de sinalização adicional que se desenvolve no meio do diencéfalo (na **zona limitante intratalâmica** [ZLI]), que libera outro morfógeno, *sonic hedgehog* (Shh), que sinaliza para a formação do pré-tálamo cranialmente e o tálamo caudalmente ([Fig. 9-2A](#)).

À medida que a placa neural, inicialmente plana, se dobra para formar o tubo neural, centros de sinalização distintos se formam nas linhas medias dorsal e ventral, ao longo de quase toda a extensão do eixo CrCd (também abordado no [Cap. 4](#)). As células do polo ventral que constituem a **placa do assoalho do tubo neural** secretam Shh (como faz a **notocorda** subjacente e, mais rostralmente, a **placa pré-cordal**), ao passo que as células dorsais, que constituem a **placa do teto do tubo neural**, secretam **proteínas morfogenéticas do osso** (Bmps, do inglês *bone morphogenetic proteins*). Em relação ao mesencéfalo, rombencéfalo e medula, a sinalização do Shh da placa do assoalho induz a formação de uma variedade de tipos celulares de acordo com a concentração de Shh – em altos níveis, próximos à placa neural, são induzidos motoneurônios, visto que uma diversidade de interneurônios é induzida em níveis progressivamente mais baixos de Shh, aos quais são expostas as células precursoras em posições progressivamente mais dorsais na placa basal ([Fig. 9-2C](#)). O gradiente de Bmp da placa do teto neutraliza o gradiente de Shh e é responsável pela formação de uma variedade de tipos celulares da placa alar ([Fig. 9-2C](#)).

Não se tem conhecimento completo sobre como os sinais do CrCd e do DV interagem para conferir posição em duas dimensões. Está claro, contudo, que sinais dos polos dorsal e ventral são essencialmente uniformes ao longo da extensão do eixo CrCd, ainda que eles induzam a formação de diferentes tipos celulares em diferentes posições do CrCd. Por exemplo, o Shh da placa do assoalho do mesencéfalo induz a formação dos neurônios oculomotores em uma posição do CrCd e neurônios dopaminérgicos da substância negra em outra posição do CrCd. Uma explicação é que, neste caso, o sinal ventral uniforme atua como um viés preexistente, ou **competência**, das células receptoras que são conferidas durante a estruturação do eixo CrCd.

Tendo alcançado um padrão espacial de diferenciação correto, com subtipos de neurônios individuais ou em suas posições corretas ou especificados para migrar para as novas posições estabelecidas, o próximo grande evento no desenvolvimento cerebral é o crescimento dos axônios para formar conexões com outros neurônios – o substrato das redes neurais em formação. Um exemplo bem estudado é o sistema visual, no qual todos os processos sequenciais para o estabelecimento dos padrões celulares, o crescimento axonal e a formação das conexões apropriadas são acessíveis. O desenvolvimento do sistema visual será considerado mais tarde neste capítulo.

Formação das flexuras encefálicas

Entre a 4^a e a 8^a semana, o tubo neural se dobra acentuadamente em três locais ([Fig. 9-1](#)). A primeira dessas dobras a se desenvolver é a **flexura mesencefálica** (**flexura céfala** ou **cranial**), centradas na região do mesencéfalo. A segunda dobra é a **flexura cervical**, localizada próximo à junção entre o mielencéfalo e a medula. Ambas as flexuras envolvem uma dobradura ventral do tubo neural. A terceira dobra, de sentido contrário com a flexão direcionada dorsalmente, é chamada **flexura pontina**, se origina no local da ponte em desenvolvimento. Pela 8^a semana, o aprofundamento da

flexura pontina dobra o metencéfalo (incluindo o cerebelo em desenvolvimento) de volta para o mielencéfalo.

Citodiferenciação do tubo neural

A citodiferenciação do tubo neural começa na região rombencefálica, logo após a fusão das pregas neurais occipitocervicais, e a partir deste nível prossegue com o fechamento do sulco nos sentidos cranial e caudal para formar o tubo neural. Os precursores da maior parte dos tipos celulares do futuro sistema nervoso central – os neurônios, alguns tipos de células gliais e células ependimárias que revestem o canal central da medula e os ventrículos do encéfalo – são produzidos por proliferação na camada de células neuroepiteliais que circundam o canal neural ([Fig. 9-3](#)). As primeiras células neuroepiteliais compartilham algumas características gliais e são frequentemente chamadas de **células radiais** quando abrangem a maior parte da parede do tubo neural em formação (p. ex., as células mais à esquerda na [Fig. 9-3A](#)). Essas células sofrem proliferação para originar as células progenitoras tanto neuronais quanto gliais. As células neuroepiteliais em proliferação estão contidas na **camada ventricular** do tubo neural em diferenciação, enquanto a mitose ocorre na superfície luminal. A primeira onda de células produzidas na camada ventricular consiste em **neurônios jovens** pós-mitóticos, que migram perifericamente para estabelecer uma segunda camada contendo os corpos celulares, a **camada do manto**, externa à camada ventricular. Esta camada composta por **neurônios** dá origem à **substância cinzenta** do sistema nervoso central. Os processos neuronais (axônios) que crescem dos neurônios da camada do manto crescem perifericamente para estabelecer uma terceira camada, a **camada marginal**, que não contém corpos celulares de neurônios e dá origem à **substância branca** do sistema nervoso central. A substância branca é assim denominada por causa da cor esbranquiçada das bainhas lipídicas de mielina que envolve muitos axônios. No SNC, essas bainhas são formadas por oligodendrócitos (discutido na próxima seção; no SNP, as bainhas de mielina são formadas por células de Schwann – derivadas da crista neural; as células de Schwann são abordadas no [Cap. 10](#)). A camada marginal contém axônios entrando e deixando o SNC, assim como tratos de axônios cursando em níveis superiores e inferiores do SNC.

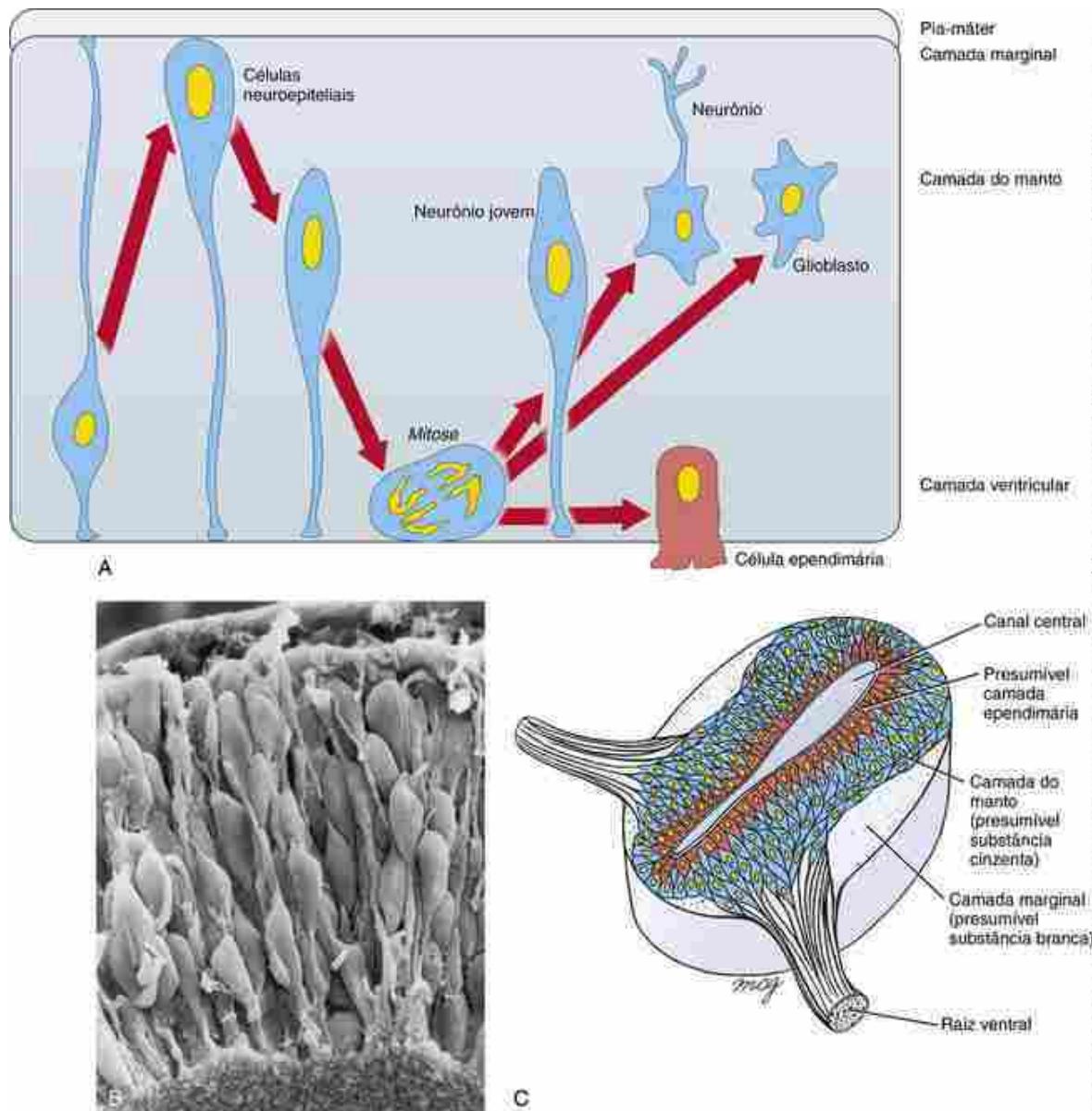


FIGURA 9-3 Citodiferenciação do tubo neural. **A, B**, As células neuroepiteliais são alongadas e abrangem toda a espessura da parede do tubo neural inicial antes de se arredondarem acima do lado luminal para a mitose. Ondas de mitose e diferenciação formam os jovens neurônios pós-mitóticos, que migram para longe do lado luminal para formar os neurônios definitivos e os glioblastos, alguns formam a glia radial (ou glia de Bergmann no cerebelo). Tal onda é ilustrada em A, que mostra a progressão no tempo da esquerda para a direita. **A, C**, Conforme os neurônios se formam, o tubo neural se torna estratificado na camada ventricular (adjacente ao canal neural), uma camada do manto (contendo corpos celulares de neurônios) e uma camada marginal (contendo fibras nervosas).

Após a redução da produção de neurônios na camada ventricular, esta camada começo a produzir um novo tipo celular, os **glioblastos** (Fig. 9-3A). Estas células se diferenciam na glia do sistema do SNC- os **astrócitos** e os **oligodendrócitos**. A glia provém suporte metabólico e estrutural para os neurônios do sistema nervoso central. As últimas células produzidas pela camada ventricular são as **células ependimárias**; estas revestem os ventrículos encefálicos e o canal central da medula (Fig. 9-3A,C). Elaborações do epêndima são responsáveis pela produção do **líquido cefalorraquídiano (LCR)**, que preenche os ventrículos encefálicos, o canal central da medula e o espaço subaracnóide que circunda o SNC. O LCR está sob pressão e por isso produz um revestimento de fluido que protege e sustenta o cérebro.

Diferenciação da medula espinal

A diferenciação da medula é relativamente simples quando comparada com a do encéfalo, por isso nossa discussão começará pela medula. Começando ao final da 4^a semana, os neurônios na camada do manto da medula tornam-se organizados em quatro placas que correm ao longo da medula: um par de **placas (colunas) dorsais ou alares** e um par

de placas (colunas) ventrais ou basais (Fig. 9-4). Lateralmente, as duas placas se encostam a uma ranhura denominada **sulco limitante**; de forma dorsal e ventral, elas são conectadas por estruturas não neurogênicas denominadas, respectivamente, **placa do teto** e **placa do assoalho**. As células das colunas ventrais dão origem aos **motoneurônios somáticos** da medula e inervam as estruturas motoras somáticas, como os músculos voluntários (estriados) da parede do corpo e extremidades. As células das colunas dorsais dão origem aos neurônios de associação. Estes neurônios recebem sinapses de fibras aferentes (que chegam) de neurônios sensoriais dos gânglios da raiz dorsal (abordados no Cap. 10). Além disso, o axônio de um **neurônio de associação** pode fazer sinapse com motoneurônios no mesmo lado (ipsilateral) ou no lado oposto (contralateral) da medula, formando um arco reflexo – ou pode ascender para o encéfalo. As fibras dos neurônios motores que deixam a medula (eferentes) saem pelas raízes ventrais.

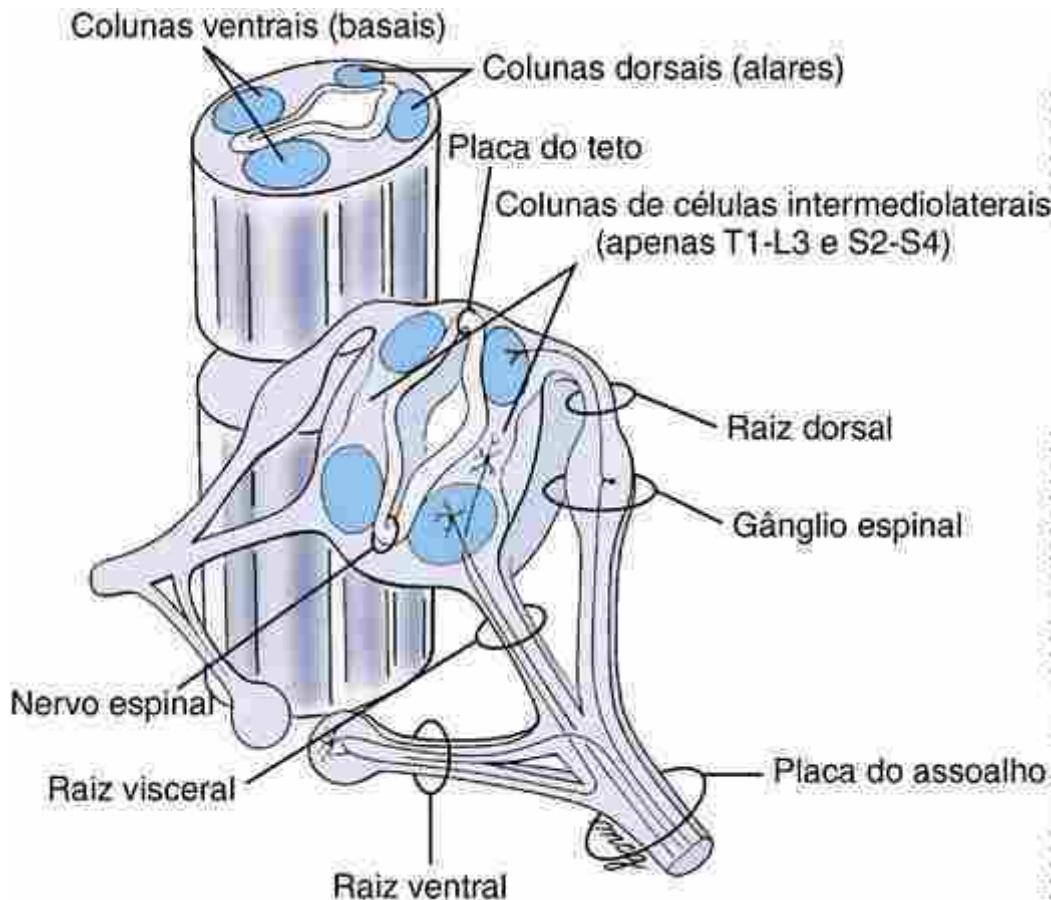


FIGURA 9-4 Os neurônios dentro da camada do manto do tubo neural se tornam organizados em duas colunas motoras ventrais (basais) e duas colunas sensoriais dorsais (alares) através da maior parte da extensão da medula espinal e do rombencéfalo. As colunas de células intermediolaterais também se formam nos níveis medulares espinais T1-L3 e S2-S4 (o corte mostrando as colunas de células intermediolaterais foi tomado na metade da medula mostrada no plano de fundo da figura).

Na maioria das regiões da medula – em todos os 12 níveis torácicos, nos níveis lombares L1 e L2 e nos níveis sacrais S2 a S4 –, os neurônios das regiões mais dorsais das colunas ventrais segregam para formar as **colunas de células intermediolaterais**. As colunas de células intermediolaterais torácicas e lombares contêm motoneurônios viscerais que constituem os **motoneurônios autonômicos centrais da divisão simpática**, visto que as colunas de células intermediolaterais da região sacral contêm os motoneurônios viscerais que constituem os **motoneurônios autonômicos centrais da divisão parassimpática**. A estrutura e função desses sistemas são abordadas no [Capítulo 10](#) (no qual os componentes periféricos são descritos). Em geral, em qualquer nível do encéfalo ou da medula, os motoneurônios se formam antes dos elementos sensoriais.

Visão geral dos nervos espinais

Os nervos espinais (Fig. 9-4) consistem em (1) uma raiz dorsal contendo axônios cujos corpos celulares estão nos gânglios da raiz dorsal; (2) uma raiz ventral contendo axônios cujos corpos celulares estão na substância cinzenta da medula ventral (colunas ventrais); e (3) nos níveis em que as colunas de células intermediolaterais estão presentes, uma raiz visceral contendo axônios que conectam os neurônios autonômicos pré-ganglionares dentro da medula (colunas

de células intermediolaterais) com os corpos celulares autonômicos na periferia (gânglios autonômicos). A região onde essas raízes se unem e estendem perifericamente constituem os nervos espinais. Os nervos espinais são abordados com mais detalhes no [Capítulo 10](#).

Diferenciação do encéfalo

Para fins de descrição, o encéfalo pode ser dividido em duas partes: o **tronco encefálico**, que representa a continuação cranial da medula espinal e é similar a ela em sua organização, e os **centros superiores**, que são extremamente especializados e retêm poucos traços da organização típica da medula. O tronco encefálico é constituído pelo **mielencéfalo**, pelo derivado do metencéfalo denominado **ponte** e pelo **mesencéfalo**. Os centros superiores consistem no **cerebelo** (derivado do metencéfalo) e o **prosencéfalo**.

Tronco encefálico

O padrão fundamental das colunas alares, colunas basais, raízes dorsais sensoriais e as raízes ventrais motoras descritas anteriormente no tópico da medula também ocorre, ainda que de modo mais elaborado, no tronco encefálico. Este padrão é alterado durante o desenvolvimento conforme alguns grupos de neurônios migram para longe de seus sítios de origem para estabelecer núcleos em outros lugares. Como na medula, o tronco encefálico também está organizado em uma zona ventricular (contendo células neuroepiteliais em proliferação que geram neurônios jovens e glioblastos), uma zona do manto e uma zona marginal.

Visão Geral dos Nervos Cranianos

Todos os nervos cranianos, com exceção do primeiro (olfatório) e do segundo (óptico), têm núcleos localizados no tronco encefálico. Estes núcleos estão entre as primeiras estruturas a se desenvolver no encéfalo e, portanto, são discutidos aqui; os nervos cranianos são descritos em maior detalhe no [Capítulo 10](#). As placas basais do rombencéfalo formam os primeiros neurônios no SNC. Pelo 28^o dia, todos os nervos cranianos do tronco encefálico estão distinguíveis. Como na medula, as placas alares do tronco encefálico se formam um pouco mais tarde do que as placas basais, aparecendo no meio da 5^a semana. Os núcleos dos nervos cranianos de associação são todos distinguíveis pelo final da 5^a semana.

Ainda que os nervos cranianos mostrem homologias com os nervos espinais, eles são muito menos uniformes na sua composição. Três nervos cranianos são exclusivamente sensoriais (I, II e VIII); quatro são exclusivamente motores (IV, VI, XI e XII); um é composto de fibras sensoriais e motoras (*i.e.*, misto; V); um é motor parassimpático (III); e três incluem fibras sensoriais, motoras e parassimpáticas (VII, IX e X). No entanto, os axônios motores e sensoriais dos nervos cranianos tem a mesma relação básica nas colunas do encéfalo que as raízes ventrais e dorsais têm nas colunas da medula. A [Tabela 9-1](#) sumariza as relações dos nervos cranianos para as subdivisões do encéfalo.

Tabela 9-1**Localização dos núcleos dos nervos cranianos**

Região Encefálica	Nervos Cranianos Associados
Telencéfalo	Olfatório (I)
Diencéfalo	Óptico (II)
Mesencéfalo	Oculomotor (III)
Metencéfalo	Troclear (IV) (surge no metencéfalo, mas é deslocado parcialmente mais tarde para o mesencéfalo) Trigêmeo (V) (os núcleos sensoriais trigeminais surgem no metencéfalo e mielencéfalo, mas são deslocados parcialmente mais tarde para o mesencéfalo; os núcleos motores trigeminais surgem no metencéfalo e permanecem lá) Abducente (VI)* Facial (VII)* Vestibulococlear (VIII)*
Mielencéfalo	Glossofaríngeo (IX) Vago (X) Acessório (XI) Hipoglosso (XII)

*A origem destes três nervos é incerta e pode diferir entre as espécies. Desta forma, não é claro, em embriões humanos, se esses nervos se originam do metencéfalo caudal ou do mielencéfalo cranial.

Organização das Colunas

Assim como as placas basais da medula estão organizadas em colunas motoras somáticas e autonômicas (viscerais) (abordado anteriormente neste capítulo), os núcleos dos nervos cranianos basais e alares do tronco encefálico estão organizados em sete colunas que desempenham funções particulares. Ainda que se formem sete colunas, alguns livros-texto descrevem apenas seis funções, três motoras e três sensoriais. As colunas são descritas a seguir (Fig. 9-5; os números listados mais adiante correspondem aos números mostrados nas Figs. 9-5 e 9-6).

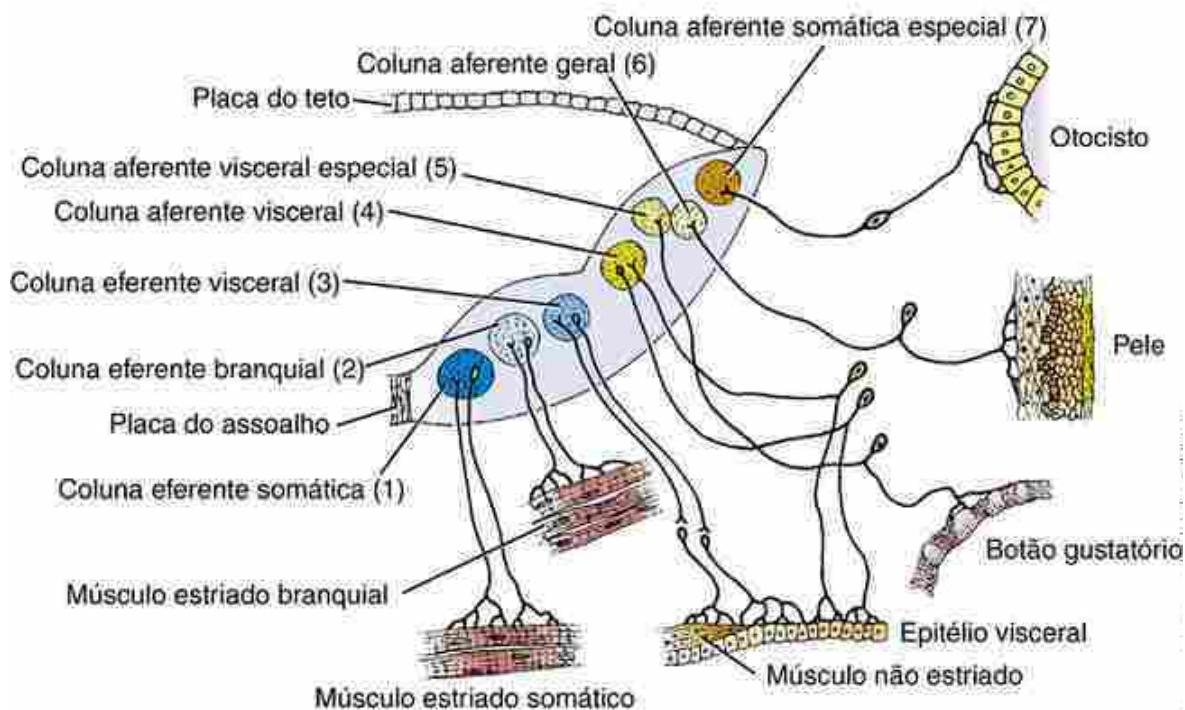


FIGURA 9-5 Organização dos núcleos dos nervos cranianos do tronco cerebral. As colunas basais originam os núcleos dos nervos cranianos motores (eferentes) e as colunas alares aos núcleos dos nervos cranianos de associação (afferentes). Estes núcleos podem ser agrupados em sete colunas descontínuas (números em parênteses descrevem estas colunas no texto), cada um desempenhando um tipo específico de função.

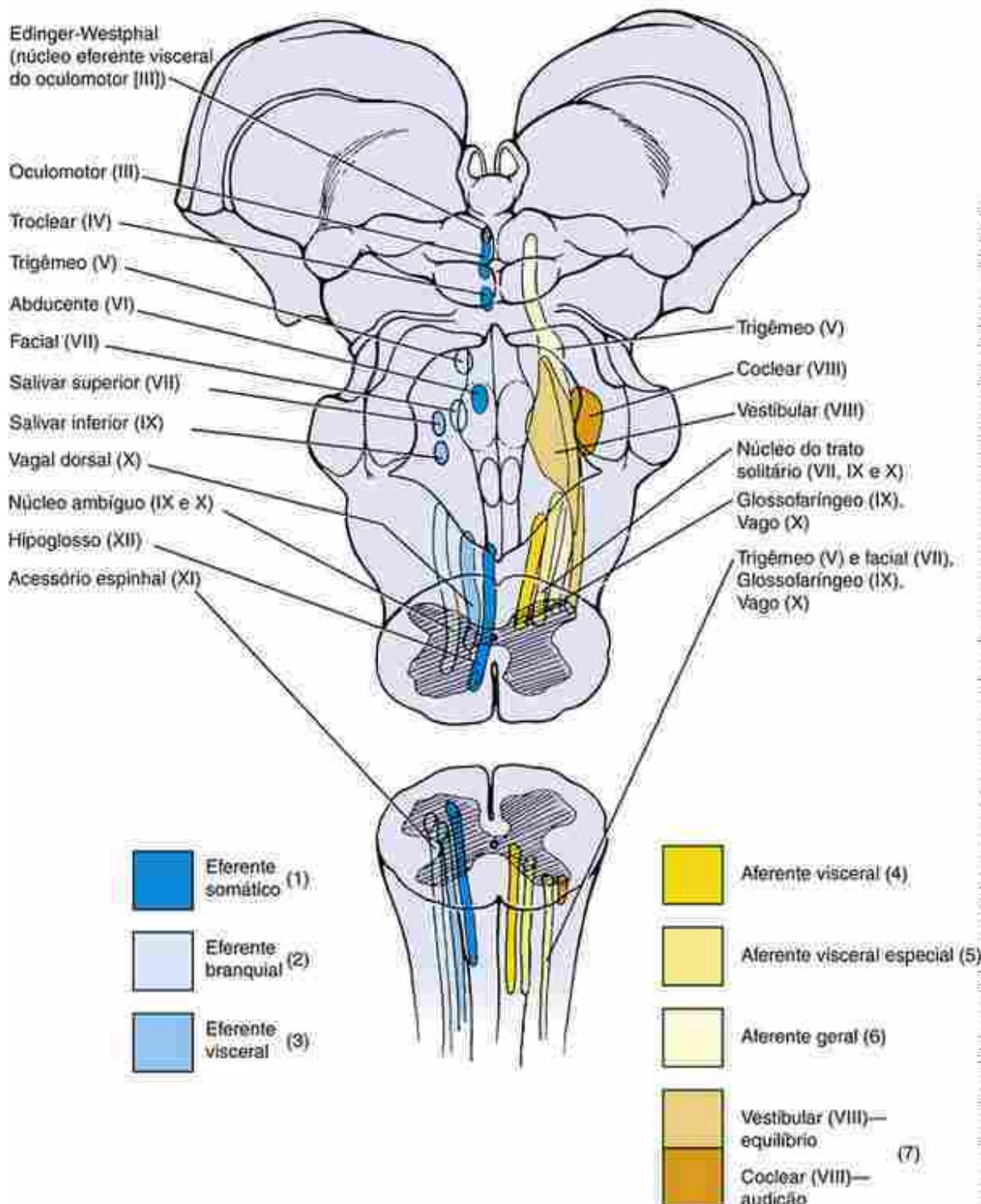


FIGURA 9-6 Visão do tronco cerebral mostrando a localização dos núcleos dos nervos cranianos formando sete colunas (os números em parênteses correspondem aos números descrevendo estas colunas no texto). Os núcleos eferentes são mostrados no lado esquerdo e os núcleos aferentes no lado direito.

Fonte: Marieb, E. L., & Hoehn, K. (2014). *Biology of the cell* (3rd ed.). Rio de Janeiro: Pearson Education.

Funções motoras (colunas basais)

1. Neurônios *eferentes somáticos* no encéfalo inervam os músculos oculares extrínsecos e os músculos da língua (III, IV, VI e XII).
2. Neurônios *eferentes branquiais* (alternativamente denominados *eferentes viscerais especiais*) servem os músculos estriados derivados dos arcos faríngeos e envolvidos pelo tecido conjuntivo derivado das células da crista neural (V, VII, IX e X). O núcleo motor do nervo acessório (XI) é eferente branquial porque faz parte desta coluna; apesar de os músculos trapézio e esternocleidomastóideo, que ele inerva, não serem claramente derivados do mesoderma do arco faríngeo, seu tecido conjuntivo deriva das células da crista neural.
3. Neurônios *eferentes viscerais* (alternativamente denominados *eferentes viscerais gerais*) compõem as vias

parassimpáticas que inervam o esfínter pupilar e os músculos ciliares dos olhos (III) (via nervo glossofaríngeo, IX, e o nervo vago, X) e a musculatura lisa e as glândulas das vísceras torácicas, abdominais e pélvicas, incluindo o coração, vias aéreas e glândulas salivares.

Funções sensoriais (colunas alares)

4. Neurônios de associação *afferentes viscerais* (alternativamente denominados *afferentes viscerais gerais*) recebem impulsos via nervo vago dos receptores sensoriais nas paredes das vísceras torácicas, abdominais e pélvicas (referidas como *receptores sensoriais interoceptivos*).
5. Neurônios de associação *afferentes especiais* servem aos sentidos especiais. Esta função é algumas vezes subdividida em duas funções – *afferentes viscerais especiais* (paladar, VII e IX) e *afferentes somáticos especiais* (audição e equilíbrio; VIII) – para combinar as duas colunas de núcleos aferentes especiais que se desenvolvem no tronco encefálico.
6. Neurônios de associação *afferentes gerais* (alternativamente denominados *afferentes somáticos gerais*) no encéfalo servem à “sensação geral” (p. ex., tato, temperatura e dor) na cabeça e no pescoço, assim como na mucosa das cavidades oral e nasal e na faringe (V, VII e IX).

O número de colunas presentes em diferentes níveis do tronco encefálico varia; todas as colunas estão presentes no rombencéfalo e apenas duas no mesencéfalo ([Fig. 9-6](#)). A distribuição das colunas no tronco encefálico é como se segue (as colunas são numeradas como descrito imediatamente antes e como marcadas nas [Figs. 9-5 e 9-6](#)):

1. As colunas *afferentes somáticas* consistem em núcleos do nervo hipoglosso (XII) no rombencéfalo mais caudal, do nervo craniano VI mais cranial no rombencéfalo e do nervo IV no rombencéfalo mais cranial (mais tarde deslocado para o mesencéfalo caudal) e do nervo III no mesencéfalo.
2. As colunas *afferentes branquiais* contêm três núcleos que servem aos nervos V, VII e do IX até o XI, além de serem confinados ao rombencéfalo. Os núcleos branquiais aferentes que servem aos nervos V e VII estão localizados no rombencéfalo cranial; caudalmente, o núcleo ambíguo supre as fibras branquiais aferentes para os nervos IX, X e XI.
3. As colunas *afferentes viscerais* incluem dois núcleos localizados no rombencéfalo. Os núcleos salivares fornecem ineração pré-ganglionar parassimpática para as glândulas salivares e lacrimais via nervos VII e IX. Caudal a este núcleo está o núcleo dorsal do vago, que contém neurônios pré-ganglionares parassimpáticos inervando as vísceras. O núcleo de Edinger-Westphal (III) está localizado no mesencéfalo.
4. A coluna *afferente visceral* geral consiste no núcleo que recebe informação interoceptiva via nervo glossofaríngeo (IX) e nervo vago (X).
5. A primeira coluna *afferente especial* (algumas vezes denominada coluna *afferente visceral especial*) consiste nos núcleos do trato solitário, que recebem impulsos via nervos facial (VII), glossofaríngeo (IX) e vago (X).
6. As colunas *afferentes gerais* consistem em neurônios que recebem impulsos de sensação geral de áreas da face cobertas pelos nervos trigêmeo (V) e facial (VII) e das cavidades oral, nasal, auditiva externa, faríngea e laringea (V, VII, IX e X).
7. A segunda coluna *afferente especial* (algumas vezes denominada coluna *afferente somática especial*) consiste nos núcleos coclear e vestibular, que servem aos sentidos especiais do equilíbrio e audição (VIII).

Nem todos os núcleos que se desenvolvem nas colunas basais e alares permanecem onde se formam. Por exemplo, o núcleo eferente branquial do nervo facial viaja primeiro em sentido caudal e então lateralmente, contornando o núcleo abducente, para formar o joelho interno do nervo facial. O núcleo ambíguo também migra, como fazem alguns núcleos dos nervos não cranianos do rombencéfalo, como os núcleos olivar e pontino, que surgem do lábio rômbico mas migram para uma posição ventral ([Fig. 9-7](#)). Muitos neurônios do SNC “emitem” seus axônios atrás deles conforme eles migram; assim, o caminho migratório de um núcleo frequentemente pode ser reconstruído seguindo-se seus axônios.

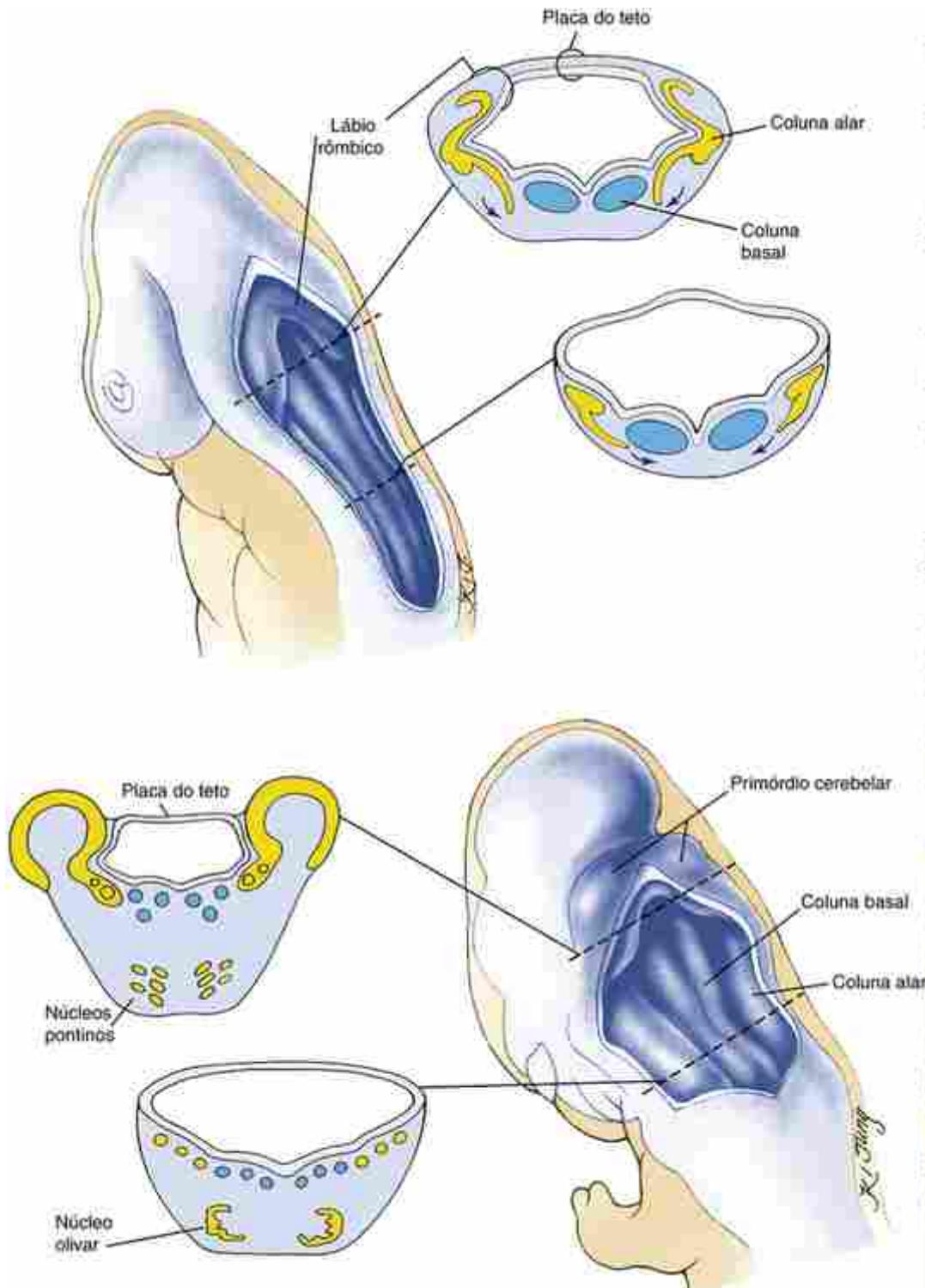


FIGURA 9-7 Diferenciação inicial do rombencéfalo. A placa do teto na região do rombencéfalo forma uma ampla membrana transparente sobre o quarto ventrículo. As colunas basais e alares originam, respectivamente, os núcleos motores e de associação os mais craniais dos nervos cranianos, igualmente como outras estruturas. As extensões das colunas alares também migram em sentido ventral para formar os núcleos pontino e olivar.

Rombencéfalo

Em contraste com a medula, onde as placas do teto e do assoalho são estreitas e encontram-se no fundo das fissuras profundas (Fig. 9-4), no rombencéfalo as paredes do tubo neural se abrem tanto dorsalmente em forma de漏斗 que as paredes da placa do teto são esticadas e alargadas e os dois lados do rombencéfalo tornam-se dispostos em um ângulo obtuso uma em relação à outra (Fig. 9-7). O canal neural rombencefálico (futuro 4º ventrículo) tem forma losangular (diamante) em vista dorsal, e a ponta mais larga localiza-se na flexura pontina. A margem dorsal da placa alar,

adjacente à massivamente expandida placa do teto, é denominada **lábio rômbico**. A sua porção metencefálica contribui para a formação das células granulares do cerebelo (abordadas mais tarde).

A fina placa do teto rombencefálico consiste principalmente em uma camada de epêndima e é revestida por uma camada bem vascularizada da pia-máter denominada **tela coroide**. Em ambos os lados da linha média, a pia e o epêndima formam uma zona com estruturas em forma de dedos projetando para o 4º ventrículo. Esta zona, denominada **plexo coroide**, é especializada para secretar o fluido cefalorraquidiano. Plexos coroides semelhantes se desenvolvem nos ventrículos do prosencéfalo (abordado mais tarde neste capítulo). O líquido cefalorraquidiano circula constantemente através do canal central da medula e dos ventrículos encefálicos e também através do espaço subaracnoide circundando o SNC, do qual é reabsorvido para o sangue. O líquido tem acesso ao espaço subaracnoide por três orifícios que se abrem na placa do teto do quarto ventrículo: uma única **abertura mediana (forame de Magendie)** e duas **aberturas laterais (forames de Luschka)**.

Formação do Bulbo, Ponte e Cerebelo

O mielencéfalo (formado pelos rombômeros 3 a 8) se diferencia para formar o **bulbo**, que é a porção do encéfalo mais parecida com a medula. Além de abrigar muitos núcleos de nervos cranianos, o bulbo serve como um centro de retransmissão entre a medula e os centros superiores do encéfalo e contém centros e redes neurais que regulam a respiração, os batimentos cardíacos, os movimentos reflexos e várias outras funções.

O metencéfalo (rombômeros 1 e 2) origina duas estruturas: a **ponte**, que funciona principalmente para retransmitir sinais que ligam a medula e o córtex cerebral ao **cerebelo**; e o cerebelo, que é um centro para o controle do equilíbrio e da postura. (Apesar de o cerebelo ser parte dos centros superiores, em vez de parte do tronco encefálico, ele é abordado aqui porque é derivado do rombencéfalo). A ponte contém tratos de axônios massivos ([Fig. 9-8](#)) que chegam principalmente da camada marginal da coluna basal do metencéfalo. Além disso, os **núcleos pontinos** localizados ventralmente retransmitem sinais do cérebro para o cerebelo ([Fig. 9-7](#)).

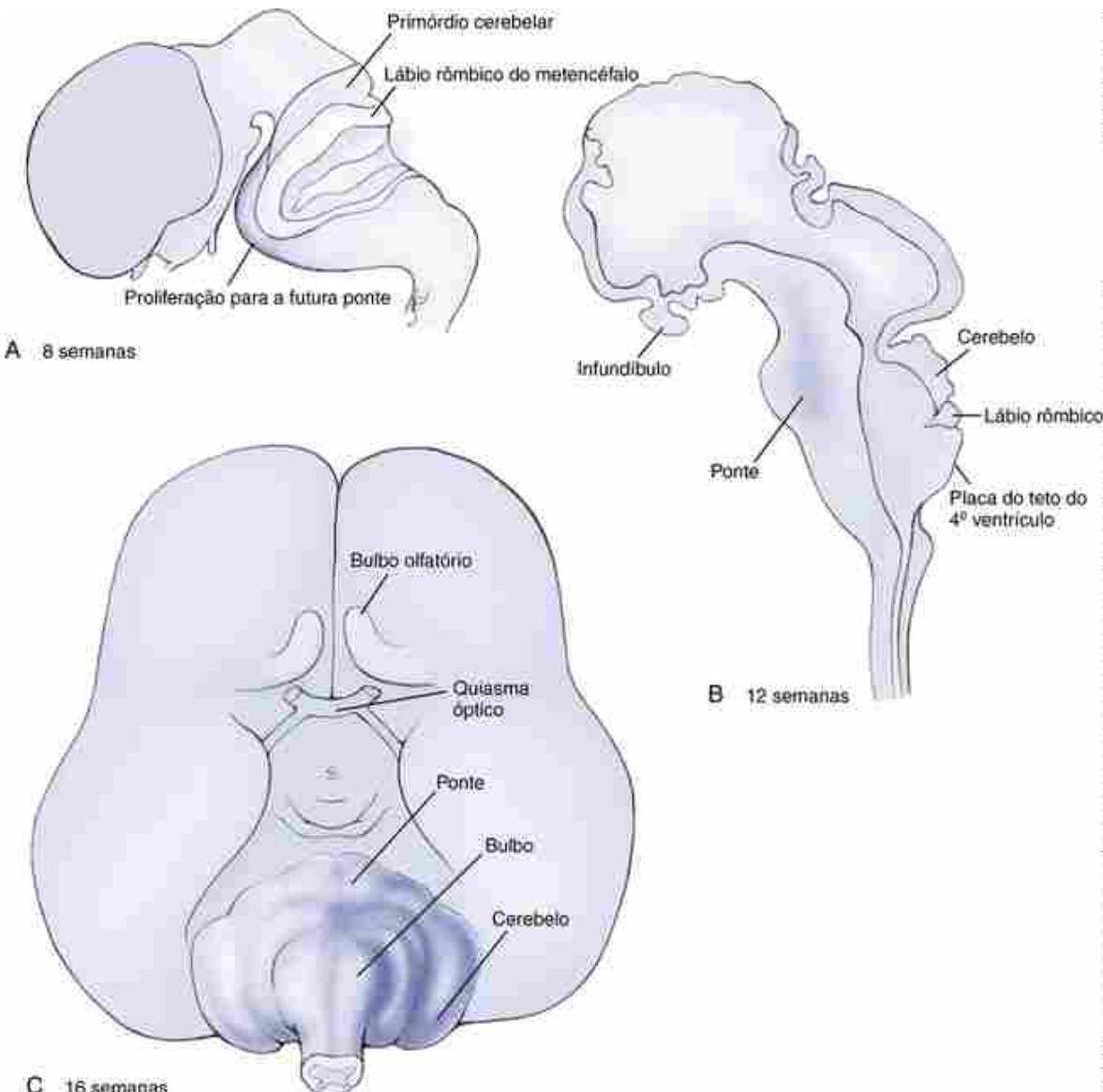
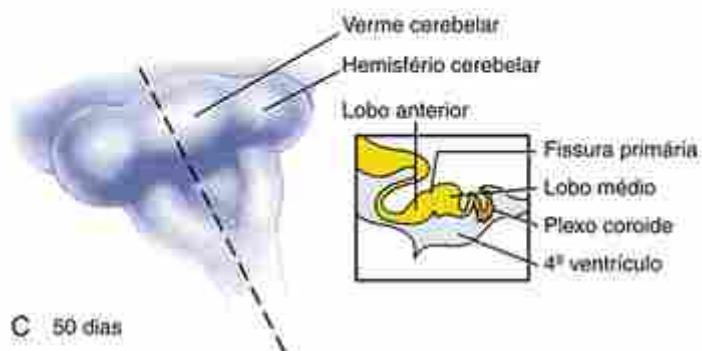
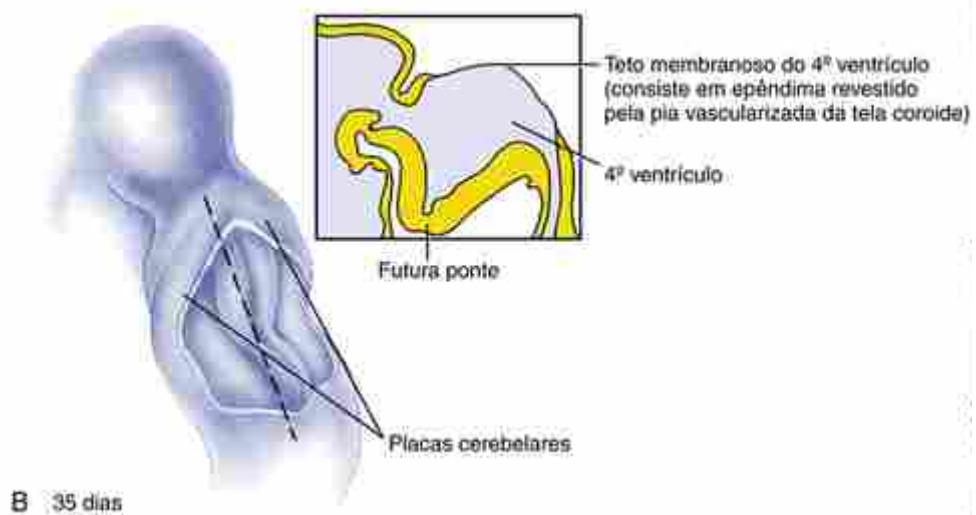
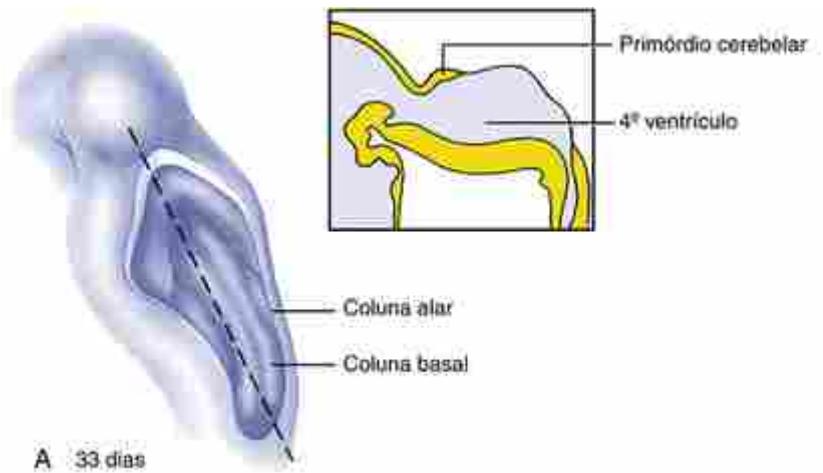


FIGURA 9-8 Desenvolvimento da ponte (A-C). A ponte é formada pela proliferação de células e tratos de fibras no lado ventral do metencéfalo.

O cerebelo é derivado tanto das placas alares do metencéfalo quanto dos lábios rômbicos adjacentes; o último origina as **células granulares do cerebelo** e os núcleos cerebelares profundos (abordados mais tarde). O primórdio do cerebelo é primeiro reconhecido como um par de **placas cerebelares** espessas ou **primórdio cerebelar** (Figs. 9-7 e 9-9). Pelo 2º mês, as porções craneais das placas cerebelares em crescimento se agrupam na linha média, formando um primórdio único que envolve o 4º ventrículo. Este primórdio inicialmente incha apenas no 4º ventrículo e não se expande dorsalmente. Contudo, pela metade do 3º mês, o cerebelo em crescimento começa a expandir dorsalmente, formando uma dilatação em forma de haltere na extremidade cranial do rombencéfalo.

Nesta fase, o cerebelo em desenvolvimento é separado em porção cranial e caudal por um sulco transversal denominado **fissura posterolateral** (Fig. 9-9D). A porção caudal, que consiste em um par de **lobos floculonodulares**, representa a parte mais primitiva do cerebelo. A porção cranial maior consiste em uma dilatação mediana estreita denominada **verme**, que conecta um par de amplos **hemisférios cerebelares**. Esta porção cranial cresce muito mais rápido do que os lobos floculonodulares e se torna um componente predominante do cerebelo maduro.



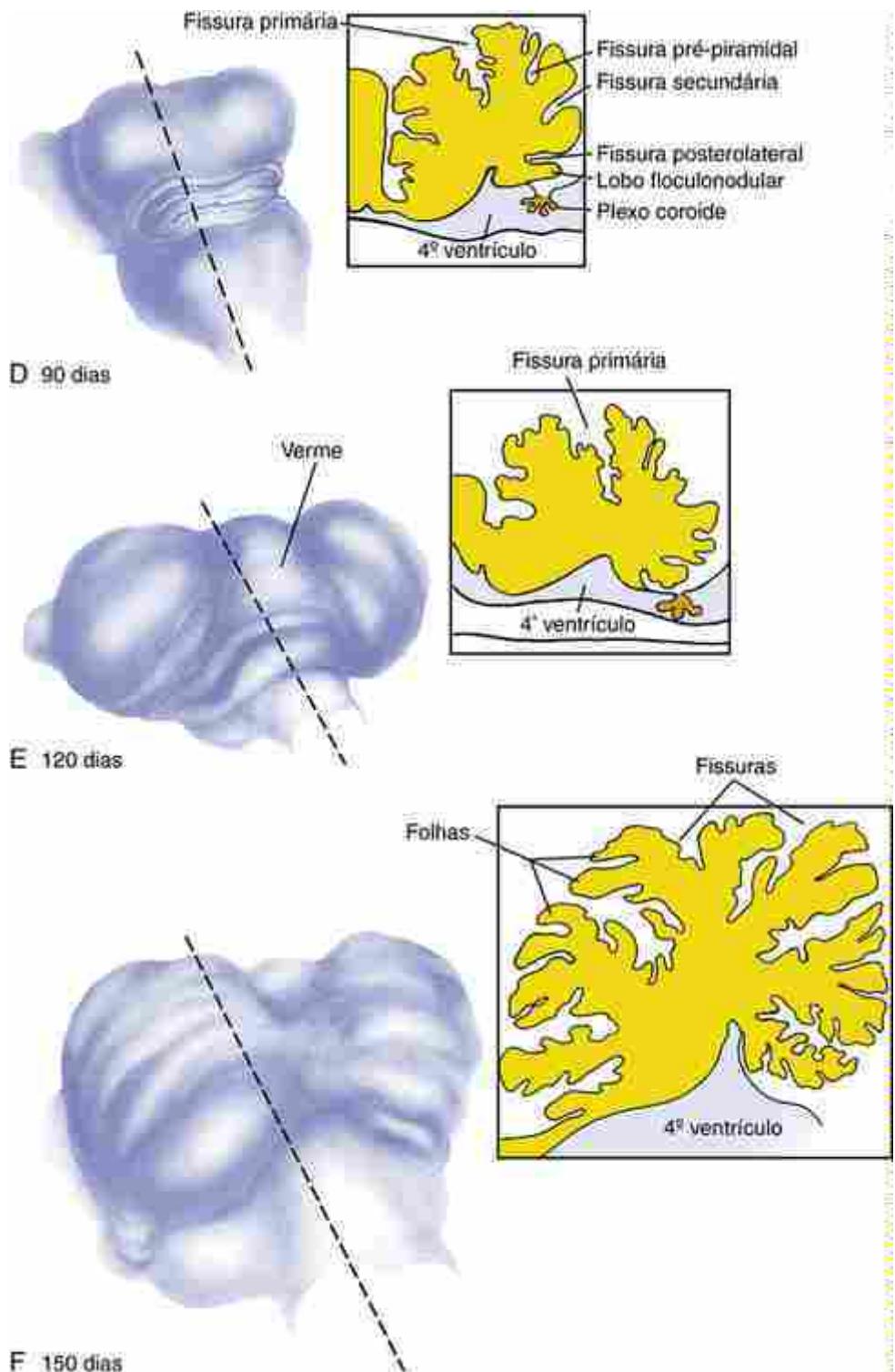


FIGURA 9-9 Desenvolvimento do cerebelo e do plexo coroide do quarto ventrículo. A, B, A proliferação das células nas placas alares do metencéfalo e lábios rômbicos adjacentes formam as placas cerebelares. C, O crescimento posterior cria dois hemisférios cerebelares laterais e um verme central. As fissuras primárias formam e dividem o cerebelo nos lobos anterior e medial. O plexo coroide se desenvolve na placa do teto do quarto ventrículo. D-F, A fissuração continuada subdivide o cerebelo em expansão em lobos adicionais, e então, começando no 3º mês, nos lóbulos e folhas. Este processo aumenta grandemente a área do córtex cerebelar.

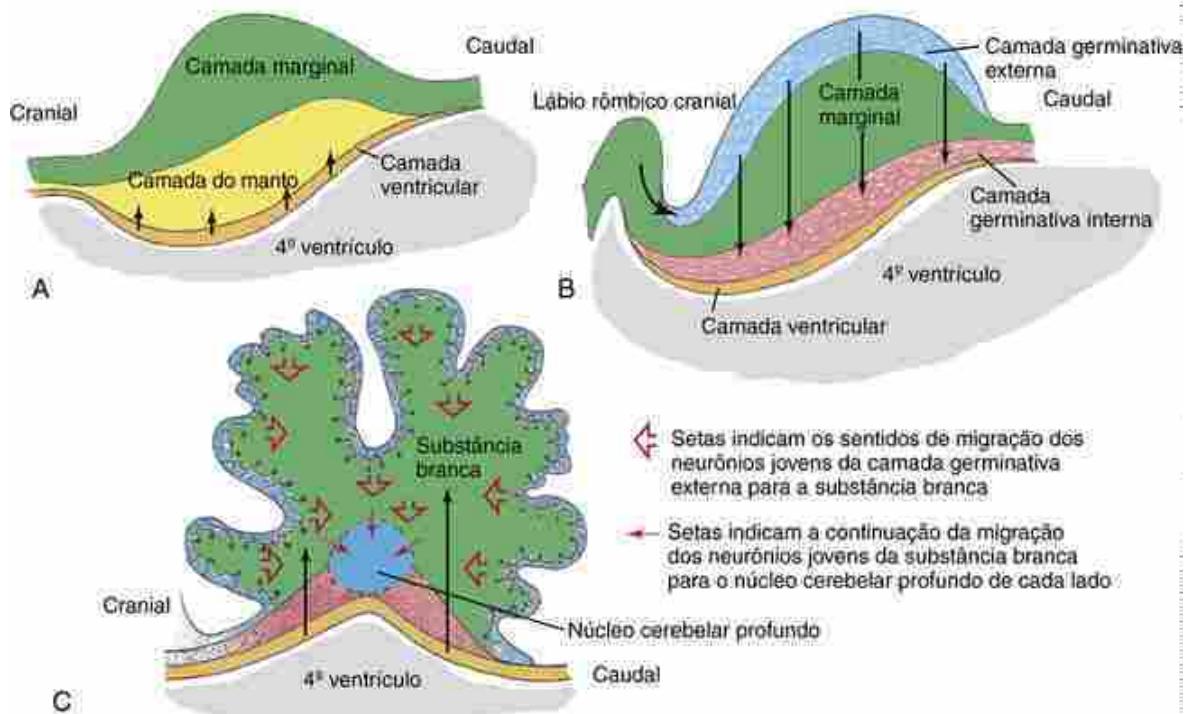
O verme e os hemisférios cerebelares sofrem um intrincado processo de dobragem transversal conforme se desenvolvem. A fissura primária principal aprofunda-se pelo final do 3º mês e divide o verme e os hemisférios em um **lobo anterior** cranial e um **lobo medial** caudal (Fig. 9-9C,D). Estes lobos são posteriormente divididos em uma série de lóbulos pelo desenvolvimento adicional de fissuras transversais (começando com a **fissura secundária** e a **pré-piramidal**) e a superfície dos lóbulos é deslocada em giros transversais compactos em forma de folha denominados **folhas**. Esses processos de formação de fissura e folheação continuam ao longo da vida embrionária, fetal e pós-natal e

aumentam muito a área de superfície do córtex cerebelar ([Fig. 9-9E,F](#)).

O cerebelo tem dois tipos de substância cinzenta: um grupo de **núcleos cerebelares profundos** e um **córtex cerebelar** externo. Quatro núcleos profundos se alinham em cada lado: os **núcleos denteado, globoso, emboliforme** e **fastigial**. Todo o impulso que parte do córtex cerebelar é retransmitido através desses núcleos. O córtex cerebelar tem uma citoarquitetura extremamente regular, semelhante ao longo de todo o cerebelo. Os tipos celulares do córtex cerebelar são dispostos em camadas.

Os núcleos profundos e o córtex do cerebelo são produzidos por um processo complexo de neurogênese e migração neuronal ([Fig. 9-10](#)). Como em outros lugares, o neuroepitélio do metencéfalo sofre uma proliferação inicial para produzir as camadas ventricular, do manto e marginal ([Fig. 9-10A](#)). Contudo, no 3º mês, uma segunda camada de células proliferativas se forma sobre a zona marginal. Esta camada é derivada dos lábios rômbicos mais craniais. Esta nova camada externa de proliferação e neurogênese é denominada **camada germinativa externa** (ou, algumas vezes, **camada granular externa**; [Fig. 9-10B](#)).

Cortes parassagitais através do teto do 4º ventrículo



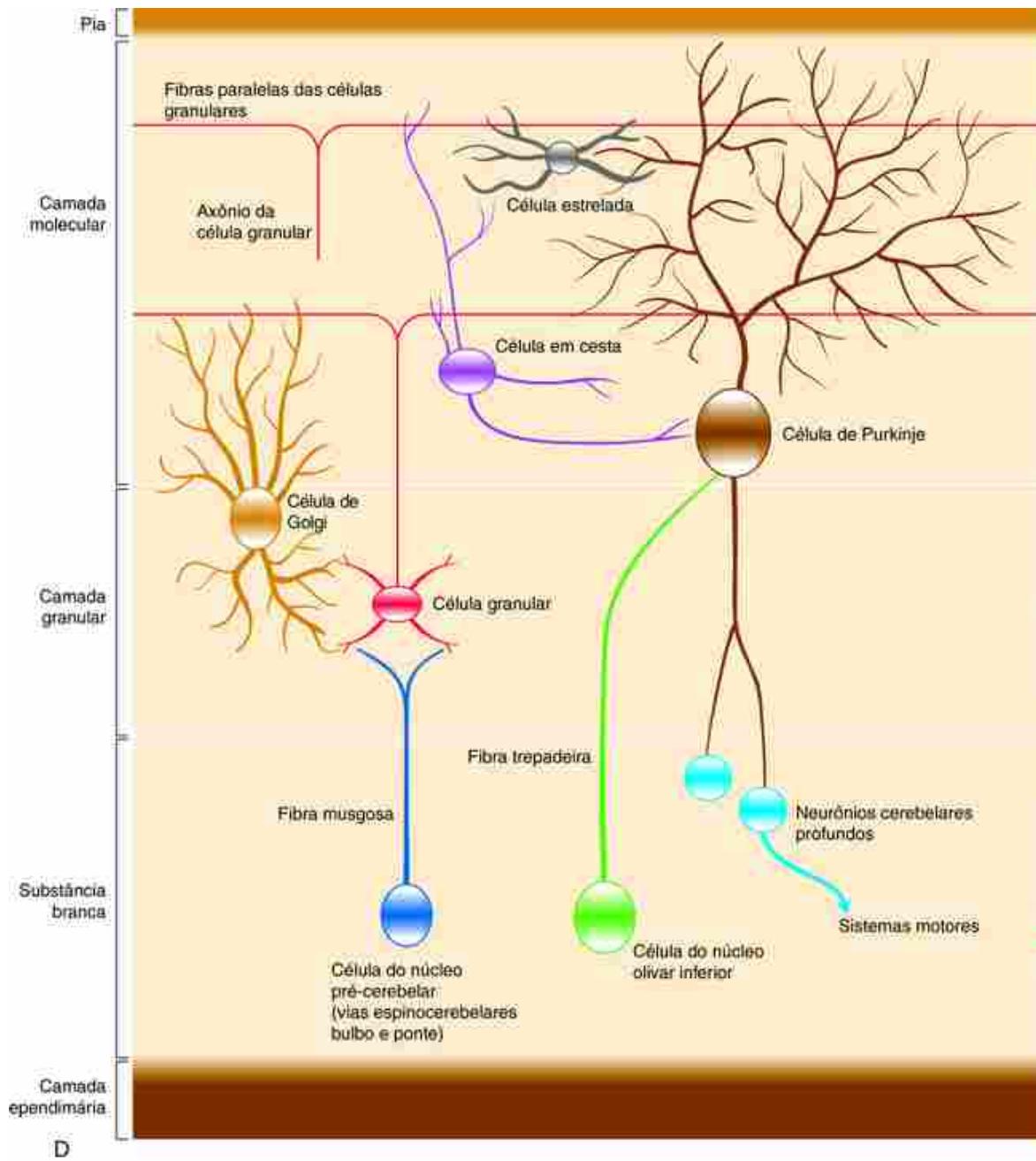


FIGURA 9-10 Citodiferenciação do cerebelo. A, Durante o 2º mês, as típicas zonas marginal, do manto e ventricular se formam ao longo da região metencefálica, a porção dorsal da qual (as placas alares e os lábios rômbicos associados) formam o cerebelo. As setas indicam o movimento de células da camada ventricular para a do manto. B, Durante o 3º mês, duas camadas adicionais se formam: uma camada germinativa externa (derivada dos lábios metencefálicos, cranial e rômbico; setas curvas) e uma camada germinativa interna (composta de células granulares nascidas na camada germinativa que subsequentemente migram em direção ao ventrículo para formar esta camada; setas retas). Os neurônios residindo inicialmente na zona do manto (e nascidos na zona ventricular, nominalmente, células estreladas, em cesta, de Golgi e de Purkinje) estão dispersos na zona marginal, na qual irão subsequentemente se organizar em um padrão distinto. C, Os neurônios (células granulares) produzidos pelas camadas germinativas externas continuam a migrar para o interior (setas vermelhas abertas), enquanto os neurônios produzidos pela zona ventricular continuam a migrar para o exterior (setas pretas fechadas). Alguns dos neurônios que migram para dentro continuam sua migração em sentido ventral para formar os núcleos profundos do cerebelo (setas fechadas vermelhas). D, Estrutura histológica do córtex cerebelar maduro mostrando os quatro tipos de neurônios que se originam da zona ventricular (células de Purkinje, células de Golgi, células em cesta e células estreladas) e um neurônio granular, que se origina da camada germinativa externa (granular). Cada célula granular estende um axônio verticalmente, que se bifurca em dois ramos conhecidos como fibras paralelas. Também são mostradas as conexões dos neurônios um com os outros e as fibras musgosas (das células do núcleo pré-cerebelar), fibras trepadeiras (das células do núcleo olivar inferior) e os neurônios dos núcleos cerebelares profundos. A glia de Bergmann e os oligodendrócitos não são mostrados.

A partir do 4º mês, as camadas germinativas sofrem divisões celulares altamente reguladas que produzem as várias

populações de neurônios cerebelares (Fig. 9-10C). A camada ventricular produz quatro tipos de neurônios que migram para o córtex: as **células de Purkinje**, as **células de Golgi**, as **células em cesta** e as **células estreladas**, assim como suas células da glia associadas (astrócitos – como a glia de Bergmann, que serão discutidos mais adiante – e oligodendrócitos). As células remanescentes do córtex cerebelar, as **células granulares**, surgem da camada germinativa externa. A camada germinativa externa também origina os **neurônios nucleares primitivos**, que migram para formar os **núcleos cerebelares profundos** (Fig. 9-10D).

À medida que as células de Purkinje recém-formadas migram da camada ventricular em direção ao córtex, projetam um axônio que mantém contato sináptico com os neurônios dos núcleos cerebelares em desenvolvimento. Esses axônios irão constituir os únicos eferentes do córtex cerebelar maduro. As células de Purkinje formam uma distinta **camada de células de Purkinje** subjacente à camada germinativa externa, que é inicialmente composta por múltiplas camadas, mas se torna uma camada única quando termina a folheação. As células em cesta e estreladas também migram radialmente a partir da camada ventricular, intimamente associadas às células de Purkinje, e formam a **camada molecular** do córtex definitivo. Uma vez que as células granulares começam a se diferenciar, elas migram (em um sentido oposto ao das células de Purkinje, em cesta e estreladas) da camada germinativa externa através da camada molecular em desenvolvimento em direção à camada ventricular. Aqui, elas formam a **camada germinativa interna** ou **camada granular interna** do córtex em desenvolvimento (Fig. 9-10B), simplesmente chamada de **camada granular** do córtex definitivo (Fig. 9-10D). As células granulares migram ao longo das fibras alongadas das células da glia denominadas **glia (radial) de Bergmann**. Os axônios bifurcados das células granulares cursam transversalmente na mais externa camada molecular do córtex, atravessando e fazendo sinapses com a rede de dendritos em forma de leque das células de Purkinje (Fig. 9-10D).

Na Clínica

Base celular e molecular das malformações e disfunções cerebelares

Ocorre uma variedade de malformações durante o desenvolvimento do cerebelo humano, incluindo **hipoplasias** (hipodesenvolvimento), **displasias** (desenvolvimento anormal do tecido) e **heterotopias** (células fora de posição). Defeitos de desenvolvimento mais sutis na organização dos circuitos corticais cerebelares podem estar por trás de uma plethora de outras desordens. A **esquizofrenia**, por exemplo, que afeta cerca de 1% dos adultos humanos, pode estar relacionada a defeitos precoces na migração neuronal, na expressão de receptores de neurotransmissores ou na mielinização, não apenas no prosencéfalo (a área geralmente considerada afetada na maioria das doenças mentais), mas, surpreendentemente, também no córtex cerebelar. Outro subconjunto de anormalidades cerebelares resulta de **degeneração**. As desordens cerebelares frequentemente resultam em **ataxias** (distúrbios de coordenação).

As ataxias cerebelares podem ser causadas por toxinas ambientais ou anomalias genéticas. O mercúrio, uma toxina ambiental, pode causar dano pontual na camada granular do cerebelo e ataxia em humanos após a exposição. As causas genéticas de ataxia incluem tanto anomalias cromossômicas quanto mutações em um único gene. A trissomia do cromossoma 13 resulta em anomalias encefálicas que afetam o cerebelo e o cérebro. No cerebelo, o verme é hipoplásico e os neurônios localizam-se heterotopicamente na substância branca. A displasia cerebelar, geralmente do verme, é também característica da trissomia do cromossoma 18 e da síndrome de Down (trissomia do cromossoma 21) e pode envolver anomalias das camadas de Purkinje e de células granulares. Uma variedade de síndromes de deleção cromossômicas, incluindo a 5p- (*cri-du-chat*), a 13q- e a 4p-, também pode causar anomalias cerebelares.

Um grande número de ataxias cerebelares é hereditário, com todas as heranças observadas: autossômica recessiva, autossômica dominante, ligada ao X e mitocondrial. São conhecidas várias ataxias cerebelares autossômicas recessivas; uma das mais comuns é a **ataxia de Friedreich**, que afeta os gânglios da raiz dorsal, a medula e o cerebelo. É uma desordem progressiva com início na infância caracterizada por marcha desajeitada, ataxia dos membros superiores e disartria (dificuldade de articulação da fala). Outras síndromes de ataxia cerebelar autossômicas recessivas incluem a **ataxia telangiectasia**, a **síndrome de Marinesco-Sjögren**, a **síndrome de Gillespie**, a **síndrome de Joubert** e a crescente classe de desordens denominadas **transtornos de glicosilação congênitos**. Os últimos três distúrbios frequentemente apresentam malformações cerebelares grosseiras que podem ser diagnosticadas após o nascimento com TC (tomografia computadorizada) ou RM (ressonância magnética).

Mais de 30 **síndromes de ataxia espinocerebelar** autossômicas dominantes foram mapeadas, e os genes foram identificados em cerca de metade delas. Muitas dessas condições são causadas por regiões de **repetição de trinucleotídeos CAG** instáveis na região de codificação dos genes. Os códigos CAG para o aminoácido glutamina e esses transtornos poliglutamínicos ocorrem quando as regiões de resíduos de glutamina atingem um limiar causador da doença. As repetições de trinucleotídeos CAG expandidas são instáveis e podem aumentar em

tamanho conforme elas passam de uma geração para outra, com o início cada vez mais precoce e mais grave da doença. Este agravamento da doença em sucessivas gerações é denominado **antecipação genética**.

As mutações que causam algumas das ataxias cerebelares hereditárias recessivas são conhecidas por afetarem o metabolismo de mucopolissacarídios, lipídios e aminoácidos. No cerebelo, estas mutações causam efeitos como deficiência de células de Purkinje (mucopolissacaridose III), acumulação anormal de lipídios (gangliosidose juvenil) e reduzida formação de mielina (fenilcetonúria). A desordem chamada **atrofia olivo-ponto-cerebelar** parece ser causada em alguns casos por uma deficiência no neurotransmissor excitatório glutamato, que resulta, por sua vez, de uma deficiência na enzima glutamato desidrogenase.

No Laboratório de Pesquisa

Camundongos mutantes com ataxias cerebelares

Um conhecimento mais detalhado dos mecanismos moleculares e celulares que causam as várias anomalias cerebelares tem sido alcançado pela pesquisa em uma série de camundongos mutantes que exibem uma ampla gama de ataxias cerebelares. As estranhas marchas de muitos desses camundongos mutantes podem ser correlacionados com defeitos na citoarquitetura cerebelar. Por exemplo, a marcha com altas e largas passadas do mutante *stumbler* é aparentemente causada pelos defeitos nas células de Purkinje. O mutante *meander tail* também tem defeitos nas células de Purkinje, mas apenas no lobo anterior do cerebelo. O camundongo *vibrator* exibe um tremor postural rápido causado pela degeneração progressiva de neurônios cerebelares. Esse fenótipo tem sido associado a mutações no gene que codifica a proteína alfa transferidora fosfatidilinositol. Os camundongos *tottering* e *leaner* exibem sintomas de ataxia e epilepsia, que são provavelmente decorrentes de mutações na subunidade do gene do canal de cálcio alfa (1A). Em humanos, mutações neste gene têm sido associadas a enxaqueca hemiplégica familiar, ataxia episódica do tipo 2 e ataxia espinocerebelar crônica do tipo 6.

Normalmente, as células granulares que surgem na camada germinativa externa do cerebelo em desenvolvimento produzem processos bipolares e então migram para o interior ao longo das fibras da glia de Bergmann (astrócitos) para povoar a camada de células granulares interna projetando um axônio para trás enquanto migram. No mutante *weaver* homozigoto recessivo, as células granulares falham em emitir processos, falham em migrar e, então, morrem prematuramente.

O camundongo *weaver* apresenta uma mutação sem sentido no gene que codifica para a proteína G acoplada ao canal de potássio retificador de corrente de entrada (Girk2). Ainda não está claro o modo como este defeito leva à morte da célula granular. Contudo, uma série de experimentos *in vitro* utilizando uma mistura de astrócitos do tipo selvagem e do tipo *weaver* e células granulares mostrou que as células granulares do tipo selvagem interagem normalmente com os astrócitos *weaver*, mas as células granulares *weaver* não interagem com os astrócitos do tipo selvagem e não migram ao longo dos processos astrocitários. Assim, a mutação *weaver* tem um efeito direto nas células granulares, mas não nos astrócitos.

As células granulares também interagem com as células de Purkinje, assim como com os astrócitos, e esta interação é requerida para a sobrevivência das células granulares. No cerebelo normal, o número relativo de células granulares é comparável ao número de células de Purkinje. Este ajuste é alcançado por um processo de **morte celular histogênica**, pelo qual o grande excesso de células granulares inicialmente produzidas pela camada germinativa externa é reduzido ao seu número correto. Vários experimentos têm indicado que este processo é automaticamente controlado pelo número de células de Purkinje: aparentemente, as células granulares morrem caso não façam contato com a arborização dendrítica de uma célula de Purkinje. *Sonic hedgehog* é expresso pelas células de Purkinje e é necessário para a proliferação das células granulares e, provavelmente, para sua sobrevivência.

O papel das células de Purkinje na sobrevivência das células granulares foi investigado de duas maneiras. Em um experimento, quimeras do tipo *staggerer*-selvagem foram construídas pela agregação de embriões de camundongos mutantes *staggerer* de oito células com embriões do tipo selvagem seguida da reinserção deles no útero de uma mãe pseudogravida (a **agregação de quimeras** é uma alternativa para a injeção de quimeras, abordada no [Cap. 5](#), para fazer quimeras de camundongo). A morte das células de Purkinje em embriões de camundongos *staggerer* começando no final da gestação (camundongos *staggerer* possuem uma mutação no alfa receptor órfão relacionado RAR, mas a causa da morte das células de Purkinje é desconhecida) resulta no nascimento de animais com números muito diferentes de células de Purkinje normais e selvagens. A análise revelou uma relação linear entre o número de células granulares e o número de células de Purkinje do tipo selvagem, confirmando a hipótese de que a sobrevivência das células granulares depende da presença de células de Purkinje alvo apropriadas. Em outro experimento, a tecnologia transgênica foi usada para matar células de

Purkinje. Foi encontrado que as células granulares sobrepostas pararam sua proliferação e a camada granular interna do córtex cerebelar (normalmente formada pela migração das células granulares; discutido acima) não se formou.

Mesencéfalo

Grande parte do mesencéfalo é composta de substância branca, principalmente os tratos massivos que conectam o prosencéfalo com o rombencéfalo e a medula. O mesencéfalo também contém um número de importantes centros neuronais, incluindo quatro núcleos de nervos cranianos.

Conforme mencionado anteriormente neste capítulo, os núcleos motores dos nervos oculomotor (III) e troclear (IV) estão localizados no mesencéfalo, como está a porção do núcleo sensorial do nervo trigêmeo (V) denominada **núcleo trigeminal mesencefálico** ([Fig. 9-11](#)). Contudo, desses núcleos, apenas aqueles que servem ao nervo oculomotor e ao nervo trigêmeo surgem das células neuroepiteliais mesencefálicas; os núcleos trocleares se originam no metencéfalo e são secundariamente deslocados para o mesencéfalo. Os dois núcleos do nervo oculomotor são o motor somático **núcleo oculomotor**, que controla os movimentos de todos os músculos oculares extrínsecos, exceto o oblíquo superior e o reto lateral, enquanto o eferente visceral geral **núcleo de Edinger-Westphal**, que supre as vias parassimpáticas para o músculo constrictor pupilar e o músculo ciliar do globo ocular.

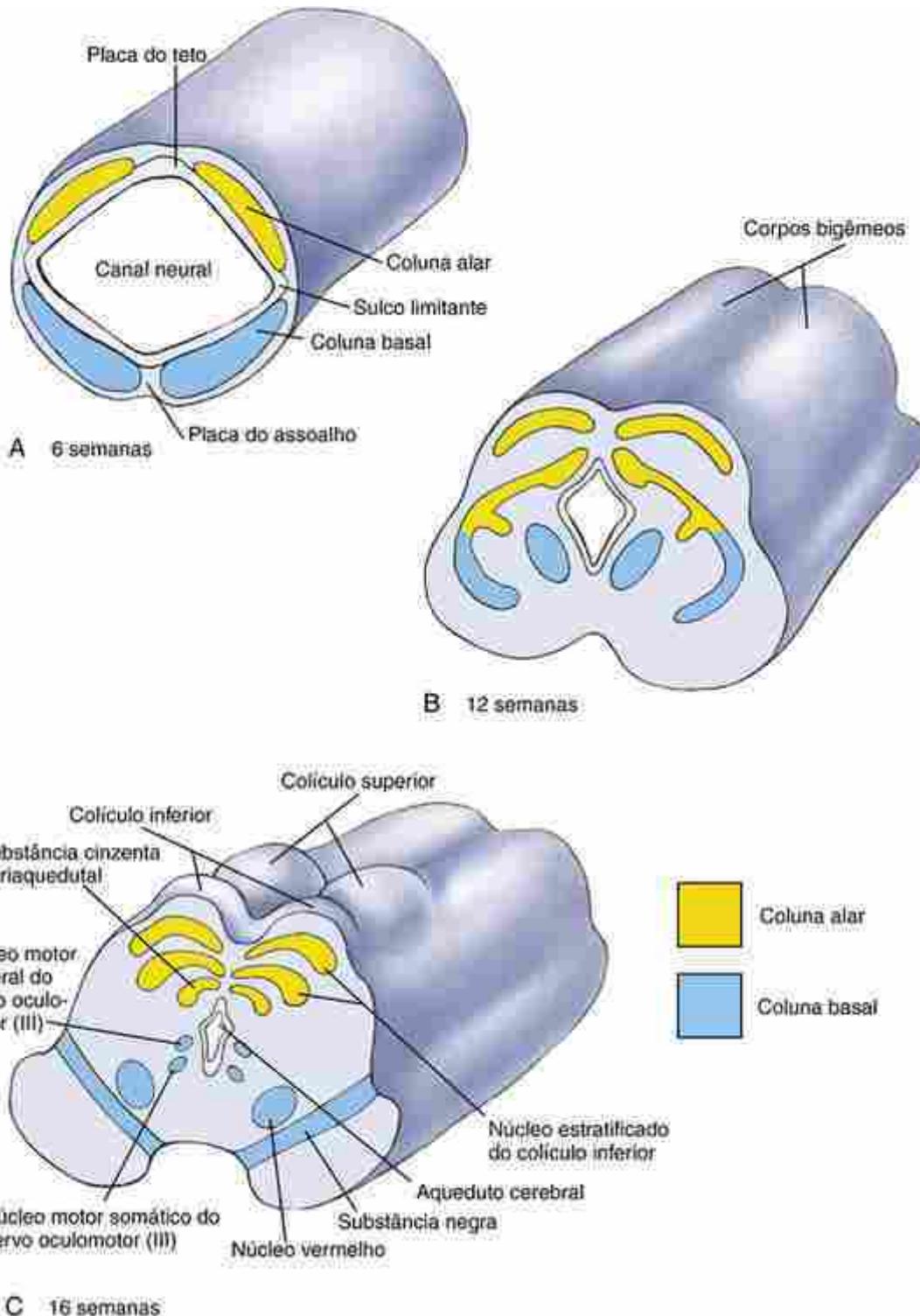


FIGURA 9-11 Desenvolvimento do mesencéfalo. A, B, Um sulco longitudinal raso se desenvolve na superfície dorsal do mesencéfalo entre as semanas 6 e 12, criando o corpo bigeminado. C, Ao longo do próximo mês, um sulco transversal subdivide essas dilatações para produzir os colículos inferior e superior. As colunas alares mesencefálicas formam as camadas nucleadas estratificadas dos colículos, a substância cinzenta periaquedatal e a substância negra. As colunas basais mesencefálicas formam o núcleo rubro e o núcleo do nervo oculomotor.

Os **colículos inferior** e **superior** são visíveis como quatro dilatações proeminentes na superfície dorsal do mesencéfalo (Fig. 9-11C). O colículo superior recebe axônios da retina e controla os reflexos oculares. Em contraste, o colículo inferior forma parte da via sensorial pela qual a informação da cóclea é retransmitida para as áreas auditivas dos hemisférios cerebrais. Os colículos são formados pelas células da placa alar mesencefálica que proliferaram e migraram medialmente. O espessamento dorsal produzido por estas células é subsequentemente dividido por um sulco em um par de **corpos bigeminais** laterais (Fig. 9-11B), que são posteriormente subdivididos no colículo inferior e superior pelo sulco transversal. As sinapses dos axônios das células ganglionares da retina formam mapas espaciais precisos no

colículo superior dos campos sensoriais correspondentes na retina.

Durante o desenvolvimento, o ventrículo primitivo do mesencéfalo se torna o estreito **aqueduto cerebral** (Fig. 9-11C). O líquido cefalorraquidiano produzido pelo plexo coroide do prosencéfalo normalmente flui através do aqueduto cerebral para alcançar o quarto ventrículo. Contudo, várias condições podem levar ao bloqueio do aqueduto durante a vida fetal. A obstrução do fluxo do líquido cefalorraquidiano através do aqueduto cerebral resulta na condição congênita denominada **hidrocefalia**, na qual o terceiro ventrículo e os ventrículos laterais estão inchados com líquido, o córtex cerebral é anormalmente fino e as suturas do crânio são forçadas a se separar, permitindo que os ossos da calvária aumentem em tamanho (Fig. 9-12).

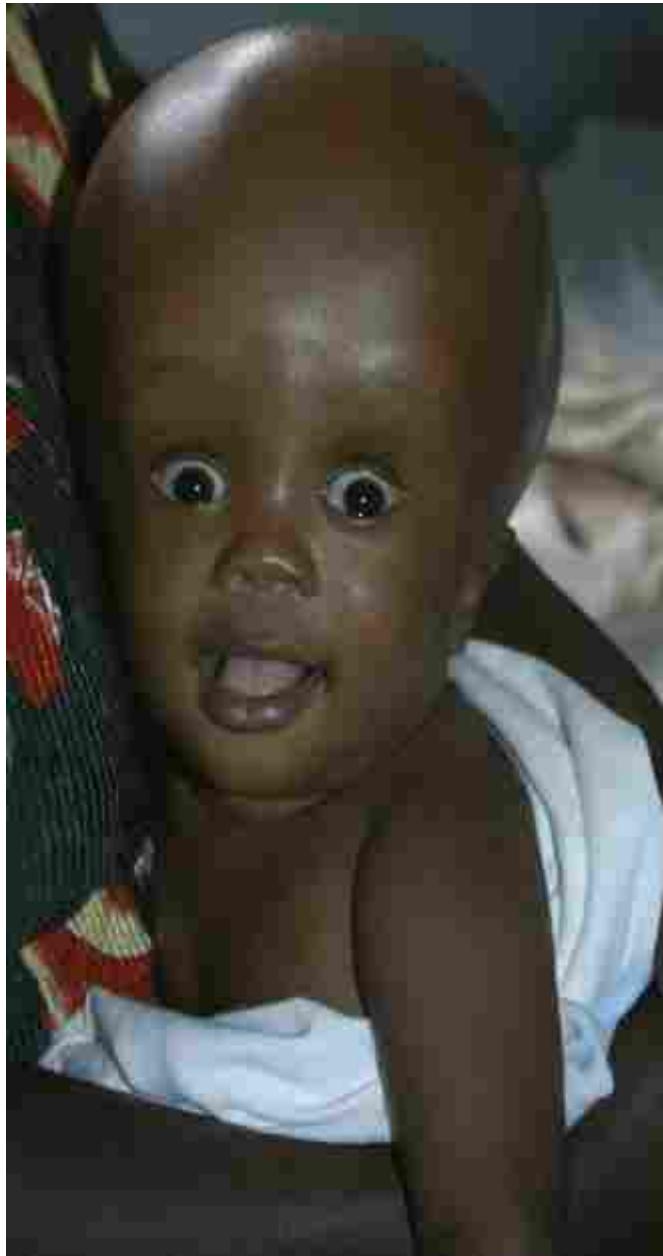


FIGURA 9-12 Hidrocefalia. A obstrução do aqueduto cerebral faz com que os ventrículos do prosencéfalo em desenvolvimento se tornem inchados com líquido cefalorraquidiano. Se não corrigida, pré-natal ou imediatamente após o nascimento, pela inserção de um dispositivo para drenar o líquido cefalorraquidiano dos ventrículos e aliviar o excesso de pressão, o crânio pode sofrer um extremo alargamento conforme ilustrado.

Centros superiores: prosencéfalo

Conforme abordado anteriormente, os centros superiores são constituídos pelo cerebelo (derivado do metencéfalo) e pelo prosencéfalo. O desenvolvimento do cerebelo foi abordado na seção precedente como parte da discussão sobre o

desenvolvimento do rombencéfalo; assim, esta seção discute apenas o desenvolvimento do prosencéfalo e seus derivados.

O prosencéfalo ou encéfalo anterior consiste em duas vesículas encefálicas secundárias: o diencéfalo e o telencéfalo. As paredes do diencéfalo se diferenciam para formar uma série de centros neuronais e tratos que serão discutidos posteriormente. Além disso, a placa do teto, a placa do assoalho e o epêndima do diencéfalo dão origem a várias estruturas especializadas por meio de mecanismos relativamente únicos. Essas estruturas incluem o **plexo coroide** e os **órgãos circunventriculares**, o **lobo posterior da glândula pituitária (neuro-hipófise)** e as **vesículas ópticas**. A origem dos cálices ópticos a partir das pregas neurais diencefálicas é abordada no [Capítulo 19](#).

O fino telencéfalo dorsal (**pálio**) origina os **hemisférios cerebrais**, as comissuras cerebrais e outras estruturas que se juntam a eles. Ele também forma os **bulbos olfatórios** e os **tratos olfatórios**, que, juntamente com os centros olfatórios e tratos dos hemisférios cerebrais, constituem o **rinencéfalo** ("encéfalo do nariz"). A parte ventral mais espessa do telencéfalo, o **subpálio**, se desloca para o canal neural para formar as eminências ganglionares que posteriormente formam os **núcleos da base**.

Diencéfalo

Conforme mencionado anteriormente neste capítulo, as paredes do diencéfalo são formadas pelas placas alares; as placas basais estão ausentes. As placas alares originam três subdivisões que têm sido descritas como neurômeros (denominados **prosômeros**), similares aos rombômeros do rombencéfalo: um neurônomo rostral que forma o **pré-táalamo** e o **hipotálamo**, um neurônomo medial que forma o **táalamo** e o **epitáalamo** e um neurônomo caudal que forma o **pré-tecto** ([Figs. 9-2B e 9-13](#)). O táalamo e o hipotálamo se diferenciam para formar complexos de núcleos que servem a uma grande variedade de funções. O táalamo atua como um centro de retransmissão para o córtex cerebral: ele recebe toda a informação de estruturas subcorticais e projeta para o córtex, processa quando necessário e retransmite para a(s) área(s) corticais apropriadas. Dentro do táalamo, o sentido da visão é processado pelo **núcleo geniculado lateral** e o sentido da audição pelo **núcleo geniculado medial**. O hipotálamo regula a atividade endócrina da pituitária e muitas respostas autonômicas. Ele integra o sistema límbico, que controla a emoção e coordena o estado emocional com as respostas viscerais apropriadas. O hipotálamo também controla o nível de despertar do cérebro (sono e vigília). O pequeno epitáalamo origina estruturas um pouco menores que serão abordadas posteriormente neste capítulo.

Ao final da 5^a semana, o táalamo e o hipotálamo são visíveis como dilatações na superfície interna do canal neural diencefálico, separada por um sulco profundo denominado **sulco hipotalâmico** ([Fig. 9-13A](#)). O táalamo cresce desproporcionalmente após a 7^a semana e se torna o maior elemento do diencéfalo. Os dois tálamos geralmente se encontram e se fundem através do terceiro ventrículo em um ou mais pontos denominados **adesões intertalâmicas** ([Fig. 9-14C](#)).

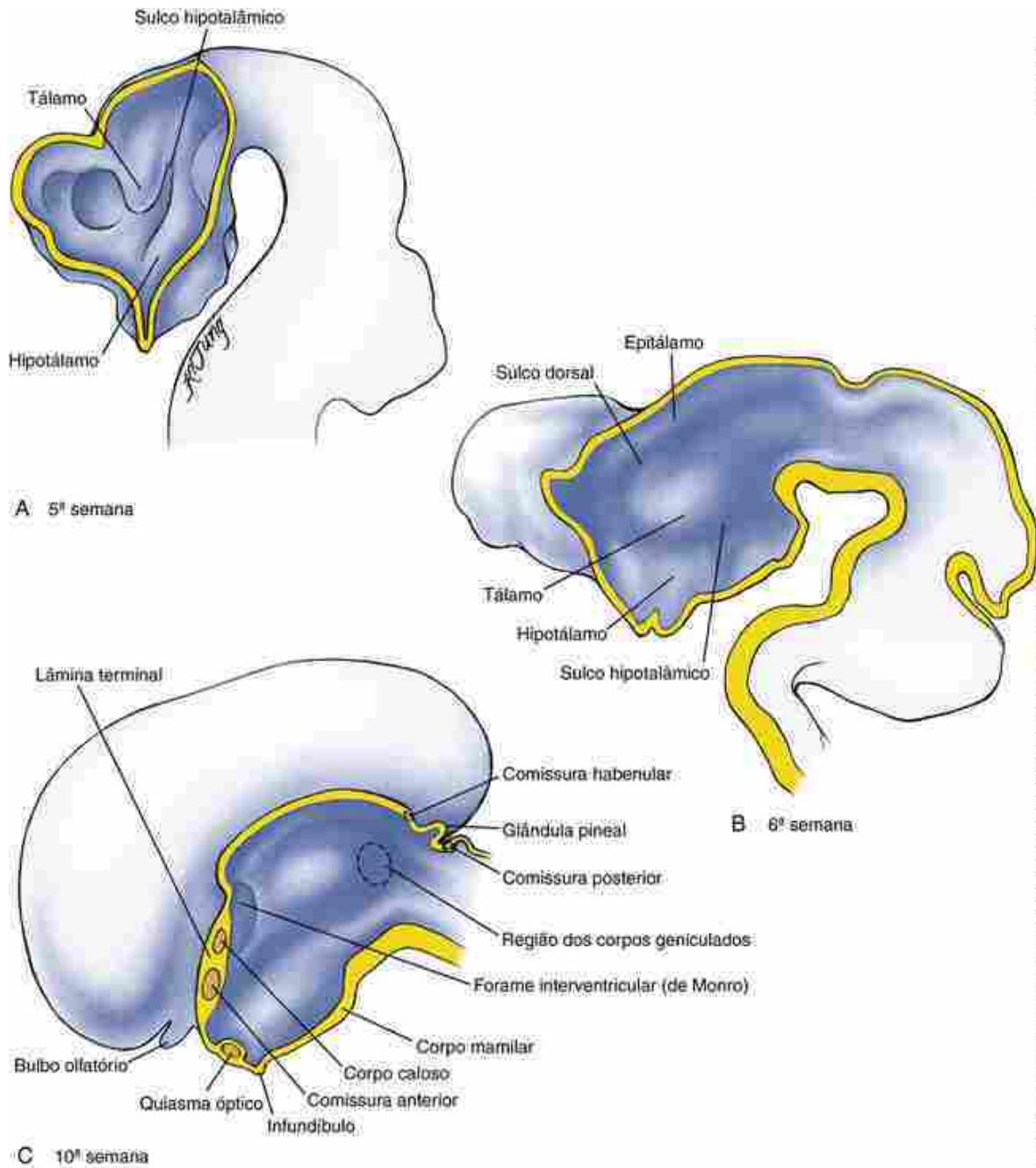


FIGURA 9-13 Desenvolvimento do diencéfalo. A, O tálamo e o hipotálamo tornam-se demarcados por um sulco hipotalâmico durante a 5^a semana. B, Pelo final da 6^a semana, o tálamo é claramente diferenciado do epitálamo mais dorsal por um sulco raso denominado sulco dorsal. C, Por 10 semanas, especializações adicionais do diencéfalo estão aparentes, incluindo o corpo mamilar, a glândula pineal e o lobo posterior da pituitária. O sulco óptico, as comissuras habenular e posterior e os corpos geniculados também são especializações do diencéfalo.

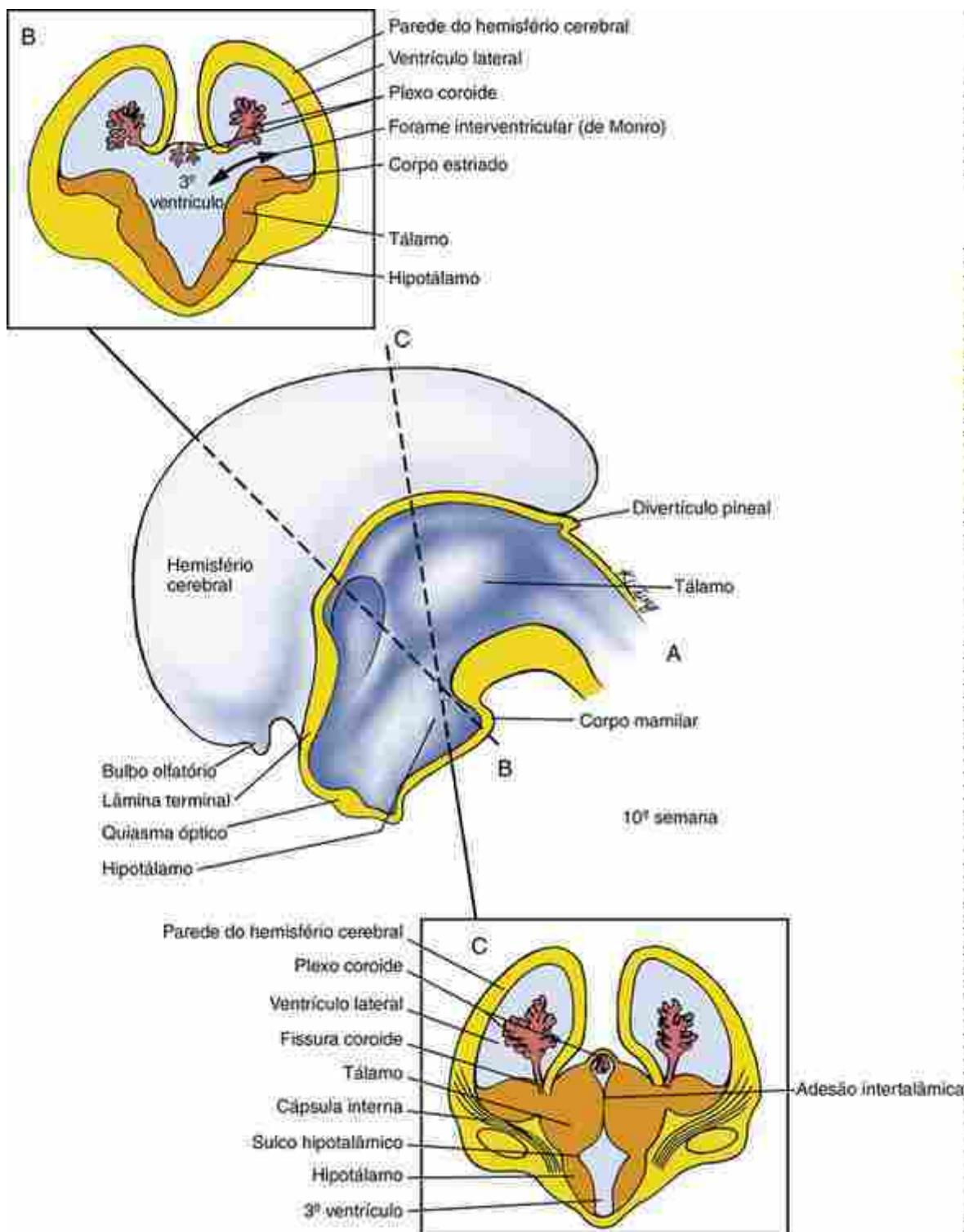


FIGURA 9-14 Desenvolvimento dos hemisférios cerebrais e ventrículos laterais (A-C), como observado em vista sagital (A) e em cortes (B, C) nos níveis indicados em A. O ventrículo lateral em cada hemisfério se comunica com o terceiro ventrículo através do forame interventricular (de Monro). A fissura coroide percorre todo o comprimento de cada ventrículo lateral e contém um plexo coroide, que produz o líquido cefalorraquidiano. As fibras que partem e se dirigem para o córtex cerebral formam o massivo feixe de fibras denominado cápsula interna. O tálamo funciona principalmente como um centro de retransmissão que processa a informação destinada para os hemisférios cerebrais. O tálamo em crescimento se forma no terceiro ventrículo, formando a adesão intertalâmica.

Pelo final da 6^a semana, um sulco raso denominado **sulco dorsal** separa o tálamo da protuberância epitelâmica, que se forma na margem dorsal da parede diencefálica e a placa do teto adjacente (Fig. 9-13B,C). A placa do teto epitelâmica evagina para formar o divertículo da linha média que se diferencia na **glândula pineal** endócrina. O epitelâmo também forma uma estrutura neural denominada **trígono da habênula** (incluindo o **núcleo da habênula**) e duas comissuras pequenas, as **comissuras habenular e posterior**. O crescimento do tálamo eventualmente oblitera o

sulco dorsal e desloca as estruturas epitelâmicas dorsalmente.

As fibras da retina do cálice óptico projetam para o núcleo geniculado lateral. Conforme abordado no [Capítulo 19](#), os axônios das células ganglionares da retina crescem para trás pelos nervos ópticos em direção ao diencéfalo. Pouco antes de entrarem no encéfalo, os axônios em crescimento vindos de ambos os olhos encontram-se para formar o **quiasma óptico** ([Fig. 9-14A](#); ver também [Fig. 9-13C](#)), uma estrutura de junção da linha média na qual os axônios vindos da porção interna (nasal) de cada olho cruzam para o outro lado do encéfalo (decussado), ao passo que as da porção externa (temporal) de cada olho permanecem no mesmo lado; axônios que trazem informação da metade esquerda do campo visual de ambos os olhos projetam para o lado direito do encéfalo e vice-versa. Os feixes resultantes de fibras contralaterais e ipsilaterais projetam, então, de volta para o núcleo geniculado lateral, onde fazem sinapse para formar um mapa do campo visual. Nem todas as fibras da retina projetam para o núcleo geniculado lateral; conforme mencionado anteriormente neste capítulo, algumas delas terminam no colículo superior, onde medeiam o controle do reflexo ocular.

Da região cranial ao epítalamo, a placa do teto diencefálico permanece epitelial. Esta porção da placa do teto se diferencia ao longo do revestimento da pia para formar o par de **plexos coroides** do terceiro ventrículo ([Fig. 9-14C](#)). Em outras partes do terceiro ventrículo, o epêndima forma uma série de estruturas secretórias sem igual que acrescentam metabólitos específicos e neuropeptídos ao líquido cefalorraquidiano. Estas estruturas, coletivamente denominadas **órgãos circunventriculares**, incluem o **órgão subfornical**, o **órgão vasculoso da lámina terminal** e o **órgão subcomissural**.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento do sistema visual: exemplo de como o sistema nervoso forma sua própria rede

Os neurônios de projeção da retina (**células ganglionares da retina**) produzem axônios que crescem em toda a retina e a partir dela, através dos nervos e tratos ópticos, fazem sinapses no **núcleo geniculado lateral** (ou **corpo [NGL]**) do tálamo e no colículo superior (CS) do mesencéfalo dorsal (tecto). Os axônios do núcleo geniculado lateral, então, retransmitem a informação visual para o córtex visual ([Fig. 9-15](#)). O desenvolvimento deste sistema, que é caracterizado pelo mapeamento ponto a ponto altamente preciso das células da retina para os centros superiores, levanta uma série de questões-chave sobre a **orientação axonal** e a formação das **conexões neurais topográficas**.

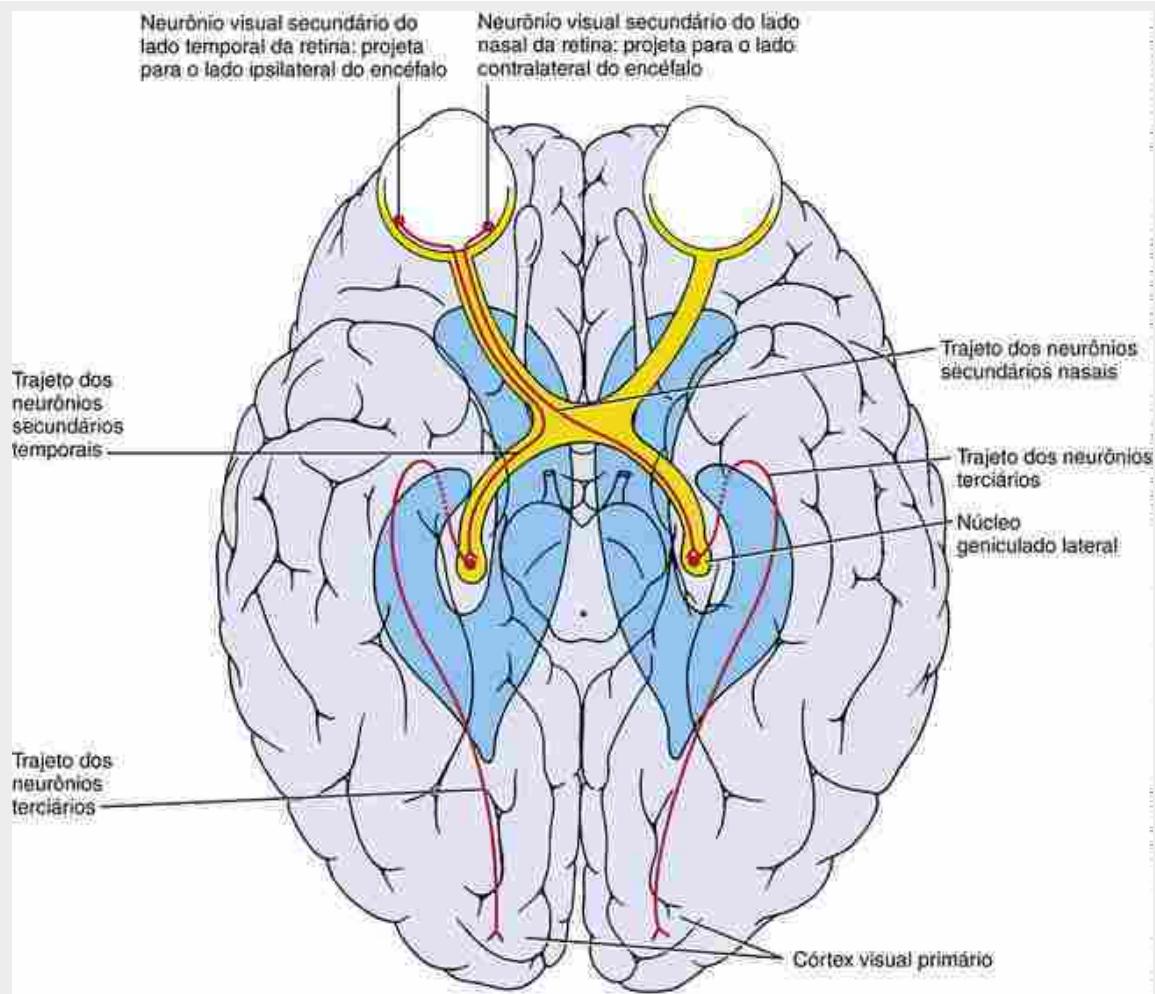


FIGURA 9-15 Trajeto dos impulsos visuais a partir da retina. Os neurônios secundários da via visual decussam parcialmente no quiasma óptico até que cada córtex visual recebe informação do campo visual contralateral. Como mostrado, os axônios da metade nasal de cada retina cruzam o quiasma para entrar no trato visual contralateral, ao passo que os axônios da metade temporal de cada retina entram no trato visual ipsilateral. Esses axônios secundários fazem sinapse nos núcleos geniculados laterais com os neurônios terciários da via visual, os quais projetam para o córtex visual primário no lobo occipital. As sinapses nos núcleos geniculados laterais e no córtex visual estão arranjadas de modo a formar um mapa espacial do campo visual. A posição dos ventrículos laterais está marcada em azul-escuro.

Mais adiante, ficará claro que entre as moléculas usadas para guiar axônios aos seus alvos estão algumas das mesmas moléculas que o embrião usou inicialmente como morfógenos para padronizar a diferenciação celular – exemplo de como um pequeno conjunto de moléculas sinalizadoras é utilizado repetidamente para diferentes processos, em diferentes momentos e em diferentes contextos do desenvolvimento. Contudo, antes de considerar a conectividade neural no sistema visual, devemos examinar como o padrão celular é formado na retina e como isso se traduz no controle da transcrição de moléculas envolvidas na navegação dos axônios da retina.

Padrão Celular na Retina Neural

Conforme abordado no Capítulo 19, cada retina consiste em dois componentes: a **retina neural**, que recebe informação visual e transmite para o encéfalo por meio das células ganglionares da retina, e o epitélio pigmentar, que fica por trás da retina neural. A retina neural por si só consiste em várias camadas de células, mas aqui iremos considerar apenas aquela que reveste sua superfície mais interna: a camada das células ganglionares da retina (CGRs) que projetam de modo ponto a ponto para os centros visuais, criando um mapa do espaço visual no encéfalo. Para garantir o padrão preciso desta conectividade, neurônios individuais da camada CGR devem ser dotados de uma identidade posicional. De modo semelhante ao SNC como um todo, isso é alcançado pelo estabelecimento de padrões ao longo de cada um dos seus eixos planares: CrCd (cranial-caudal; alternativamente referido como nasal-temporal, para denotar sua orientação no crânio) e DV (dorsal-ventral). Ambos os eixos da retina neural são especificados antes da neurogênese, mesmo antes de a retina emergir como uma camada distinta da vesícula óptica.

Um passo inicial na subdivisão das vesículas ópticas envolve a expressão de dois genes *forkhead*, Bf1 e Bf2, de

modo complementar ao longo do eixo CrCd; o Bf1 é altamente expresso no polo cranial (nasal) da retina e o Bf2 no polo caudal (temporal). O domínio cranial é então subdividido posteriormente pela expressão de dois genes *homeobox*, o Soho (para órgãos sensoriais *homeobox*) e o Gh6 (*Gallus homeobox* 6). Cada um destes genes de controle de transcrição desempenha um papel no estabelecimento do padrão celular do eixo CrCd, como evidenciado por estudos com knockout ou superexpressão que resultam em identidades posicionais alteradas das CGRs, reveladas pelas suas projeções aberrantes. Contudo, ainda permanece obscuro como a expressão padronizada destes genes é dirigida por sinais *upstream*.

O eixo DV é padronizado ligeiramente mais tarde do que o eixo CrCd no estágio do cálice óptico. Neste, parece que o mecanismo que rege envolve um gradiente de Bmp4 (proteína morfogenética do osso 4), que se difunde do polo dorsal, e um gradiente complementar de um antagonista de Bmp (ventroptina), que se difunde do polo ventral. Altos níveis de sinalização de Bmp induzem a expressão de um gene de controle de transcrição, o Tbx5, na retina dorsal, ao passo que altos níveis de ventroptina são associados à expressão do gene *homeobox* Vax2 e o gene box pareado Pax2 na retina ventral. A expressão ectópica defeituosa de Tbx5 dorsaliza a retina. Por outro lado, uma expressão defeituosa de Vax2 resulta na ventralização, incluindo a redução dos fatores dorsais Bmp4 e Tbx5, e erros de projeção dos axônios das CGR dorsais. O modo como a polaridade da retina determinada por esses fatores de transcrição é traduzida na expressão graduada de moléculas receptoras de direcionamento axonal será abordado a seguir.

Localização Espacial dos Alvos dos Axônios da Retina

Conforme abordado no [Capítulo 10](#), uma estrutura especializada na extremidade do axônio denominada **cone de crescimento** é responsável pelo direcionamento dos axônios ([Fig. 9-16](#); ver também [Fig. 10-12](#)). A primeira tarefa para os cones de crescimento das células ganglionares da retina, depois de entrarem na camada de axônios que reveste a superfície interna da retina, é crescer para o **disco óptico** e, então, girar abruptamente para afunilar no **nervo óptico** ([Fig. 9-17](#)). A expansão dos cones de crescimento dos axônios das células ganglionares da retina e o direcionamento dos seus cones de crescimento para o disco óptico parecem requerer interação com os pés terminais da glia radial (especializações do lado luminal da glia radial) dentro da camada interna da retina neural, células de adesão associadas e moléculas da matriz extracelular. Realmente, muitos desses fatores associados ao substrato ou difusíveis parecem desempenhar um papel na orientação dos cones de crescimento da CGR, tanto na retina quanto no nervo óptico. Estes incluem a laminina, L1, axonina-1, Ncam, netrinas, slits, semaforinas, efrinas, hedgehogs e sFrps. Algumas dessas moléculas atuam como moléculas de atração e outras como repelentes, servindo para manter os axônios em um determinado caminho pela influência repelente da redondeza. Além disso, a sobrevivência da CGRs na retina pode ser suportada por **fatores tróficos**, incluindo um fator produzido pelas células epiteliais pigmentadas. Outros fatores tróficos que dão suporte à sobrevivência das CGRs incluem o Bdnf e a neurotropina 4/5.



FIGURA 9-16 Micrografia eletrônica de varredura de um cone de crescimento. Note os numerosos filopódios e lamelipódios.

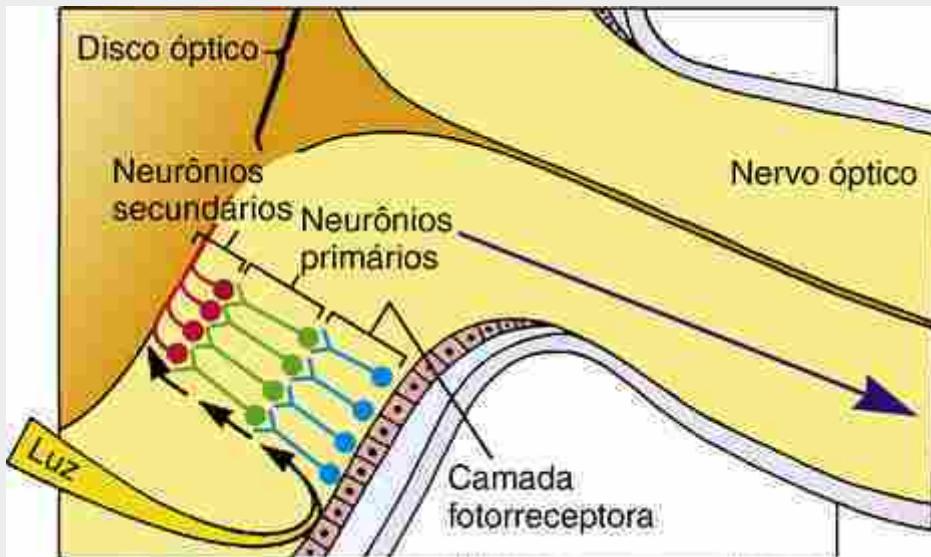


FIGURA 9-17 Organização dos neurônios da retina e do nervo óptico. As células fotorreceptoras – bastonetes e cones – formam a camada mais profunda da retina neural (a camada mais distante do humor vítreo). A informação dos bastonetes e cones é recolhida por uma camada de neurônios visuais primários curtos, que fazem sinapse na retina com os neurônios visuais secundários. Os axônios desses neurônios secundários atravessam a superfície da retina e, então, viajam pelo nervo óptico para o encéfalo.

O direcionamento dos cones de crescimento da CGR em direção ao disco óptico localizado centralmente é particularmente influenciado por interações atrativas, envolvendo as vias de sinalização de **laminina** e **netrina**, mas também é regulada por sua repulsão da periferia da retina neural. Um gene *zinc-finger (dedo de zinco)*, o **Zic3**, que é fortemente expresso na periferia da retina com um gradiente decrescente em direção ao disco óptico, parece regular a expressão (até aqui não identificados) dos fatores repelentes de axônios. Quando os cones de crescimento alcançam o disco óptico, sua morfologia muda de um cone simples para uma estrutura ativamente pleomórfica complexa que expõe numerosos processos denominados **filopódios** (Fig. 9-16). Os filopódios, especialmente, têm sido implicados na detecção e transdução de sinais ambientais que guiam o cone de crescimento aos seus alvos. O aumento da complexidade morfológica do cone de crescimento em tais **pontos de escolha** reflete sua resposta aos

sinais ambientais que determinam seu comportamento. Os cones de crescimento dos axônios da retina retornam a uma forma simples e cônica assim que entram no nervo óptico, mas se tornam novamente complexos quando alcançam o **quiasma óptico**, onde devem decidir se cruzam para o outro lado do cérebro.

Metade dos Axônios Ganglionares da Retina Cruza a Linha Média

Na maioria dos vertebrados inferiores, cujos campos visuais direito e esquerdo são separados, todos os axônios cruzam o quiasma óptico e inervam o lado contralateral do encéfalo. Em humanos, metade dos axônios de cada retina (aqueles das metades nasal ou medial) cruzam para o outro lado e forma o trato óptico, ao passo que os axônios da metade lateral (ou temporal) desviam para a porção ipsilateral do trato óptico, onde se juntam aos axônios que já cruzaram vindos da retina nasal contralateral (Fig. 9-18; ver também Fig. 9-15). A opção de um axônio da CGR permanecer ipsilateral ou cruzar (**decussar**) o quiasma existe apenas para animais com visão **binocular**, nos quais os campos visuais dos olhos esquerdo e direito se sobrepõem e a informação de um campo visual é transmitida de ambos os olhos para um lado do encéfalo. Como, no caso de binocularidade, alguns axônios sabem que devem cruzar o quiasma óptico enquanto outros sabem que não devem fazê-lo?

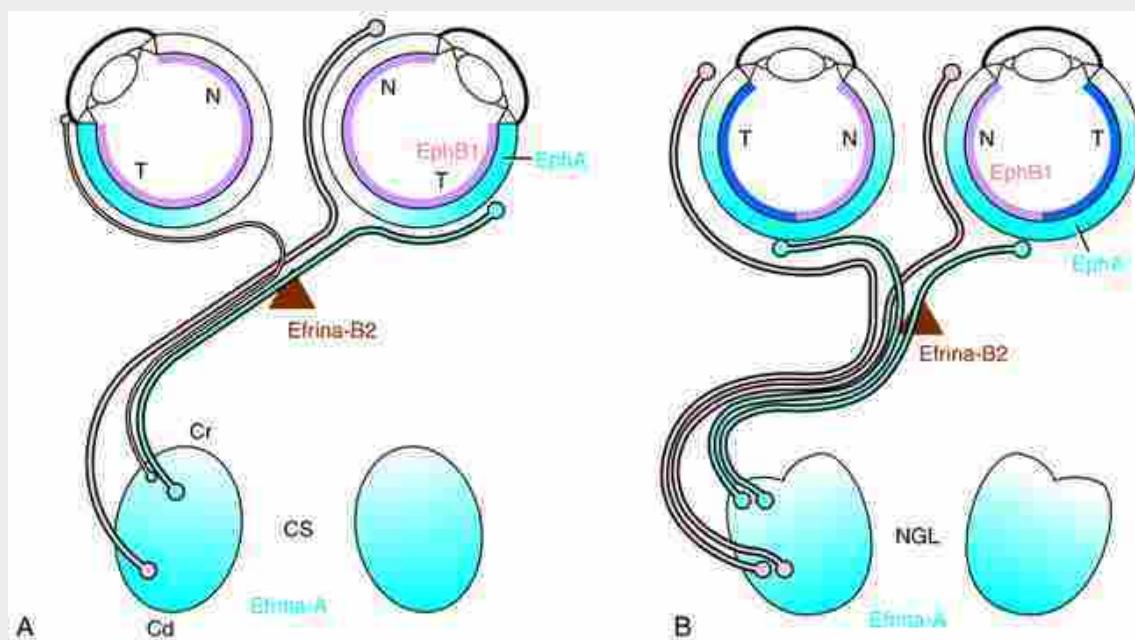


FIGURA 9-18 Mapeamento visual no camundongo e no homem. No camundongo (A), a grande maioria das células ganglionares da retina (CGR) projeta para o colículo superior (CS) no mesencéfalo e a minoria projeta para o núcleo geniculado lateral (NGL, não mostrado) no diencéfalo. O campo visual é apenas parcialmente binocular, tanto que apenas um pequeno contingente de axônios da hemirretina temporal (T) projeta para o CS ipsilateral, ao passo que todos os outros projetam contralateralmente. A CGR ipsilateral expressa receptores EphB1, que regulam sua exclusão das células da linha média do quiasma que expressam efrina-B2. Os receptores EphA são expressos em um gradiente temporal-nasal decrescente, complementar ao gradiente do ligante efrina-A no CS. Os axônios da hemirretina temporal (T) são excluídos do CS caudal (Cd) por interações repelentes entre EphAs e efrinas-A e, desta forma, projetam para o CS cranial (Cr). A CGR nasal (N) projeta para o CS caudal (Cd). Em humanos (B), a grande maioria da CGR projeta para o NGL e apenas uma minoria projeta para o CS (não mostrada). O campo visual é binocular, tanto que toda a hemirretina temporal projeta ipsilateralmente e toda a hemirretina nasal projeta contralateralmente. A CGR projetando ipsilateral e contralateralmente de ambos os olhos que veem o mesmo ponto no espaço terminam na mesma posição craniocaudal no NGL, mas em camadas olho-específicas adjacentes.

O quiasma óptico do camundongo tem se destacado como um modelo para investigar essa questão, sendo particularmente propício à manipulação genética, a despeito do fato de que no camundongo apenas uma pequena parte do sistema visual é compartilhada por ambos os olhos e uma pequena região correspondente da retina (a **crescente ventromedial**) projeta ipsilateralmente (Fig. 9-19). Estudos recentes têm revelado a expressão combinada de uma molécula repelente de axônio (efrina-B2) pelas células da glia da linha média no quiasma óptico e um receptor (EphB1) para este ligante exclusivamente na CGR da retina ventromedial. As **efrinas** são uma grande família de ligantes que podem causar o colapso do cone de crescimento com perda ou lentificação da sua atividade locomotora, quando detectada por um neurônio que expressa um receptor tirosina quinase da família **Eph** (as efrinas são abordadas com mais detalhes no Cap. 5). Quando a função da efrina-B2 é bloqueada de modo significativo, todos os axônios se projetam contralateralmente, recapitulando a condição “padrão” primitiva da via

visual monocular. Normalmente, a função da efrina-B2 faz com que os cones de crescimento que são sensíveis a ela sejam repelidos da linha média e se juntem na via formada por axônios que cruzaram a partir do outro lado. É interessante notar que a metamorfose das rãs é acompanhada pela aquisição de uma projeção visual ipsilateral: à medida que os olhos posicionados lateralmente nos girinos se deslocam em direção ao topo da cabeça, os originalmente separados campos visuais se sobrepõem até certo ponto e os axônios da retina começam a se projetar para o tecto ipsilateral. Isso se correlaciona com o início da expressão de efrina-B2 no quiasma óptico e de EphB1 na retina ventrot temporal – novamente consistente com um papel central para a sinalização Eph/efrina em efetuar o encaminhamento ipsilateral dos axônios. Regulando o fenótipo de não cruzamento da CGR, e provavelmente a expressão de EphB1, está o fator de transcrição zinc-finger Zic2, que é expresso exclusivamente nestas células. Em experimentos de perda de função genética em camundongos, a CGR ventrot temporal projeta contralateralmente.

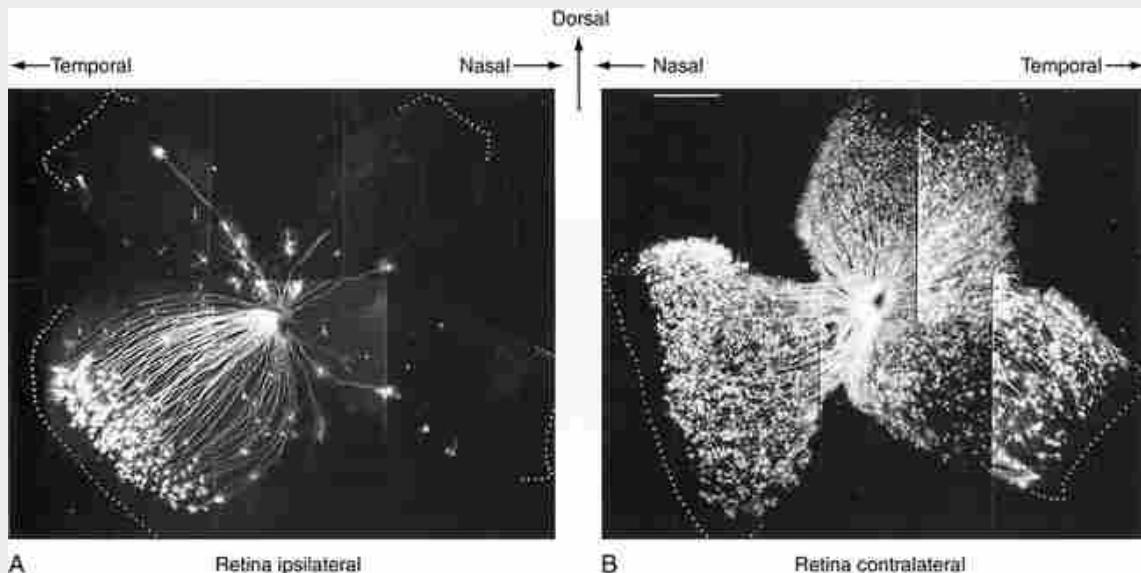


FIGURA 9-19 Uma técnica de “marcação de trato” utilizada para mostrar a projeção dos neurônios secundários da retina para sítios particulares do trato óptico. O uso de marcadores para analisar o arranjo dos axônios projetados por neurônios distantes é uma técnica neurobiológica tradicional. Neste exemplo, um cristal do corante carbocianina Dil foi inserido no trato óptico de um camundongo com 16,5 dias de vida em um sítio caudal ao quiasma óptico. Após o corante ter tido tempo para se difundir ao longo dos axônios, as retinas ipsilateral (A) e contralateral (B) foram montadas planas em um corte para microscopia e foram examinadas com microscópio de fluorescência para determinar quais dos axônios foram preenchidos retrogradamente com o corante. Os axônios preenchidos retrogradamente podem representar a população de axônios que projetam para o sítio onde foi inserido o cristal no trato óptico. Na retina ipsilateral (A), os neurônios secundários localizados principalmente na crescente ventrot temporal projetam para o sítio do cristal, ao passo que na retina contralateral (B) neurônios de todas as áreas projetam para este sítio. Este padrão é característico da retina adulta. Fibras das retinas ipsilateral e contralateral estão misturadas no trato óptico no sítio do cristal.

O desvio dos axônios temporais de volta para o trato óptico ipsilateral depende também da presença dos axônios vindos do olho oposto, que já cruzaram pelo quiasma construindo uma **via pré-formada**, na qual os axônios ipsilaterais podem aderir. Se o olho oposto for removido em um embrião de camundongo, de modo que os axônios que cruzam nunca se desenvolvam, os axônios que procuram alvos ipsilaterais do olho remanescente param por um longo período no quiasma e não podem mais se projetar adiante. A formação normal do trato ipsilateral parece depender de interações aderentes com os axônios que já cruzaram, tendo como candidato a molécula de adesão L1 da família das imunoglobulinas. Em camundongos com falta dessa proteína, a projeção ipsilateral é severamente diminuída. Outro fator que influencia a escolha do caminho dos axônios no quiasma é a presença de melanina, que é expressa normalmente pelas células do quiasma. Em albinos oculares de numerosas espécies, muitos axônios vão para o lado errado do encéfalo, o que resulta em anomalias de posicionamento que prejudicam a acuidade visual e podem alterar a morfologia dos núcleos geniculados laterais.

Os Axônios das Células Ganglionares da Retina (CGR) Formam Mapas Precisos do Espaço Visual Quando Fazem Sinapses no Teto e no Núcleo Geniculado Lateral

Cada axônio da retina segue para a região correta no núcleo geniculado lateral (NGL) e faz sinapse com os neurônios-alvo corretos, desta forma reproduzindo no NGL a informação espacial da retina ponto a ponto. Um feito semelhante é realizado pelos axônios do NGL, que crescem de volta para o lobo occipital do cérebro, onde eles

são mapeados no **côrtez visual primário (estriado)**. Os axônios dos olhos esquerdo e direito fazem sinapses em camadas olho-específicas distintas no NGL. Por meio desses mapas neurais, passando entre sucessivos estágios na via neural, uma representação do mundo visual é transmitida para o córtex, que integra os campos visuais esquerdo e direito e forma uma imagem que é congruente entre os dois olhos (Fig. 9-18).

Mapas visuais precisos também são reproduzidos pelo envio de populações específicas de axônios da CGR para o colículo superior (CS) – o homólogo do tecto dos vertebrados inferiores. Em humanos e outros primatas, para os quais a visão é um sentido dominante, apenas uma pequena minoria dos axônios da CGR projeta para o CS, visto que a maioria dos axônios da CGR projeta para o NGL. Em roedores, que carecem de grande acuidade visual, a situação é oposta – a grande maioria dos axônios da CGR se projeta para o CS. O CS, juntamente com outras regiões do tecto, incluindo o colículo inferior, integra a informação visual, auditiva e somatossensorial e coordena as respostas reflexas para o movimento, som e sensação somática.

A questão sobre como se dá o mapeamento visual é de interesse não apenas próprio, mas também porque os mapas espaciais são uma característica comum e representativa do SNC, em especial dos sistemas sensoriais. Uma série de estudos começou a lançar alguma luz sobre o complexo quebra-cabeça sobre como os mapas são formados, a maior parte dos quais envolvendo a experimentação com as projeções retinotectais/retinocoliculares de embriões de peixe-zebra, *Xenopus*, galinhas e camundongos. O mapa visual é criado em duas etapas. Primeiro, uma série de **pistas independentes da atividade** guiam os axônios da retina em crescimento para a proximidade do ponto correto (**zona de terminação**) no tecto/CS, onde eles arborizam extensivamente e fazem sinapses para formar um mapa grosso. Segundo, estas sinapses iniciais, um tanto quanto desfocadas, são refinadas pela retração **dependente de atividade** da arborização dendrítica pela reconexão axonal secundária e por morte celular das células com alvos incorretos para formar um mapa altamente ajustado ponto a ponto.

As sinapses dos axônios das CGRs no teto óptico reproduzem a organização espacial da retina nos dois eixos ortogonais de modo que o eixo temporonasal (TN) da retina é mapeado no eixo craniocaudal (CrCd) do teto e o eixo dorsoventral (DV) da retina é mapeado no eixo mediolateral (ML) do teto (Fig. 9-18). A relação é tal que os eixos da retina e do teto têm orientação inversa, isto é, a retina nasal (originalmente cranial no eixo neural) é mapeada no teto caudal e a retina ventral é mapeada no teto medial (originalmente dorsal). Esta inversão corrige efetivamente a inversão do campo visual produzida pelos cristalinos.

Após atravessar a superfície do diencéfalo para alcançar o mesencéfalo dorsal, os cones de crescimento dos axônios da retina entram no tecto em sua borda cranial e crescem em direção à borda caudal, isto é, eles crescem quase paralelos à linha média (Fig. 9-20). Em embriões de galinha e de camundongos, os axônios podem ultrapassar suas zonas de terminação por uma distância considerável e a conectividade retinotópica apropriada ocorre por meio da ramificação intersticial de colaterais das principais hastes dos axônios. Os ramos intersticiais brotam nas posições aproximadamente corretas no eixo CrCd, que podem estar atrás do cone de crescimento, e crescem em ângulos retos em relação à haste do axônio para alcançar suas zonas de terminação corretas no eixo ML. Em peixes e sapos, em contraste, a zona de terminação correta é alcançada diretamente pelo cone de crescimento primário. Nessas espécies, que crescem continuamente ao longo da vida, a projeção retinotectal muda constantemente para incorporar os incrementos radiais do crescimento da retina no mapa tectal com duas dimensões ortogonais.

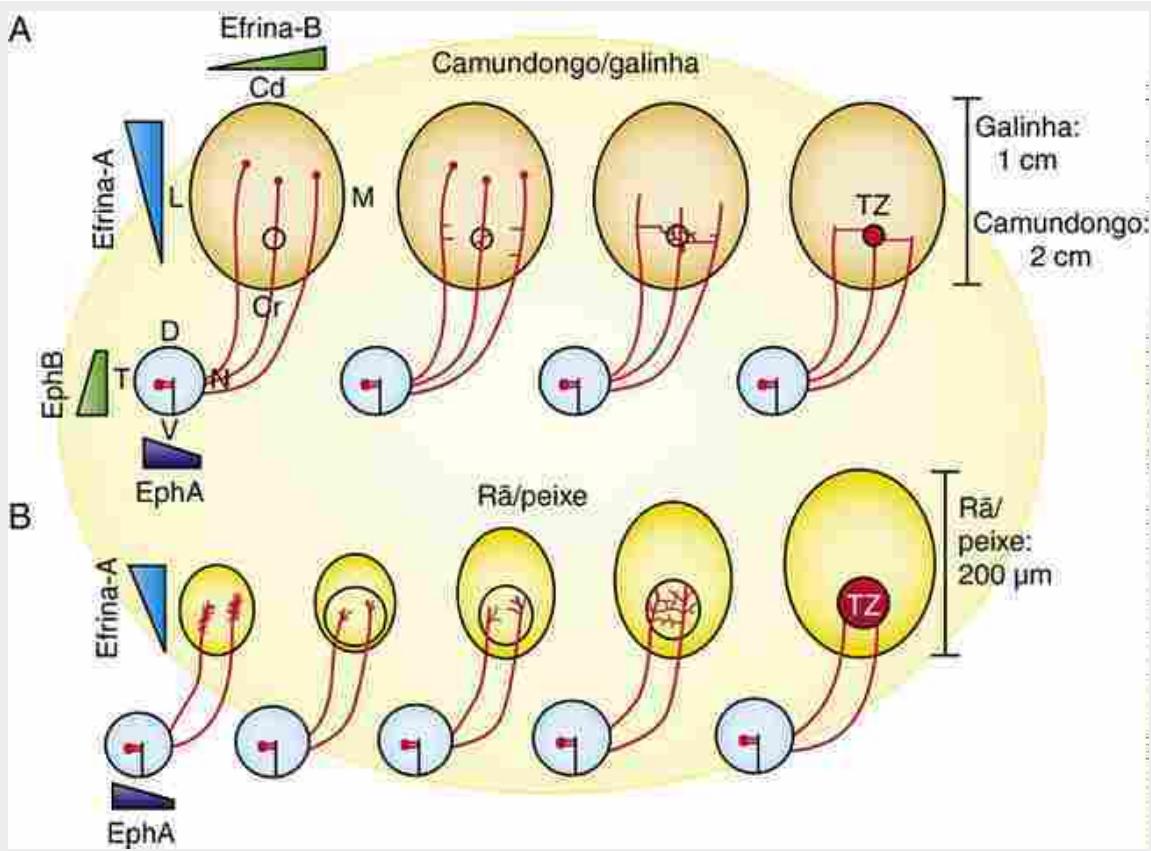


FIGURA 9-20 Desenvolvimento das projeções visuais em aminiotas (galinha e camundongo) (A) e em não aminiotas (rã e peixe). Em todas as espécies, o eixo temporal-nasal da retina (TN) está mapeado no eixo cranial-caudal do tecto/colículo superior (CrCd) e o eixo dorsal-ventral da retina (DV) está mapeado no eixo medial-lateral (ML) do tecto/colículo superior. As zonas de terminação (TZ) das células ganglionares da retina (CGR) são estabelecidas de acordo com a posição nos gradientes ortogonais de efrinas-A (eixo CrCd) e efrinas-B (eixo ML). Nos aminiotas, as zonas de terminação são ajustadas por colaterais que projetam intersticialmente da haste principal do axônio, que podem se estender bem além da TZ. Em não aminiotas, as TZs são ajustadas diretamente pelos cones de crescimento das CGR. Em ambos os casos, a arborização extensiva na TZ antes do mapa ponto a ponto final ser alcançado pelo refinamento secundário pela retração dependente de atividade.

Contudo, em todas as espécies, uma vez que um axônio ou um colateral alcança a posição no CrCd e no ML, que mapeia a posição do neurônio vizinho na retina, ele invade o tecto e arboriza extensivamente nas camadas destinatárias da retina. Este mapeamento ponto a ponto pode ser controlado, pelo menos em parte, por gradientes complementares de efrinas expressas no tecto e de receptores Eph expressos na retina. Por exemplo, a efrina-A2 e a efrina-A5 são expressas em gradientes crânio-caudais crescentes, ao passo que seus receptores EphA são expressos em um gradiente que aumenta do nasal para o temporal. As efrinas-A são repelentes potentes dos cones de crescimento e inibidores da ramificação intersticial. Devido ao nível de receptor EphA em uma célula determinar o grau em que seus axônios (ou capacidade de arborização) são inibidos pelas efrinas-A, os axônios temporais estão mais sujeitos a intensa repulsão do que os axônios nasais e, assim, são confinadas ao tecto anterior. Os contragradientes dos receptores e ligantes podem aguçar a capacidade dos axônios de encontrarem suas zonas de terminação corretas ao longo do eixo nasal-temporal do tecto de acordo com limiares particulares de inibição.

Um mecanismo similar que envolve gradientes complementares de ligantes efrina-B e de receptores EphB opera no mapeamento do eixo DV da retina no eixo ML do tecto. Aqui, contudo, evidências tanto em rãs quanto em camundongos apontam para uma interação atrativa ao invés de uma repelente, e a CGR ventral com alta expressão de EphB projeta para o teto medial com alta expressão de efrina-B.

Há quase 50 anos, o trabalho no sistema visual da rã levou Sperry a propor a **hipótese de afinidade química** para a formação dos mapas topográficos, que asseguram que cada posição no tecto óptico tem um endereço único ditado pelo gradiente de distribuição de marcadores moleculares ao longo dos eixos ortogonais, pareados por uma distribuição equivalente de marcadores na retina. Esta hipótese, longamente negligenciada em favor de mecanismos mais mecânicos para direcionamento dos axônios, tem sido substancialmente justificada pela descoberta dos gradientes Eph/efrina e seu papel central no mapeamento retinotectal.

Vimos anteriormente como certos fatores de transcrição podem conferir polaridade à retina neural e identidade posicional à CGR. Apenas em alguns poucos exemplos, contudo, ainda é possível observar que esses fatores

regulam o sistema Eph/efrina, que é a leitura essencial de informação de posição retiniana. Por exemplo, a superexpressão de Soho e Gh6 no eixo CrCd pode suprimir a expressão de EphAs, levando a erros de percurso e defeitos de mapeamento. No eixo DV, a expressão ectópica de Vax induz a de EphB na retina dorsal, assim como o knockout de Vax2 leva à perda da expressão de Eph, à dorsalização da retina ventral e à troca das terminações dos axônios ventrotemporais da região medial para a lateral do colículo superior. A pesquisa por genes envolvidos no controle da regulação dos gradientes do tecto tem revelado poucos candidatos: o mais proeminente deles é o gene *homeobox engrailed*, que regula a expressão de ligante efrina-A no mesencéfalo caudal e tem um padrão de expressão gradual semelhante.

O Sistema Visual Binocular dos Humanos Também Envolve Ephs e Efrinas na Orientação e Formação dos Mapas

A formação dos mapas da retina em humanos e outros primatas com visão binocular plena é caracterizada pelo mapeamento das hemirretinas de ambos os olhos no mesmo alvo – o NGL em um lado do tálamo. Assim como nos roedores, nos quais a expressão de EphB1 na retina ventrotemporal regula a passagem ipsilateral no quiasma, em humanos este receptor é expresso em toda a hemirretina temporal e seu ligante repelente, a efrina-B2, é expresso no quiasma óptico (Fig. 9-18). De modo semelhante, os gradientes de efrina-A que segregam axônios temporais e nasais no tecto dos pássaros e no CS do camundongo são também formados no NGL humano, de modo complementar aos gradientes de EphA na retina.

O Ajuste Fino do Mapa Visual Depende da Atividade Neuronal

Vários estudos indicam que o *feedback* na forma de impulsos neurais da retina é importante no refinamento do mapa visual grosso formado por mecanismos de direcionamento axonal **independentes de atividade**. O ajuste fino do mapa visual depende tanto da retração de alvos inapropriados quanto do crescimento para alvos apropriados. Realmente, quando a atividade elétrica correlacionada é inibida dentro do sistema visual por bloqueadores dos canais de sódio como a tetrodotoxina (TTX), os axônios não são retraídos dos alvos inapropriados e zonas de terminação mais difusas e maiores persistem. Além disso, foi demonstrado, em culturas de neurônios, que a retração de neuritos depende da densidade de canais de cálcio voltagem-dependentes após a estimulação. Em vários sistemas de vertebrados, foi demonstrado que o padrão final de conexões sinápticas ponto a ponto depende do pareamento de frequências e da duração da atividade dos impulsos – células que disparam juntas permanecem. O pareamento de *inputs* coativos retinianos para o tecto/CS requer a atividade do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA): o bloqueio da transmissão excitatória com inibidores de NMDA tais como 2-amino-5-fosfonovalerato (APV) desorganiza o mapa retinotópico.

Está se tornando claro também que o sistema visual é extensivamente modificado pela **morte de neurônios** ao mesmo tempo que está sendo formado. Como em outras áreas do sistema nervoso, muito mais neurônios são inicialmente formados do que sobrevivem no sistema maduro. Por exemplo, estima-se que 3 a 4 milhões de células ganglionares surjam na retina humana, mas apenas pouco mais de 1 milhão sobrevivem no adulto. Muitas dessas conexões sinápticas originais feitas por essas células são eliminadas pelo processo de refinamento que participa do ajuste dos mapas visuais no NGL e colículo superior.

Glândula Pituitária

Durante a 3^a semana, um divertículo denominado **infundíbulo** se desenvolve no assoalho do terceiro ventrículo e cresce ventralmente em direção ao estomodeu (Fig. 9-21; ver também Fig. 9-13). Simultaneamente, um placoide ectodérmico aparece no teto do estomatodeu (um espaço ectodérmico alinhado próximo à futura abertura da boca, entre os processos maxilar e mandibular; abordado no Cap. 17) e invagina para formar um divertículo denominado **bolsa de Rathke**, que cresce dorsalmente em direção ao infundíbulo. A bolsa de Rathke eventualmente perde sua conexão com o estomodeu e forma um discreto saco próximo à superfície cranial do infundíbulo. Este saco se diferencia para formar a **adeno-hipófise** da pituitária. As células da sua superfície anterior dão origem ao **lobo anterior** próprio da pituitária, e um pequeno grupo de células na superfície posterior da bolsa forma a **pars intermedia** funcionalmente distinta. Enquanto isso, a porção distal do infundíbulo se diferencia para formar a **pituitária posterior (neuro-hipófise)**. O lúmen do infundíbulo é obliterado por este processo, mas uma pequena cova proximal, o **recesso infundibular**, persiste no assoalho do terceiro ventrículo.

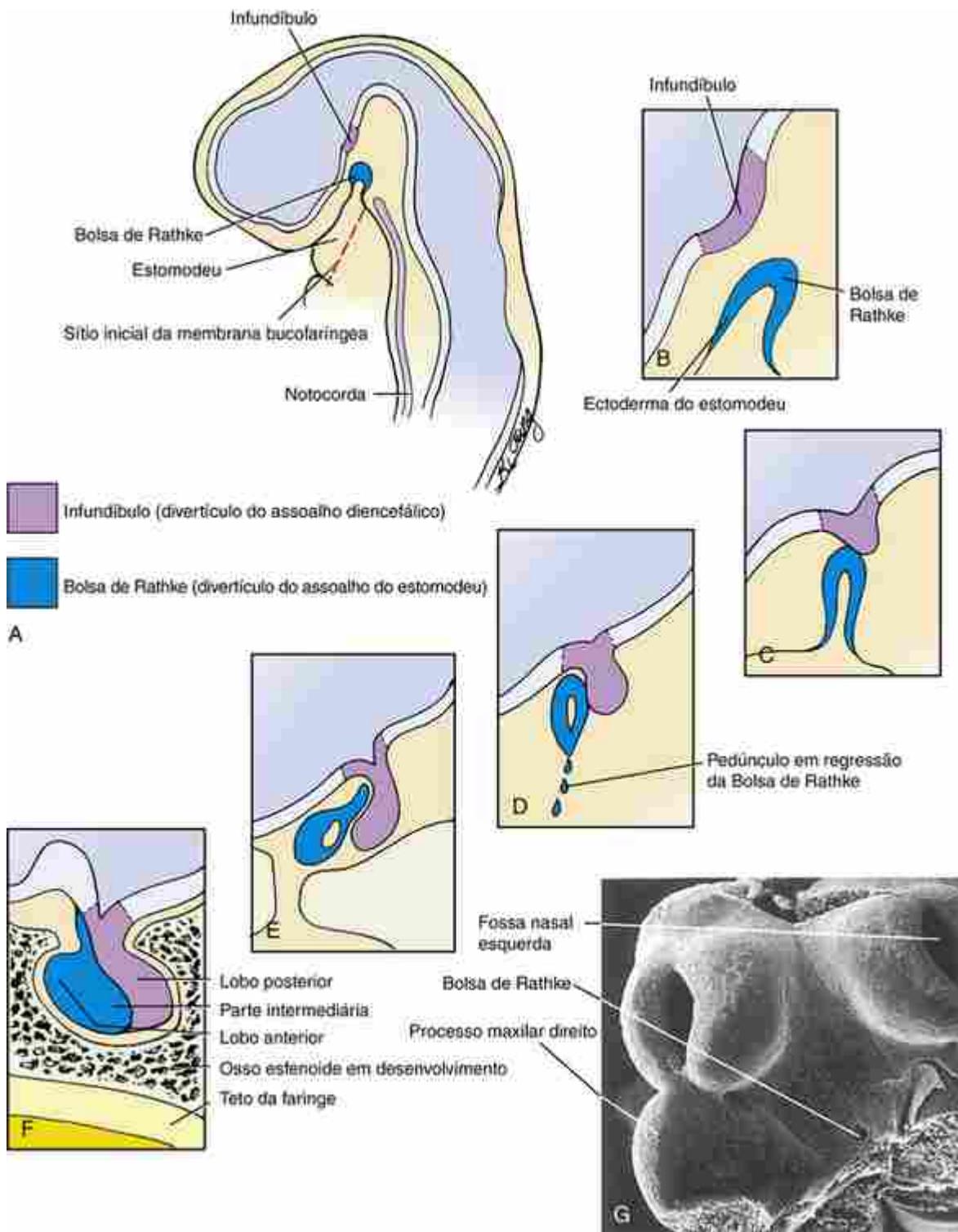


FIGURA 9-21 Desenvolvimento da pituitária (A-F). A glândula pituitária é uma estrutura composta. O lobo posterior se forma de um divertículo no assoalho diencéfálico denominado infundíbulo, ao passo que o lobo anterior e a parte intermediária se formam de uma evaginação no teto ectodérmico do estomodeu denominado bolsa de Rathke. A bolsa de Rathke se destaca do estomodeu e se associa à pituitária posterior em desenvolvimento. G, Micrografia eletrônica de varredura do teto da cavidade oral embrionária mostrando a abertura da bolsa Rathke.

Telencéfalo

Os hemisférios cerebrais aparecem pela primeira vez no 32º dia como um par de protuberâncias em forma de bolha do telencéfalo. Pela 16ª semana, os hemisférios em rápido crescimento são ovais e se expandem para trás cobrindo o diencéfalo. As finas paredes laterais e do assoalho de cada hemisfério representam o futuro **côrtex cerebral** (Fig. 9-22A). O assoalho é mais espesso e contém agregados neurais denominados **eminências glanglionares**, que originam os **gânglios da base** (**corpo estriado** e **globo pálido**) (Fig. 9-14B). Conforme os hemisférios em crescimento pressionam

as paredes do diencéfalo, as camadas das meninges que originalmente separam as duas estruturas desaparecem, tanto que o tecido neural do tálamo se torna contínuo com o assoalho dos hemisférios cerebrais. Esta primeira borda é eventualmente atravessada por um massivo feixe de axônios denominado **cápsula interna**, que passa através do corpo estriado (dando a ele sua aparência estriada) e conduz axônios do tálamo para o córtex cerebral (e vice-versa), assim como do córtex cerebral para as regiões inferiores do encéfalo e da medula (Fig. 9-14C).

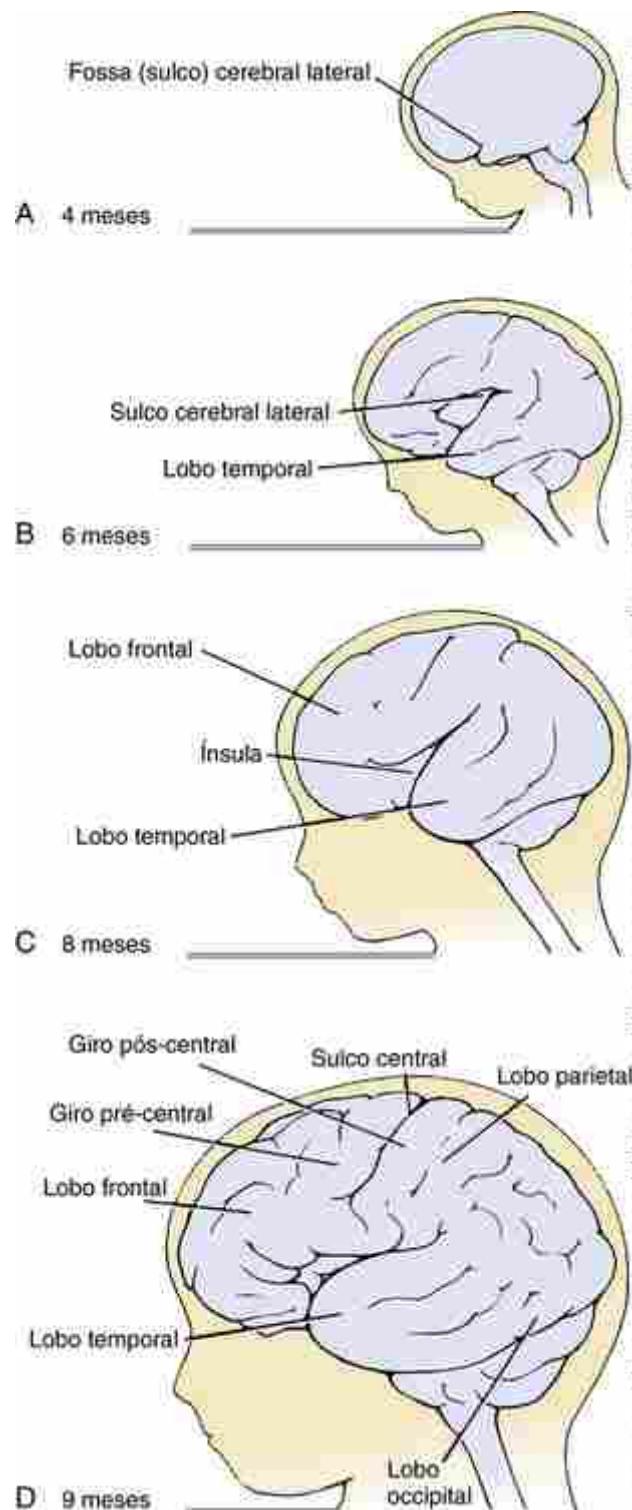


FIGURA 9-22 Crescimento e formação dos giros e sulcos dos hemisférios cerebrais durante a vida fetal. O crescimento dos hemisférios cerebrais é contínuo ao longo do desenvolvimento embrionário e fetal e continua após o nascimento. A, B, No 4º mês, a formação da estreita fossa cerebral lateral delinea o lobo temporal do hemisfério cerebral. Pelo 6º mês, fendas adicionais delineiam os lobos frontal, parietal e occipital. C, D, Sulcos e giros adicionais se formam durante todo o restante da vida fetal.

Inicialmente, os hemisférios cerebrais têm superfície lisa. Contudo, como o córtex cerebelar, o córtex cerebral dobra em um padrão cada vez mais complexo de giros (cumes) e sulcos (ranhuras) à medida que os hemisférios crescem. Este processo começa no 4º mês com a formação de um pequeno recuo denominado fossa lateral do cérebro na parede lateral de cada hemisfério (Fig. 9-22A e B). A extremidade caudal de cada hemisfério alongado se curva em sentido ventral e, em seguida, cresce para a frente através desta fossa, criando o **lobo temporal** do hemisfério cerebral e transformando a fossa em uma fenda profunda denominada **sulco lateral do cérebro**. A porção do córtex cerebral que originalmente forma o assoalho medial da fossa é coberta pelo lobo temporal e é denominada **ínsula**.

Pelo 6º mês, vários outros sulcos cerebrais já se formaram. Estes incluem o **sulco central**, que separa os lobos frontais, parietais e o **sulco occipital**, que demarca o lobo occipital. O padrão detalhado de giros que finalmente forma os hemisférios cerebrais varia um tanto de indivíduo para indivíduo. Os giros e sulcos aumentam efetivamente a área de superfície do cérebro tanto que, quando totalmente desenvolvido, está do tamanho de uma fronha de travesseiro.

Cada hemisfério cerebral contém um divertículo do ventrículo telencefálico primitivo denominado **ventrículo lateral**. O ventrículo lateral ocupa inicialmente a maior parte do volume dos hemisférios, mas é progressivamente obstruído pelo espessamento do córtex. Contudo, ao longo da margem entre o assoalho e a parede medial do hemisfério, a parede cerebral não se espessa, mas permanece fina e epitelial. Esta zona forma um sulco longitudinal no ventrículo; o sulco é denominado **fissura coroide** (Fig. 9-14C). Os plexos coroides se desenvolvem ao longo da fissura coroide. Como mostrado na Figura 9-23, o ventrículo lateral se estende por todo o comprimento de cada hemisfério, alcançando anteriormente o lobo frontal e, em sua extremidade posterior, se curva para ocupar o lobo temporal. A abertura entre cada ventrículo lateral e o terceiro ventrículo persiste como o **forame interventricular** (**forame de Monro**).

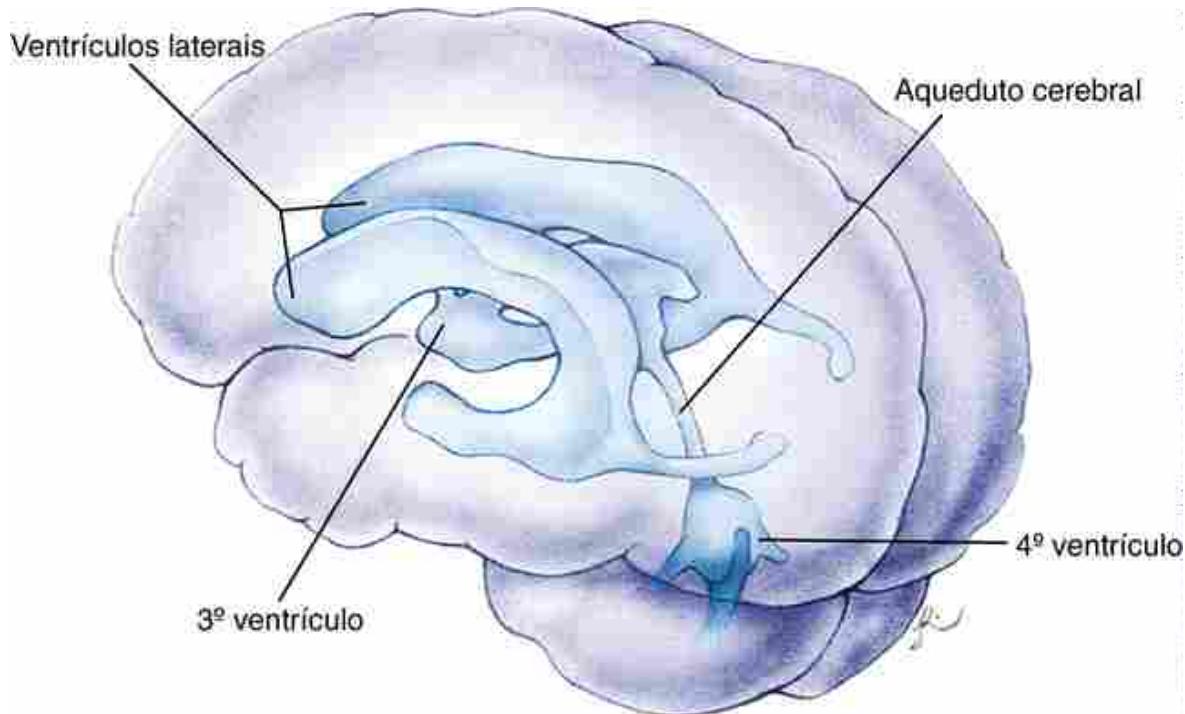


FIGURA 9-23 Os ventrículos cerebrais. Expansões do canal neural nas vesículas encefálicas primária e secundária e nos hemisférios cerebrais originam os ventrículos cerebrais. O sistema de ventrículos é formado pelos ventrículos laterais nos hemisférios cerebrais, pelo terceiro ventrículo no diencéfalo, pelo estreito aqueduto cerebral (de Sylvius) no mesencéfalo e pelo quarto ventrículo no rombencéfalo.

O neuroepitélio dos hemisférios cerebrais é inicialmente muito semelhante ao de outras partes do tubo neural. Contudo, estudos de histogênese encefálica têm mostrado que o processo de proliferação, migração e diferenciação pelo qual o córtex maduro é produzido é sem igual. O córtex cerebral é feito de várias camadas de células (ou lâminas) que variam em número de três nas partes filogeneticamente mais antigas a seis no dominante **neocôrtex**. Em outras regiões do SNC, a substância branca (axônios) se forma por fora da substância cinzenta (corpos celulares neuronais); esta situação é revertida no córtex cerebral. Nele, os axônios entram e saem por uma zona intermediária que se encontra no fundo da substância cinzenta e, assim, forma a superfície externa do cérebro. Os detalhes do modo como este arranjo de dentro para fora da substância cinzenta se desenvolve são complexos e pobemente entendidos. Para sumarizar, as células proliferativas da camada ventricular sofrem uma série de divisões para produzir ondas de neurônios que migram perifericamente e estabelecem as camadas neuronais do córtex. Axônios se estendem destas

células na superfície interna ou mais profunda das camadas neuronais, entre elas e a zona ventricular. Além disso, as camadas corticais são estabelecidas em uma sequência da mais profunda para a mais superficial, isto é, os neurônios de cada onda migram através das camadas precedentes para estabelecer uma camada mais superficial. Conforme a produção de neurônios se estabiliza, a camada ventricular origina vários tipos de glia e, em seguida, o epêndima.

Deixe-nos examinar o processo com mais detalhes ([Fig. 9-24A](#)). Os primeiros neurônios produzidos da zona ventricular formam a camada superficial, a pré-placa, que subjaz imediatamente a pia em desenvolvimento. Os axônios se estendem dos neurônios no lado interno da pré-placa, estabelecendo uma **zona intermediária**. Os próximos neurônios a nascer migram para o meio da pré-placa e a dividem em uma **zona marginal** superficial (futura lâmina I) e uma **subplaca** profunda, formando uma camada intermediária denominada **placa cortical**. Neurônios jovens migram nas superfícies de uma matriz pré-formada de **células gliais radiais**, cujos processos se estendem por toda a espessura do córtex. Os axônios dos neurônios na placa cortical e na subplaca se juntam àquelas que já estão na zona intermediária e que irão mais tarde se tornar a **substância branca** do córtex. Os neurônios pioneiros da placa cortical formam as camadas profundas (lâminas VI e V) do córtex formado, ao passo que as células nascidas mais tarde migram radialmente da zona ventricular cruzando a zona intermediária e a subplaca, através das camadas VI e V mais precoces da placa cortical. No processo, eles estabelecem em sequência as lâminas mais superficiais IV, III e (finalmente) a II. Conforme a neurogênese prossegue, novos neurônios são, cada vez mais, formados em uma zona germinativa acessória situada abaixo da zona ventricular, denominada **zona subventricular**.

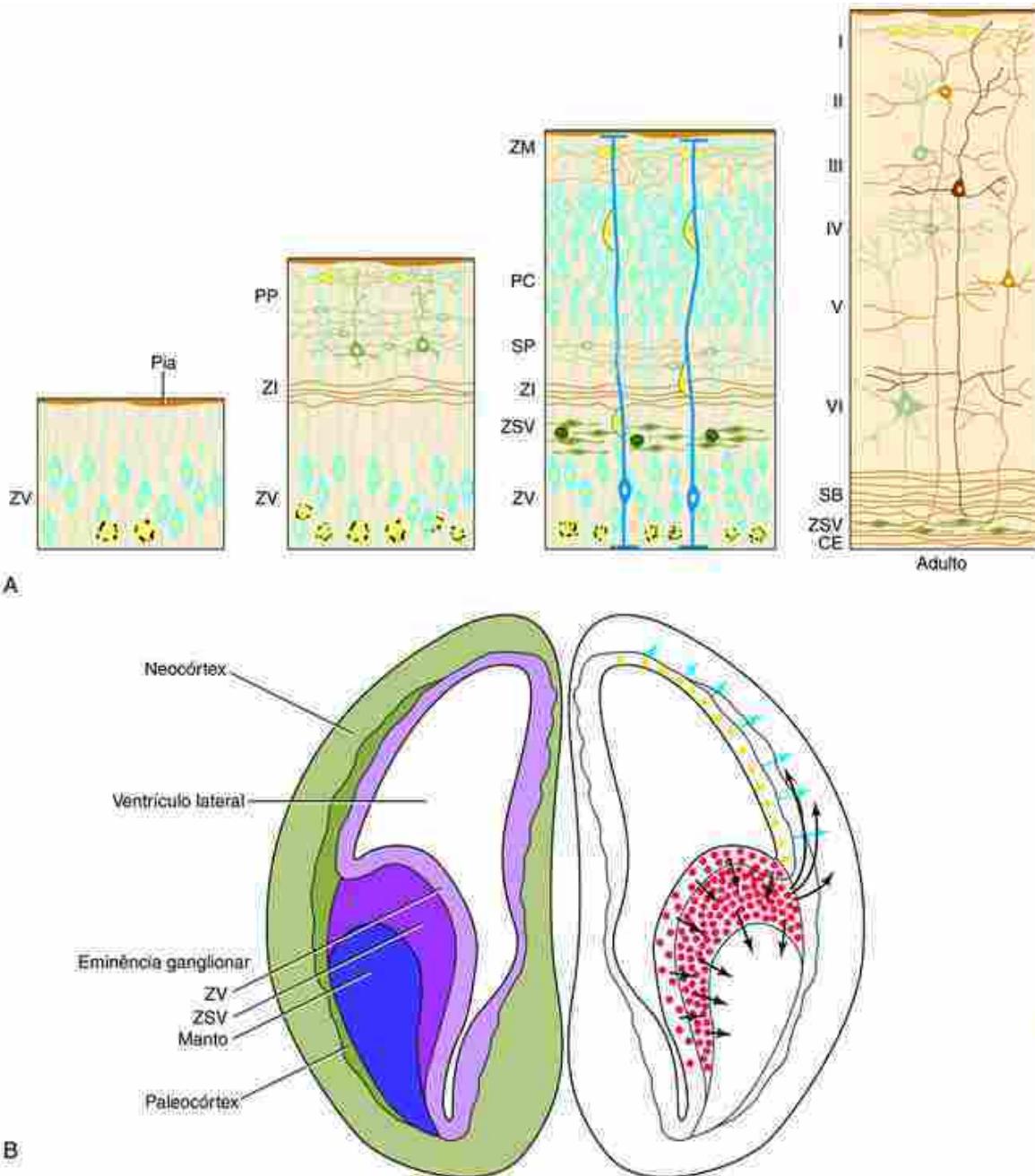


FIGURA 9-24 Citodiferenciação e laminação do neocôrte. **A**, Uma série de secções de quatro estágios. As células verdes na zona marginal (ZM) são as células de Cajal-Retzius. PC, placa cortical; CE, camada ependimária; ZI, zona intermediária; PP, pré-placa; SP, subplaca; SB, substância branca; I-VI, camadas numeradas do neocôrte. **B**, Migração dos interneurônios (células não piramidais) por rotas tangenciais (setas no lado direito) de suas posições originais nas zonas ventricular e subventricular (ZV e ZSV) das eminências ganglionares para o neocôrte. Uma pequena minoria dos interneurônios corticais surge a partir das zonas germinativas corticais (amarelo). As zonas germinativas das eminências ganglionares também produzem os neurônios do corpo estriado e do globo pálido (núcleos da base).

O trecho anterior descreve a geração dos principais neurônios excitatórios do neocôrte – as **células piramidais** –, os grandes neurônios que projetam para alvos subcorticais e para o hemisfério contralateral. Outros neurônios, menores do que os neurônios piramidais, são os interneurônios inibitórios – as **células granulares**. A maior parte dos últimos não surge nem da zona ventricular nem da zona subventricular da área cortical em que se estabelecem; pelo contrário, eles se originam nas eminências ganglionares do telencéfalo ventral e migram dorsalmente para o córtex por uma rota tangencial (Fig. 9-24B).

Enquanto as lâminas de II a VI são os principais constituintes da substância cinzenta no neocôrte adulto, os primeiros neurônios a nascer que contribuem para a lâmina I e a subplaca desaparecem mais tarde no desenvolvimento; contudo, sua existência transitória é crucial para a histogênese cortical. A lâmina I, a zona marginal, contém neurônios transitórios chamados **células de Cajal-Retzius**, a maioria das quais se origina em uma estrutura da linha média dorsal do telencéfalo (a bainha cortical) e migra tangencialmente para a lâmina I. Por meio da secreção de

uma grande glicoproteína, a **reelina**, acredita-se que as células de Cajal-Retzius orquestram a migração de dentro para fora dos neurônios na placa cortical. Na ausência de reelina ou outras proteínas da via de sinalização da reelina, ondas sucessivas de jovens neurônios se acumulam no interior das camadas predecessoras, ao invés de passar através para formar uma camada mais superficial. Os neurônios da subplaca, que são os primeiros do córtex cerebral a estender axônios, parecem ser cruciais no direcionamento ordenado para dentro dos axônios talâmicos em direção a suas áreas corticais presumivelmente apropriadas.

Na Clínica

Malformações congênitas do córtex cerebral

Como o cerebelo humano, o cérebro humano está sujeito a uma variedade de desordens de desenvolvimento que resultam de anormalidades na migração, diferenciação, sobrevivência ou proliferação. As mais graves dessas anormalidades são óbvias no desenvolvimento inicial, mas algumas não se manifestam até mais tarde na vida. O diagnóstico pode ser feito de amostras brutas ou por RM, TC ou ultrassonografia.

A **lisencefalia clássica** (incidência de pelo menos 1 em 100.000 nascidos vivos) é uma condição que resulta de uma migração neuronal incompleta para o córtex cerebral durante o 3º e 4º meses de gestação. Cérebros de pacientes com lisencefalia têm superfície cerebral lisa devido a uma combinação de **paquigria** (giros largos e espessos), agiria (ausência de giros) e **heterotopia** neuronal generalizada (células em posições aberrantes comparadas com as do cérebro normal). Ventrículos aumentados e malformação do corpo caloso são comuns. Enquanto recém-nascidos, esses pacientes com frequência parecem normais, mas algumas vezes têm apneia, dificuldade de se alimentar ou tônus muscular anormal. Em geral, os pacientes desenvolvem mais tarde convulsões, retardo mental acentuado e quadriplegia espástica suave.

A **heterotopia em banda subcortical** (HBS) parece ser também o resultado de migração aberrante de células neuroepiteliais em diferenciação. Estes pacientes têm bandas bilaterais simétricas e em circunferência de substância cinzenta localizadas imediatamente abaixo do córtex e separadas dele por uma fina banda de substância branca, o que leva ao termo síndrome do córtex duplo. Convulsões, retardo mental leve e algumas anormalidades comportamentais são frequentes na infância. Contudo, a inteligência pode ser normal e as convulsões podem começar mais tarde na vida. As síndromes relacionadas, **lisencefalia ligada ao X** e a **HBS**, também ocorrem; os homens homozigotos têm lisencefalia e as mulheres heterozigotas têm HBS.

Estudos recentes identificaram dois genes ligados à lisencefalia e ao HBS. Um, o LIS1, está no cromossoma 17p13 e codifica uma proteína que funciona como uma subunidade reguladora do FATOR DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA ACETIL-HIDROXILASE, que degrada o FATOR DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA e está envolvida na dinâmica de microtúbulos. Com relação a este último papel, o FATOR DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA ACETIL-HIDROXILASE controla a distribuição e a função do motor de microtúbulo DINEÍNA, controlando assim o movimento do núcleo durante a migração neuronal. Estudos em camundongos com mutações relacionadas ao LIS1 sugerem que esta proteína é necessária para a migração normal da célula piramidal e a expansão de neuritos. Outro gene, denominado DUPLACORTINA, é localizado no cromossoma X e está mutado em pacientes com lisencefalia ligada ao X e HBS. A proteína produzida pela DUPLACORTINA é altamente expressa nos neurônios fetais e seus precursores durante o desenvolvimento cortical. Como o FATOR DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA ACETIL-HIDROXILASE, a proteína DUPLACORTINA é associada com os microtúbulos, sugerindo que está também envolvida na migração celular por meio de interações com o citoesqueleto.

Conforme abordado no [Capítulo 17](#), os placoides nasais se formam no final da 4ª semana. Muito precocemente, algumas células no placoide nasal se diferenciam para formar as **células neurosensoriais primárias** do futuro epitélio olfativo. Ao final da 5ª semana, estas células emitem axônios que cruzam a curta distância para penetrar na extremidade mais cranial do telencéfalo ([Fig. 9-25A](#)). A ossificação subsequente do osso etmoide ao redor desses axônios cria a lámina crivosa perfurada.

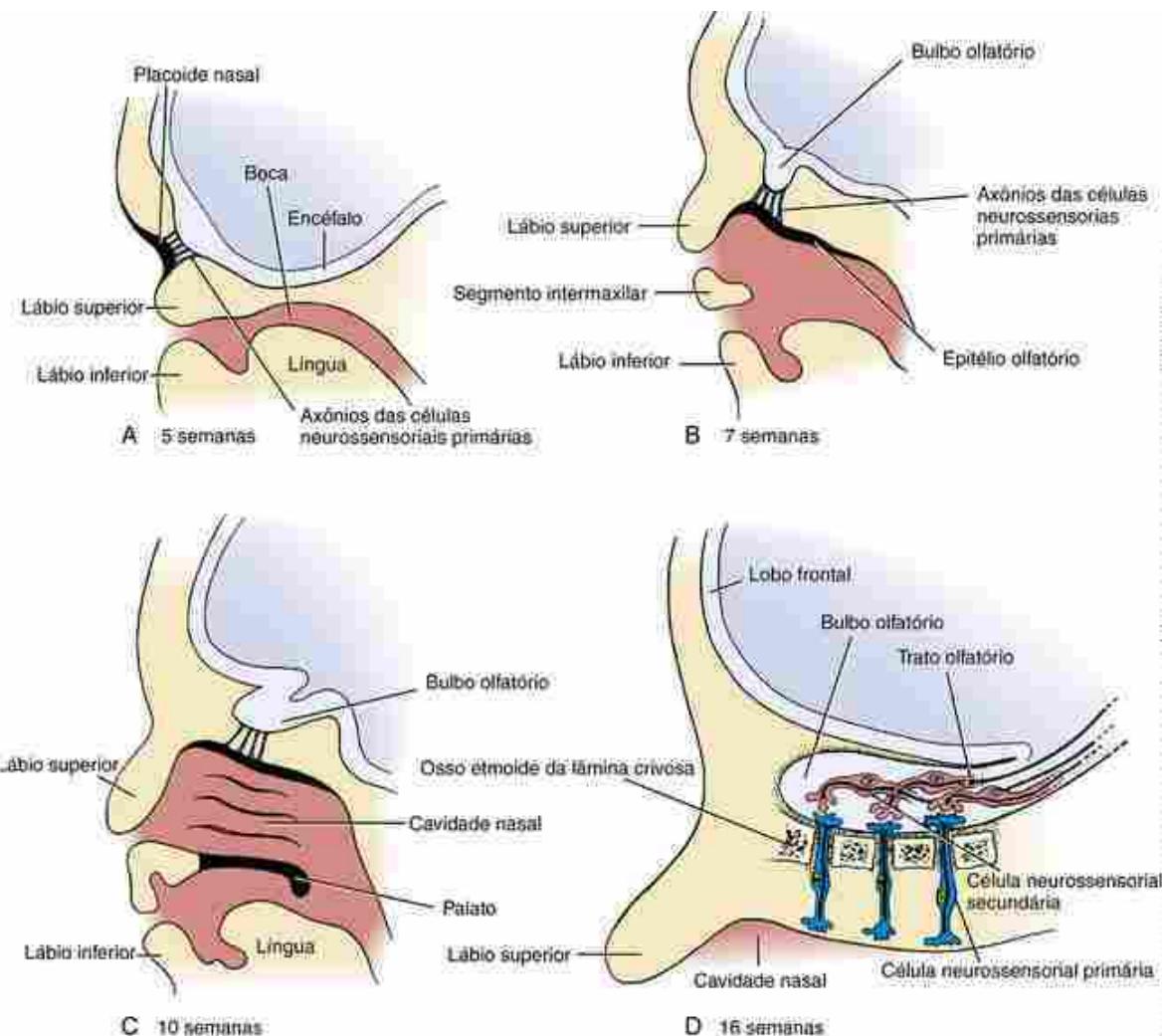


FIGURA 9-25 Formação do trato olfatório representada em vistas sagitais. A, Durante a 5^a semana, as células do placoide nasal se diferenciam em células neurosensoriais do trato olfatório e geram axônios que crescem para o suposto bulbo olfatório do telencéfalo adjacente. Elas fazem sinapse com neurônios olfatórios secundários. B-D, Conforme segue o desenvolvimento, os axônios em crescimento dos neurônios olfatórios secundários no bulbo olfatório geram o trato olfatório.

Na 6^a semana, conforme as cavidades nasais se diferenciam para formar o epitélio das vias nasais, a área na ponta de cada hemisfério (onde os axônios das células neurosensoriais fazem sinapse) começa a formar uma expansão denominada **bulbo olfatório** (Fig. 9-25B-D). As células do bulbo olfatório que fazem sinapse com os axônios dos neurônios sensoriais primários se diferenciam para se tornar os neurônios sensoriais secundários (células mitrais) das vias olfatórias. Os axônios dessas células fazem sinapse nos centros olfatórios dos hemisférios cerebrais. Como a mudança das proporções da face e do encéfalo aumenta a distância entre os bulbos olfatórios e seus pontos de origem nos hemisférios, os axônios dos neurônios olfatórios secundários se alongam para formar os **tratos olfatórios** do SNC em forma de haste. Tradicionalmente, o trato olfatório e o bulbo são referidos, em conjunto, como **nervo olfatório**.

Na Clínica

Síndrome de kallmann

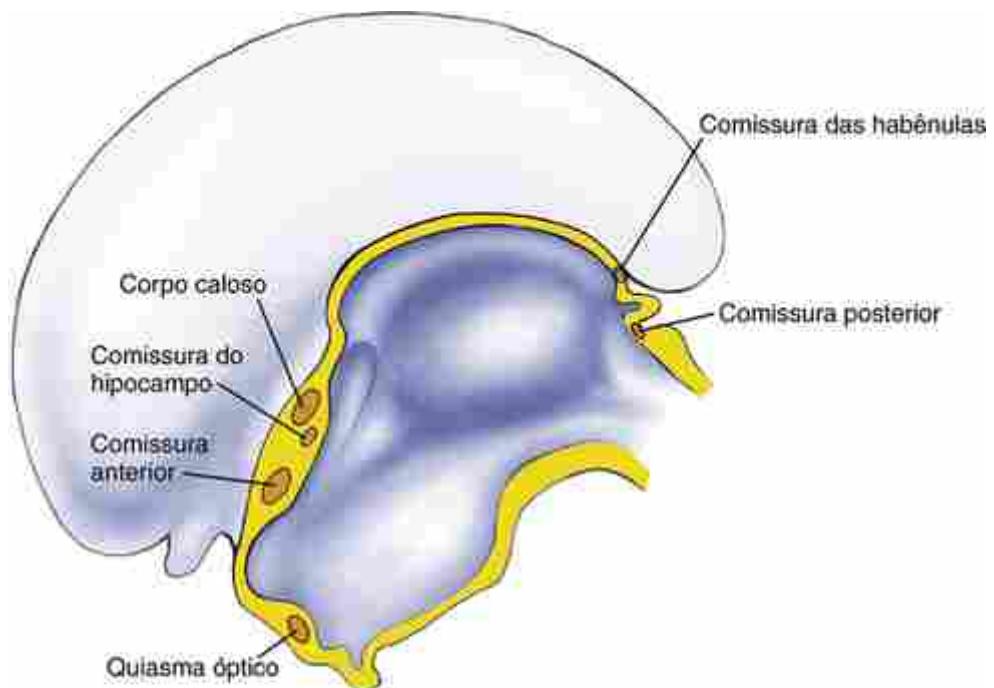
A síndrome de Kallmann é caracterizada por anosmia (perda do sentido do olfato) ou hiposmia (diminuição do sentido de olfato) e hipogonadismo (pequenas gônadas). Ela afeta entre 1 em 10.000 e entre 1 em 60.000 pessoas e ocorre cinco vezes mais frequentemente em homens do que em mulheres. A anosmia e a de hiposmia ocorrem porque o nervo olfativo e o bulbo olfatório não se desenvolvem apropriadamente. O hipogonadismo ocorre porque o hipotálamo falha em produzir de modo suficiente GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), um hormônio requerido para o desenvolvimento normal das gônadas (abordado no Cap. 16).

A falha do hipotálamo em produzir GnRH suficiente é secundária ao defeito na migração neuronal. Os neurônios produtores de GnRH se originam nos placoides olfatórios e migram para o hipotálamo em desenvolvimento pelos

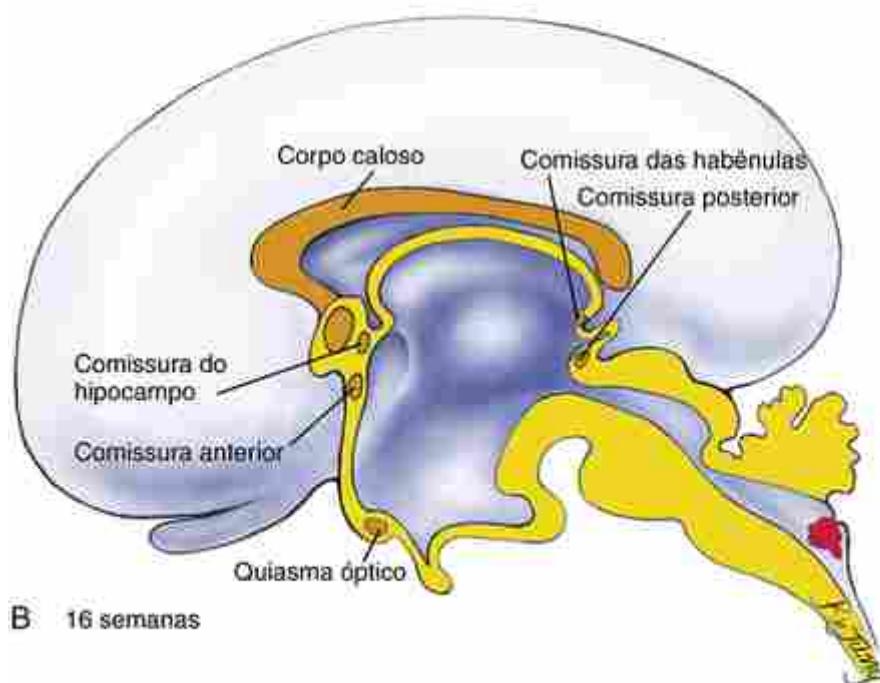
bulbos olfatórios. O gene responsável pela forma ligada ao X da síndrome de Kallmann, o KAL1, foi identificado. Ele codifica uma proteína da matriz extracelular glicoproteica denominada ANOSMINA-1. A síndrome de Kallmann também resulta de mutações em outros genes, incluindo o FGFR1, o PROQUINETICINA2 e seu receptor (uma proteína rica em cisteína secretada pelo núcleo supraquiasmático e envolvida com o relógio circadiano). A síndrome pode ser herdada como um traço autossômico dominante ou autossômico recessivo ou como um traço digênico. Com a identificação dos genes envolvidos, a síndrome de Kallmann pode ser diagnosticada durante a fertilização *in vitro* e por diagnóstico genético pré-implantacional (abordado no [Cap. 1](#)).

As comissuras que conectam os hemisférios direito e esquerdo se formam de um espessamento na extremidade cranial do telencéfalo, que representa a zona do fechamento final do neuroporo. Esta área pode ser dividida em uma **placa comissural dorsal** e uma **lâmina terminal ventral**.

O primeiro trato axonal a se desenvolver na placa comissural é a **comissura anterior**, que se forma durante a 7^a semana e interconecta os bulbos olfatórios e os centros olfatórios dos dois hemisférios ([Fig. 9-26](#)). Durante a 9^a semana, a **comissura do hipocampo ou do fórnix** se forma entre os hipocampos direito e esquerdo (uma porção filogeneticamente antiga do hemisfério cerebral que é localizada adjacente à fissura coroide). Poucos dias depois, o massivo e arqueado **corpo caloso** começa a se formar, ligando os neocortices direito e esquerdo ao longo de toda a sua extensão. A porção mais anterior do corpo caloso aparece primeiro e a extensão posterior (o esplênio) se forma mais tarde na vida fetal.



A 10 semanas



B 16 semanas

FIGURA 9-26 Formação das comissuras na semana 10 (A) e na semana 16 (B). O telencéfalo dá origem aos tratos comissurais que integram as atividades dos hemisférios cerebrais esquerdo e direito. Estes incluem a comissura anterior, a comissura do hipocampo e o corpo caloso. A pequena comissura posterior e a das habéculas surgem do epítalamo.

Crescimento do encéfalo

Ainda que o crescimento do encéfalo seja rápido durante a vida fetal (Fig. 9-22), o encéfalo ao nascimento tem apenas cerca de 25% do seu volume adulto. Uma pequena parte do crescimento pós-natal do cérebro é o resultado do aumento do tamanho dos corpos celulares neuronais e da proliferação dos processos neuronais. Contudo, a maior parte do seu crescimento resulta da mielinização das fibras nervosas. O cérebro alcança seu tamanho final por volta dos 7 anos de idade.

O modo pelo qual os 10 bilhões a 1 trilhão de neurônios do encéfalo humano tornam-se organizados e interconectados é um problema de difícil complexidade. Conforme abordado neste capítulo, os neurônios não apenas proliferam, migram e se diferenciam de acordo com um padrão preciso, mas seus processos exibem habilidades extraordinárias de encontrar seus alvos.

Na Clínica

Tamanho do cérebro

A **microcefalia**, tipicamente definida como uma cabeça pequena, resulta da formação de um pequeno encéfalo (Fig. 9-27). Recentemente, foram identificados genes que desempenham sérios papéis na regulação do crescimento do encéfalo. Um gene, o AMFA (ASSOCIADO À MICROCEFALIA FUSIFORME ANORMAL), um homólogo do gene do fuso anormal da drosófila, sofre mutação na mais comum das microcefalias recessivas autossômicas primárias em humanos. O AMFA desempenha um papel essencial no funcionamento normal do fuso mitótico em neuroblastos embrionários e sua expressão em regiões proliferativas do córtex cerebral durante a neurogênese.

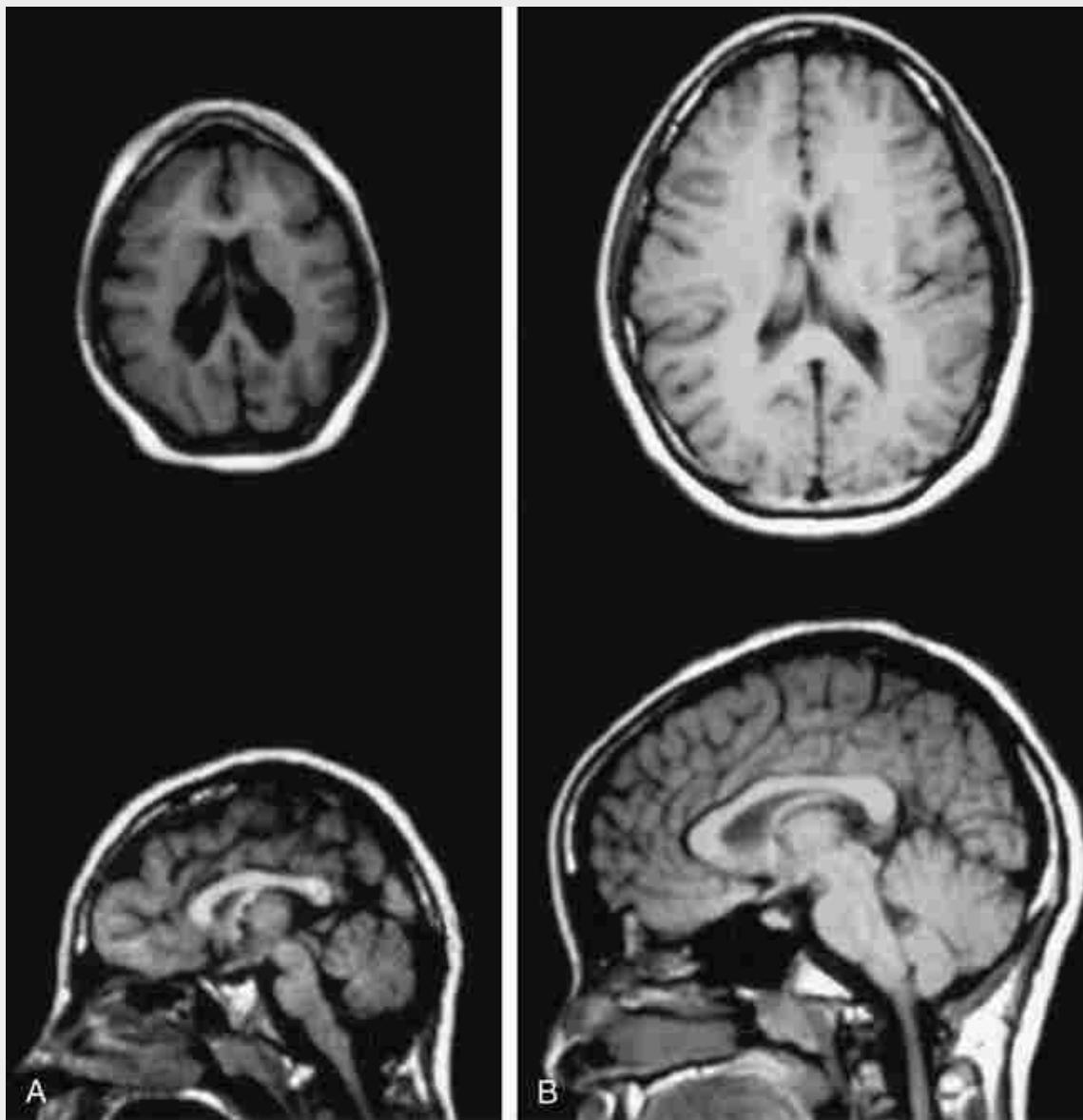


FIGURA 9-27 IRMs mostrando a cabeça de um adolescente com microcefalia (A) comparada com as de um adolescente com a cabeça de tamanho normal (B). A linha do topo mostra imagens em plano coronal; a linha do fundo mostra imagens em plano sagital.

Os cérebros que são lisencefálicos também são microcefálicos. Uma ligação entre estes dois distúrbios encefálicos

envolve dois genes: o LIS1 (como discutido anteriormente neste capítulo, resulta em lisencefalia quando sofre mutação) e um segundo gene chamado NDE1. O NDE1, inicialmente conhecido como mNUDE e homólogo ao gene nude dos fungos filamentosos *Aspergillus nidulans*, interage diretamente com o LIS1. No *A. nidulans*, o nude localiza o centro organizador do microtúbulo e regula a organização dos microtúbulos. A ablação genética da função do NDE1 em camundongos resulta em microcefalia, com a redução mais notável de tamanho do encéfalo ocorrendo no córtex cerebral. Não se sabe se o NDE1 sofre mutação em pacientes com microcefalia.

Outro gene que regula o tamanho do encéfalo é a β -catenina. Quando este gene é superexpresso em camundongos, o encéfalo cresce e quase dobra seu tamanho normal. Além disso, a foliação do cérebro fica aumentada, de tal modo que o córtex cerebral do camundongo torna-se mais parecido com o de um humano.

Embriologia na Prática

Sob pressão

Os pais de um menino de 3 meses de idade relataram que ele não controla a cabeça e não fixa a visão nos rostos de seus pais. Eles também notaram que a circunferência da cabeça estava aumentando e que sua “moleira” era firme ao toque. Seus pais estão bem alarmados com essas coisas, infelizmente, porque eles viram os mesmos sintomas em seu filho anterior, que acabou morrendo.

Essa família vive na África subsaariana e seus filhos estão desenvolvendo **hidrocefalia** (“água no encéfalo”). Em seu pequeno vilarejo, o limitado cuidado neonatal expõe as crianças a uma alta taxa de infecção, incluindo a meningite. Suas duas crianças sobreviveram a esta infecção cerebral, mas, com risco de vida, desenvolveram um acúmulo de **líquido cefalorraquidiano** (LCR) no sistema ventricular dos seus encéfalos devido ao bloqueio do aqueduto cerebral pelos restos de tecido resultantes da infecção. Assim como seu irmão, o menino poderá eventualmente morrer após a perda progressiva de tecido cerebral decorrente do alargamento dos ventrículos cheios de líquido, acompanhados por um aumento drástico da cabeça ([Fig. 9-12](#)).

A hidrocefalia é um grave problema em países em desenvolvimento, devido a uma aumentada taxa de aquisição de doenças e à limitada disponibilidade de tratamento. Mundialmente, mais de 300 mil crianças são afetadas – mais do que as afetadas por surdez ou síndrome de Down. Têm sido feitos esforços para lidar com este problema, incluindo programas de extensão nos quais cirurgiões de países desenvolvidos viajam para tratar pacientes e treinar cirurgiões locais. O tratamento consiste no provimento de uma via alternativa para a drenagem do LCR pela colocação de um cateter, ou um dreno, no ventrículo de modo que ele possa drenar para o abdome. Com a drenagem cirúrgica precoce, há maior chance de recuperação.

No vilarejo rural do casal, a desordem parece ser uma maldição causada por “espíritos malignos” e envergonha a família. Felizmente, essa família foi capaz de viajar a um centro de saúde urbano, onde seu filho foi submetido à colocação de um dreno ventricular. Ele é um dos poucos afortunados e, dentro de poucas semanas, seus pais perceberão melhora na sua capacidade de focar e controlar a cabeça.

Leituras sugeridas

- Borello, U., Pierani, A. Patterning the cerebral cortex: traveling with morphogens. *Curr Opin Genet Dev.* 2010; 20:408–415.
- Caviness, V. S., Jr., Nowakowski, R. S., Bhide, P. G. Neocortical neurogenesis: morphogenetic gradients and beyond. *Trends Neurosci.* 2009; 32:443–450.
- Evans, T. A., Bashaw, G. J. Axon guidance at the midline: of mice and flies. *Curr Opin Neurobiol.* 2010; 20:79–85.
- Hebert, J. M., Fishell, G. The genetics of early telencephalon patterning: some assembly required. *Nat Rev Neurosci.* 2008; 9:678–685.
- Ming, G. L., Song, H. Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron.* 2011; 70:687–702.
- Suh, H., Deng, W., Gage, F. H. Signaling in adult neurogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009; 25:253–275.

Desenvolvimento do Sistema Nervoso Periférico

Resumo

O sistema nervoso consiste em uma rede complexa de neurônios que levam informação oriunda de receptores sensoriais do corpo ao sistema nervoso central (SNC), integrando, processando, armazenando-a, e retornando os impulsos motores a vários órgãos efetores no corpo. O desenvolvimento do SNC é estudado no [Capítulo 9](#); este capítulo aborda o desenvolvimento do sistema nervoso periférico (SNP).

O SNP e suas vias centrais são tradicionalmente divididos em dois sistemas. O **sistema nervoso somático** é responsável por levar sensações conscientes e por inervar os músculos voluntários (estriados) do corpo. O **sistema nervoso autônomo** é estritamente motor e controla a maior parte das atividades involuntárias, viscerais, do corpo. O sistema autônomo por si só consiste em duas subdivisões: a **divisão parassimpática**, que, em geral, promove as atividades anabólicas viscerais características de períodos de paz e relaxamento, e a **divisão simpática**, que controla as atividades involuntárias que ocorrem em condições estressantes de “luta ou fuga”. Cada um desses sistemas é composto por vias com dois neurônios que consistem em neurônios **pré-ganglionares** e **pós-ganglionares**. Conforme abordado nos [Capítulos 4](#) e [14](#), o intestino contém seu próprio sistema nervoso, denominado **sistema nervoso entérico**.

Os neurônios originam-se de três tecidos embrionários: o **neuroepitélio** do tubo neural, as **células da crista neural** e regiões especializadas do ectoderma na cabeça e no pescoço denominadas **placoides ectodérmicos**. Os neurônios do SNC são provenientes do neuroepitélio ([Cap. 9](#)), enquanto os neurônios do SNP são oriundos das células da crista neural e dos placoides ectodérmicos.

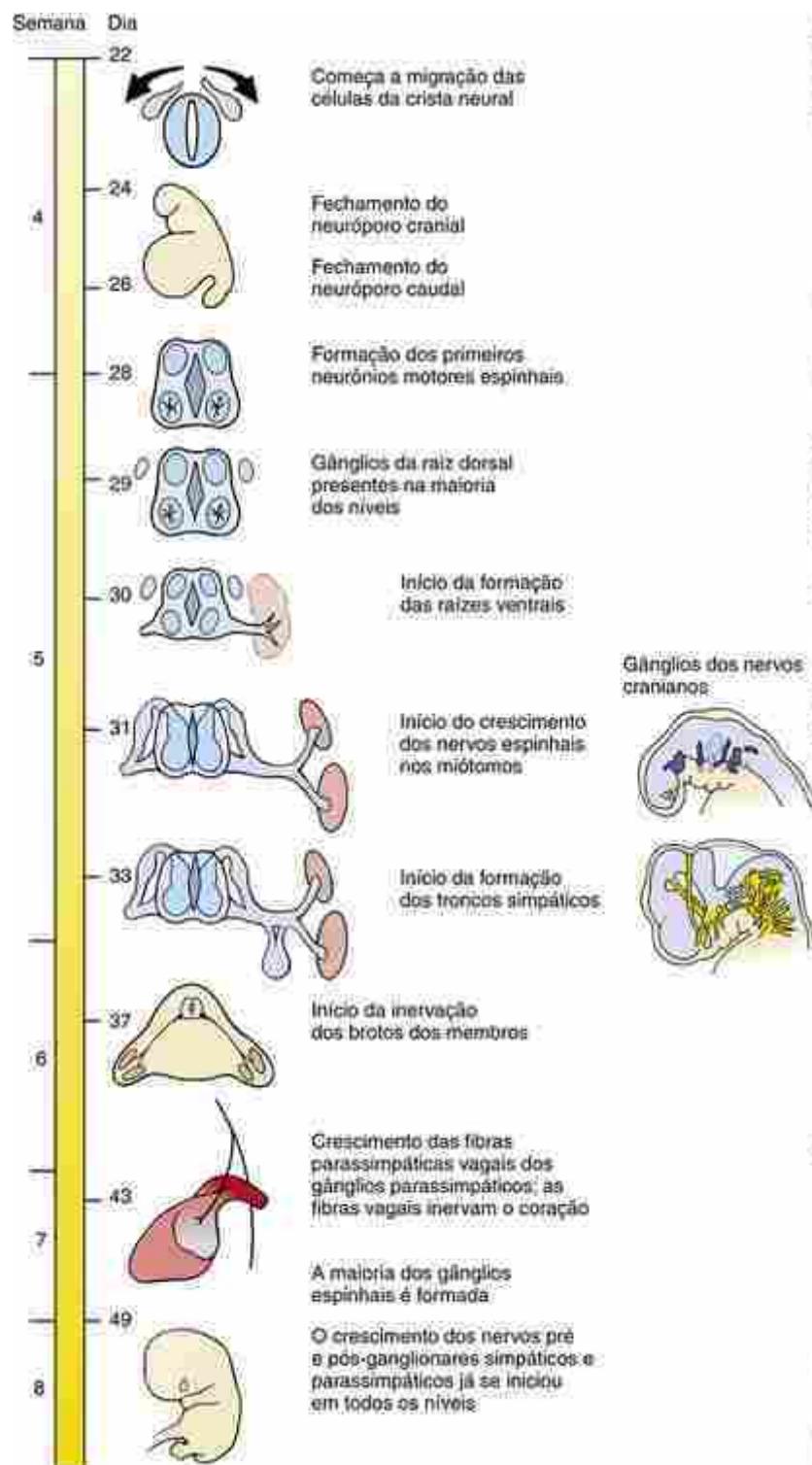
Os gânglios do tronco são formados por células da crista neural que migram. Estes gânglios incluem (1) os **gânglios sensitivos da raiz dorsal**, que condensam próximo à medula espinal em alinhamento a cada par de somitos, consistindo em neurônios sensitivos que recebem informação de receptores no corpo e as transmitem ao SNC e às **células satélites** de suporte; (2) a cadeia ganglionar simpática, que também cerca a medula espinal (porém, ventralmente) e os **gânglios pré-vertebrais** (ou **pré-aórticos**), que se formam próximo aos ramos da aorta abdominal e contêm vias simpáticas compostas por dois neurônios; e (3) os **gânglios parassimpáticos**, situados nas paredes dos órgãos viscerais que albergam os neurônios periféricos (pós-ganglionares) das divisões parassimpáticas bineuronais. Os gânglios parassimpáticos que residem no intestino são denominados gânglios entéricos.

Conforme as células da crista neural do tronco coalescem para formar os gânglios espinhais, axônios motores somáticos começam a crescer a partir das colunas basais da medula espinal, formando um par de **raízes ventrais** no nível de cada somito. Estas fibras motoras somáticas se unem, posteriormente, a fibras autônomas motoras provenientes das colunas celulares intermediolaterais. As fibras motoras somáticas crescem no interior dos miótomas e, consequentemente, levam inervação aos músculos voluntários. As fibras autônomas (pré-ganglionares), em contraste, terminam nos gânglios autônomos (simpático e parassimpático), onde fazem sinapse com corpos celulares de neurônios periféricos (pós-ganglionares) que inervam cada órgão-alvo.

Os neurônios centrais (pré-ganglionares) da divisão simpática se desenvolvem nas colunas celulares intermediolaterais da medula espinal **toracolumbar** (T1 a L2 ou L3). Os axônios com uma fina camada de mielina dessas células deixam a medula espinal pela raiz ventral, mas se agrupam imediatamente formando um **ramo branco** que penetra sua respectiva cadeia ganglionar. Algumas dessas fibras fazem sinapse com neurônios periféricos simpáticos (pós-ganglionares) na cadeia ganglionar; outros passam adiante para fazer sinapse em outra cadeia ganglionar ou em algum dos gânglios pré-vertebrais. Os axônios amielínicos das cadeias ganglionares neuronais simpáticas periféricas (pós-ganglionares) retornam ao nervo espinal por um ramo denominado **ramo cinza**.

Os gânglios da cabeça são classificados em dois tipos: **gânglios dos nervos cranianos**, os neurônios oriundos tanto das células da crista neural quanto dos placoides ectodérmicos, dependendo de cada gânglio em particular (células da glia originam-se exclusivamente das células da crista neural em todos os gânglios); e **gânglios parassimpáticos cranianos**, que se originam das células da crista neural.

Os neurônios centrais (pré-ganglionares) das vias parassimpáticas estão localizados no tronco cerebral e na medula espinal nos níveis S2 a S4. A divisão parassimpática é, por isso, denominada **sistema craniossacral**. As fibras parassimpáticas do rombencéfalo chegam aos gânglios parassimpáticos do pescoço e vísceras do tronco pelo **nervo vago**, enquanto as fibras parassimpáticas sacrais inervam intestino grosso e gânglios viscerais pélvicos via **nervos esplâncnicos pélvicos**.



Linha do tempo.
Desenvolvimento do sistema nervoso periférico.

Caso Clínico

Um bebê é levado ao pronto-atendimento após morder a porção anterolateral da sua língua. Enquanto um cirurgião oral realizava a sutura da língua, o plantonista notou outras lesões suspeitas. Entre elas, lacerações na gengiva com falta de dentes (Fig. 10-1A), uma queimadura no dedo indicador esquerdo (Fig. 10-1B), múltiplos cortes pequenos e arranhões. Uma radiografia da face, para pesquisar os dentes fraturados, revelou uma fratura oculta no osso parietal. Um levantamento minucioso foi, então, realizado pelo serviço de proteção à criança.



FIGURA 10-1 Criança com insensibilidade congênita à dor e anidrose. A, Boca da criança mostrando lacerações suturadas da língua e gengivas e falta de dentes. B, Mão da criança mostrando queimadura do dedo indicador esquerdo.

Os pais alegam que todas as lesões foram “autoinfligidas” e descrevem que o garoto “não sente dor”. Eles explicaram que os dentes fraturados são devido ao hábito de morder brinquedos e que o dedo queimado ocorreu quando o menino tocou uma chapa quente. Ele não chora com nenhuma dessas lesões significativas, incluindo a mordida na língua, e eles expressaram sua surpresa quando a fratura de crânio foi descoberta. Seu histórico médico mostra que ele foi admitido no hospital por diversas vezes com febre alta e sepse (infecção grave), que foi tratada com antibióticos. A família percebeu que ele ficava vermelho e letárgico no calor e que nunca o viram suar. A criança chorou pouco durante o procedimento de sutura da língua e se mostra indiferente a picadas de agulha para coleta dos exames laboratoriais. A investigação do serviço de proteção à criança não encontrou nenhuma evidência de abuso do menino. A família tem duas outras crianças mais velhas, saudáveis e bem cuidadas.

A neurologia foi consultada e uma biópsia de pele obtida mostrou escassas fibras nervosas na pele e ausência de inervação das glândulas sudoríparas. Com base na história clínica e nos achados histológicos, chegou-se ao diagnóstico de **insensibilidade congênita à dor com anidrose** (anidrose significa ausência de produção de suor). O sequenciamento do gene NTKR1 mostrou duas mutações deletérias, cada qual proveniente de um dos pais, confirmando o diagnóstico. NTKR1 é um receptor para FATOR DE CRESCIMENTO DE NERVOS (NGF) que é requerido para o desenvolvimento da inervação sensorial nociceptiva (dor) da pele e para a inervação autônoma das glândulas sudoríparas écrinas.

Divisões estruturais do sistema nervoso

Conforme abordado no [Capítulo 9](#), o sistema nervoso dos vertebrados consiste em duas divisões *estruturais* principais: o **sistema nervoso central (SNC)** e o **sistema nervoso periférico (SNP)**. O SNC compreende o cérebro e medula espinal. O desenvolvimento do SNC foi discutido no [Capítulo 9](#). O SNP compreende todos os componentes do sistema nervoso fora do SNC. Além disso, fazem parte do SNP os nervos cranianos e gânglios, nervos espinhais e gânglios, nervos autônomos e gânglios e o sistema nervoso entérico. O desenvolvimento do SNP é abordado neste capítulo.

Divisões funcionais do sistema nervoso

Como abordado no [Capítulo 9](#), o sistema nervoso de vertebrados consiste em duas divisões funcionais principais: o **sistema nervoso somático** e o **sistema nervoso visceral**. O sistema nervoso somático inerva a pele e a maior parte dos músculos esqueléticos (p. ex., ele provê tanto componentes sensoriais quanto motores). Similarmente, o sistema nervoso visceral inerva as vísceras (órgãos do corpo), músculos lisos e glândulas da porção periférica do corpo. O sistema nervoso visceral também é chamado de **sistema nervoso autônomo**. Ele é constituído por dois componentes: a **divisão simpática** e a **divisão parassimpática**. Os sistemas nervosos somático e visceral são abordados no [Capítulo 9](#) (componentes do SNC) e neste capítulo (componentes do SNP).

Ambas as divisões do sistema nervoso autônomo consistem em vias de dois neurônios. Devido à localização ganglionar dos neurônios autônomos periféricos, os axônios dos neurônios simpáticos centrais são denominados **fibras pré-ganglionares** e os axônios dos neurônios simpáticos periféricos são denominados **fibras pós-ganglionares**. Esta terminologia é empregada para ambas as vias simpática e parassimpática (abordada posteriormente neste capítulo). Algumas vezes as fibras pré-ganglionares são denominadas **fibras pré-sinápticas** e as fibras pós-ganglionares, **fibras pós-sinápticas**, porque os axônios das fibras pré-ganglionares fazem sinapse nos corpos neuronais dos neurônios pós-ganglionares nos gânglios autônomos.

Origens do SNP

Os [Capítulos 3 e 4](#) descrevem como, durante a neurulação, os primórdios do sistema nervoso central surgem como uma placa neural a partir do ectoderma do disco embrionário e dobra formando o tubo neural (o cérebro e a medula espinal rudimentar). O SNP surge a partir do tubo neural e de dois grupos celulares externos ao tubo neural: células da crista neural e placoides ectodérmicos (os placoides ectodérmicos são abordados posteriormente no [Cap. 18](#)). O SNP se desenvolve como um sistema integrado, essencialmente no sentido craniocaudal. Contudo, por uma questão de simplicidade, o desenvolvimento do tronco (associado à medula espinal) e de porções craneais do SNP (associadas ao cérebro) é abordado separadamente. A divisão simpática do sistema nervoso autônomo surge em associação com o tronco (nível toracolumbar da medula espinal), enquanto a divisão parassimpática do sistema nervoso autônomo surge em associação com o cérebro e a medula espinal caudal (níveis craniossacrais do SNC).

No Laboratório de Pesquisa

Plasticidade de células precursoras do SNP

Como já mencionado, o SNP é formado a partir de células da crista neural e de placoides ectodérmicos. Como essas estruturas são determinadas nas fases embrionárias iniciais e o quanto elas são capazes de se diferenciar em outros tipos celulares? A indução de células da crista neural foi abordada no [Capítulo 4](#), e a indução dos placoides ectodérmicos no [Capítulo 18](#). Contudo, aqui iremos comentar acerca da plasticidade das células da crista neural e dos placoides ectodérmicos.

Plasticidade das Células da Crista Neural e dos Placoides Ectodérmicos

Estudos de transplantes heterotópicos revelaram que tanto as células da crista neural quanto dos placoides ectodérmicos apresentam grande plasticidade no momento de sua formação. Nesses estudos, pequenos grupos prospectivos de células da crista neural ou pequenos agregados de ectoderme pré-placode foram transplantados de sua região habitual de origem para uma região ectópica. Tipicamente, transplantes de tecido de codorna foram transplantados de forma heterotópica para embriões de galinha, permitindo que os tecidos do doador e receptores pudesse ser especificamente rastreados durante o desenvolvimento subsequente ([Cap. 5, Fig. 5-11](#)). Células pré-placoides geralmente são transplantadas de um placode prospectivo para outro (p. ex., da lente para o da ótica ou vice-versa), onde eles rapidamente se adaptam ao novo ambiente alterando seu destino, ou seja, eles exibem plasticidade. Células da crista neural são geralmente transplantadas de um nível craniocaudal para outro, incluindo o posicionamento de células da crista neural do tronco na cabeça e vice-versa. Como abordado no [Capítulo 4](#), células da crista neural originam um grande número de tipos celulares, incluindo cartilagem, osso, melanócitos, tecidos endócrinos, neurônios do SNP e células da glia. Apenas células da crista neural (craniais) são

capazes de formar osso e cartilagem em estudos com transplantes, embora células isoladas da crista neural do tronco sujeitas a várias moléculas sinalizadoras *in vitro* sejam capazes de formar cartilagem em alguns casos. Além disso, as células da crista neural no momento de sua migração também demonstram considerável plasticidade.

Apesar da plasticidade inicial no momento de sua formação, nos estágios mais tardios da neurulação os destinos das populações celulares da crista neural e placode tendem a se tornarem fixos. Assim, o transplante heterotópico neste estágio tardio resulta tipicamente na formação de estruturas ectópicas, de acordo com a origem – mas não com a nova posição – do tecido transplantado.

Células da crista neural e seus derivados, como as células *stem-like* (semelhante às células-tronco)

Como foi descoberto há pouco tempo, células da crista neural originam uma vasta gama de diferentes tipos celulares e, consequentemente, apresentam propriedades semelhantes às de células-tronco (células-tronco embrionárias são abordadas no Cap. 5). Esta natureza de célula *stem-like* não ocorre apenas entre células migratórias da crista neural, mas também continua em sua linhagem (p. ex., em tecidos e órgãos formados por células da crista neural) como células individuais. Por exemplo, células da crista neural pluripotentes (p. ex., células *stem-like*) têm sido identificadas em gânglios da raiz dorsal de embriões de galinha, gânglio simpático e trato cardíaco. As células *stem-like* da crista neural também estão presentes no nervo ciático de embriões de mamíferos e no intestino de embriões e adultos. Entretanto, o potencial de desenvolvimento dessas células está mais restrito do que o das células migratórias da crista neural e varia de acordo com a localização dessas células.

É surpreendente que as células pluripotentes da crista neural que podem originar todas as células cranianas derivadas da crista neural foram isoladas do bulbo de folículos capilares de mamíferos adultos. A bainha conjuntiva do folículo é uma estrutura epidérmica do folículo piloso que serve de nicho para células-tronco de queratinócitos, que forma nova epiderme, glândulas sebáceas e pelo (Cap. 7). Além disso, a bainha conjuntiva do folículo contém uma população mista de células *stem-like* que é formada tanto de células-tronco de queratinócitos quanto de células *stem-like* da crista neural. Células altamente móveis da crista neural derivadas das células *stem-like* (células *stem-like* epidérmicas da crista neural) imigram de explantes da bainha conjuntiva de folículos pilosos de adultos (Fig. 10-2). Notavelmente, mais de 88% dessas células migratórias são células-tronco pluripotentes que podem gerar todos os derivados cranianos da crista neural.

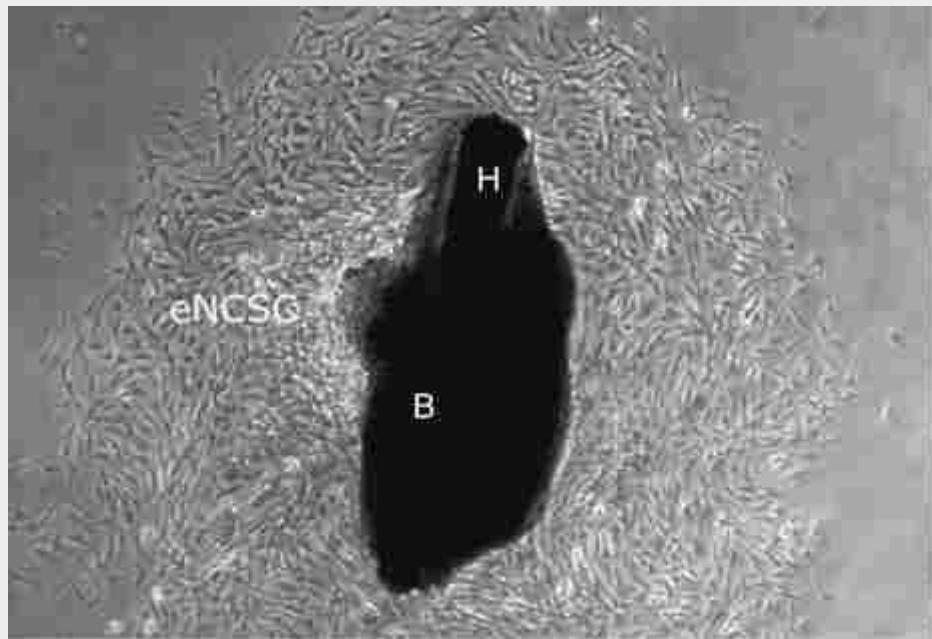


FIGURA 10-2 Amostra de explante de bulbo piloso com 4 dias de início da emigração das células *stem-like* epidérmicas da crista neural (eNCSCs). O bulbo (B), dissecado a partir de um folículo piloso de camundongo Whisker adulto, libera eNCSCs numerosas e com grande mobilidade, que se dividem rapidamente em cultura. O pelo (H) é visível no interior do bulbo.

Devido à sua existência em humanos, sua acessibilidade e seu alto grau de plasticidade fisiológica, células *stem-like* da crista neural na periferia do organismo adulto são candidatas promissoras à terapia de substituição celular.

Na Clínica

Neurofibromatose tipo 1 (NF-1)

A neurofibromatose do tipo 1 (também conhecida como doença de von Recklinghausen) é uma disposição familiar para desenvolvimento de tumores que afeta 1 em 3500 indivíduos ao redor do mundo. É uma doença progressiva com déficits múltiplos incluindo tumores benignos e malignos do sistema nervoso central e periférico. Um gene mutado na neurofibromatose do tipo 1, NEUROFIBROMINA (NF-1), é um **gene supressor de tumor** que inativa o **proto-oncogene RAS**. Pacientes com NF-1 são heterozigotos para a mutação que inativa o gene NF-1. Assim, a função de RAS está regulada positivamente em pacientes NF-1. Além disso, inibidores da sinalização de fator de crescimento de fibroblastos (Fgf) (que ocorre pela via Ras-Mapk, [Capítulo 5](#)) como a SPRED1, membro da crescente/ampla família de proteínas, quando mutadas, resultam em uma patologia *NF-1-like*.

Uma característica marcante da NF-1 é a presença de seis ou mais manchas café com leite de tamanho aumentado (maior que 0,5 cm em crianças; maior que 1,5 cm em adultos) — pigmentações de nascença (frequentemente uma ou duas manchas café com leite estão presentes em indivíduos não afetados). Elas são assintomáticas. Uma segunda característica marcante e problemática é a presença de numerosos tumores benignos cutâneos chamados **neurofibromas**. Estes tumores contêm múltiplos tipos celulares, incluindo células de Schwann, neurônios, fibroblastos e mastócitos. Como visto no [Capítulo 4](#), as duas primeiras células citadas são derivadas das células da crista neural. A evidência sugere que o segundo alelo do tipo selvagem é perdido em pacientes com NF-1 por deleção somática subsequente (por isso chamada de hipótese de *two-hit*), que leva a determinados tipos tumorais (p. ex., tumor maligno da bainha de nervos periféricos). Contudo, devido a infrequência de deleções somáticas e a frequência do desenvolvimento de neurofibromas em pacientes com NF, segundas mutações provavelmente não são necessárias para o formação do neurofibroma.

Ambos os eventos parácrinos e/ou autônomos celulares são conhecidos por desencadear a formação de neurofibromas. Por exemplo, a chegada da puberdade ou a gestação frequentemente está associada a um aumento no número e tamanho dos neurofibromas. Ambas as circunstâncias envolvem alterações hormonais e um aumento nos depósitos subcutâneos de tecido adiposo. Consequentemente, mecanismos hormonais e/ou parácrinos podem ser responsáveis pela tumorigênese em alguns pacientes com NF-1. Com isso em mente, existe uma convergência interessante de dois achados: primeiro, os folículos pilosos de pele com aspecto de normalidade de pacientes com NF-1 frequentemente estão rodeados por numerosas células S100 positivas derivadas de células da crista neural — derivadas das células de Schwann, ou progenitores das células de Schwann; e, segundo, como abordado no “Laboratório de Pesquisa” anterior, intitulado “Plasticidade das Células Precursoras do SNP”, os folículos pilosos contêm células *stem-like* da crista neural. Consequentemente, supõe-se que os mitógenos produzidos pelos adipócitos e/ou hormônios femininos promovam a proliferação de células *stem-like* da crista neural em folículos pilosos de pacientes com NF-1, levando à formação do neurofibroma.

Na NF-1, as fibras nervosas podem crescer descontroladamente aumentando a pressão nos nervos afetados e resultando em dano nervoso, dor e perda da função do nervo acometido. Como nenhum tratamento específico existe para esta patologia, ela é tratada cirurgicamente pela remoção dos neuromas dolorosos ou em crescimento rápido, uma vez que estes podem sofrer malignização. Tumores também podem ocorrer em estruturas como os nervos ópticos, resultando em cegueira.

No Laboratório de Pesquisa

Neurogênese no SNP

O processo de neurogênese ocorre similarmente no SNC e no SNP e envolve uma série de etapas em que células precursoras multipotentes (p. ex., células-tronco ou células *stem-like*) tornam-se progressivamente mais diferenciadas com o passar do tempo. Durante esse processo, as células geralmente se transformam a partir de precursores multipotentes (p. ex., capazes de originar todos os tipos de neurônios e glia) para precursores neuronais (ou gliais) estritos (p. ex., capazes de formar apenas neurônios ou glia, mas não ambos) até células totalmente diferenciadas (p. ex., um tipo específico de neurônio). No SNC esses precursores surgem da placa neural; no SNP eles surgem das células da crista neural e dos placoides ectodérmicos. Inicialmente, as células nesses rudimentos se dividem rapidamente, expandindo a população de células. Entretanto, com o tempo, a divisão dessas células se torna assimétrica de forma que uma célula-filha, derivada de uma determinada divisão mitótica, permanece mitoticamente ativa e indiferenciada, enquanto a outra célula-filha se torna pós-mitótica, migrando para longe do seu sítio de origem, e inicia a diferenciação.

Diversos genes exercem papel fundamental na regulação da neurogênese. Eles incluem tanto reguladores positivos quanto negativos. Exemplos dos primeiros incluem os fatores de transcrição básicos hélice-alça-hélice (bHLH), conhecidos como genes **pró-neurais**. Em vertebrados também estão incluídos os genes Mash (o gene ortólogo de mamíferos dos genes achaete-scute de *Drosophila*). Outros genes pró-neurais de vertebrados incluem o Math, NeuroD e as neurogeninas (os três últimos são de vertebrados — de mamíferos no caso do Math — ortólogos de genes atonais de *Drosophila*). A expressão desses genes pró-neurais é tanto suficiente quanto necessária para a formação de neurônios. Exemplos de reguladores negativos da neurogênese incluem membros da via de sinalização notch (abordados no [Cap. 5](#)). Através de um processo chamado **inibição lateral** (abordado nos capítulos 10 e [18](#)), que envolve a sinalização notch, uma célula precursora neuronal inibe suas vizinhas de se diferenciar em neurônios (p. ex., pela secreção de um ligante de notch como o delta, que se liga aos receptores notch das células vizinhas). A inibição lateral também regula o número de neurônios que se originam em qualquer região do sistema nervoso em desenvolvimento e permite que células de suporte da glia sejam formadas. Não obstante, muito mais neurônios do que o necessário são formados. Então, pelo processo subsequente de morte celular programada, o número definitivo de neurônios é reduzido ao número característico para cada área do SNC e do SNP.

Desenvolvimento do SNP do tronco

O SNP do tronco consiste dos nervos espinhais e gânglios, nervos autônomos e gânglios e do sistema nervoso entérico. Os nervos simpáticos seguem pelos nervos espinhais em nível toracolombar para alcançar seus gânglios. Além disso, os nervos parassimpáticos seguem pelos nervos espinhais sacrais para alcançar seus gânglios. E o desenvolvimento dos nervos espinhais (e gânglios) e nervos autônomos associados (simpático no nível toracolombar e parassimpático nos níveis sacrais) é estudado em conjunto. O desenvolvimento do sistema nervoso entérico é abordado no [Capítulo 4](#), bem como no [Capítulo 14](#) no contexto do desenvolvimento da parede intestinal.

Desenvolvimento dos nervos espinhais e gânglios

Axônios Motores da Coluna Ventral São os Primeiros a Brotar da Medula Espinal

Os primeiros axônios a emergirem da medula espinal são produzidos por motoneurônios somáticos nas columnas cintzentas ventrais. Essas fibras surgem na região cervical por volta do 30º dia ([Fig. 10-3](#)) e (como vários outros processos embrionários) prosseguem no sentido craniocaudal em direção à medula espinal.

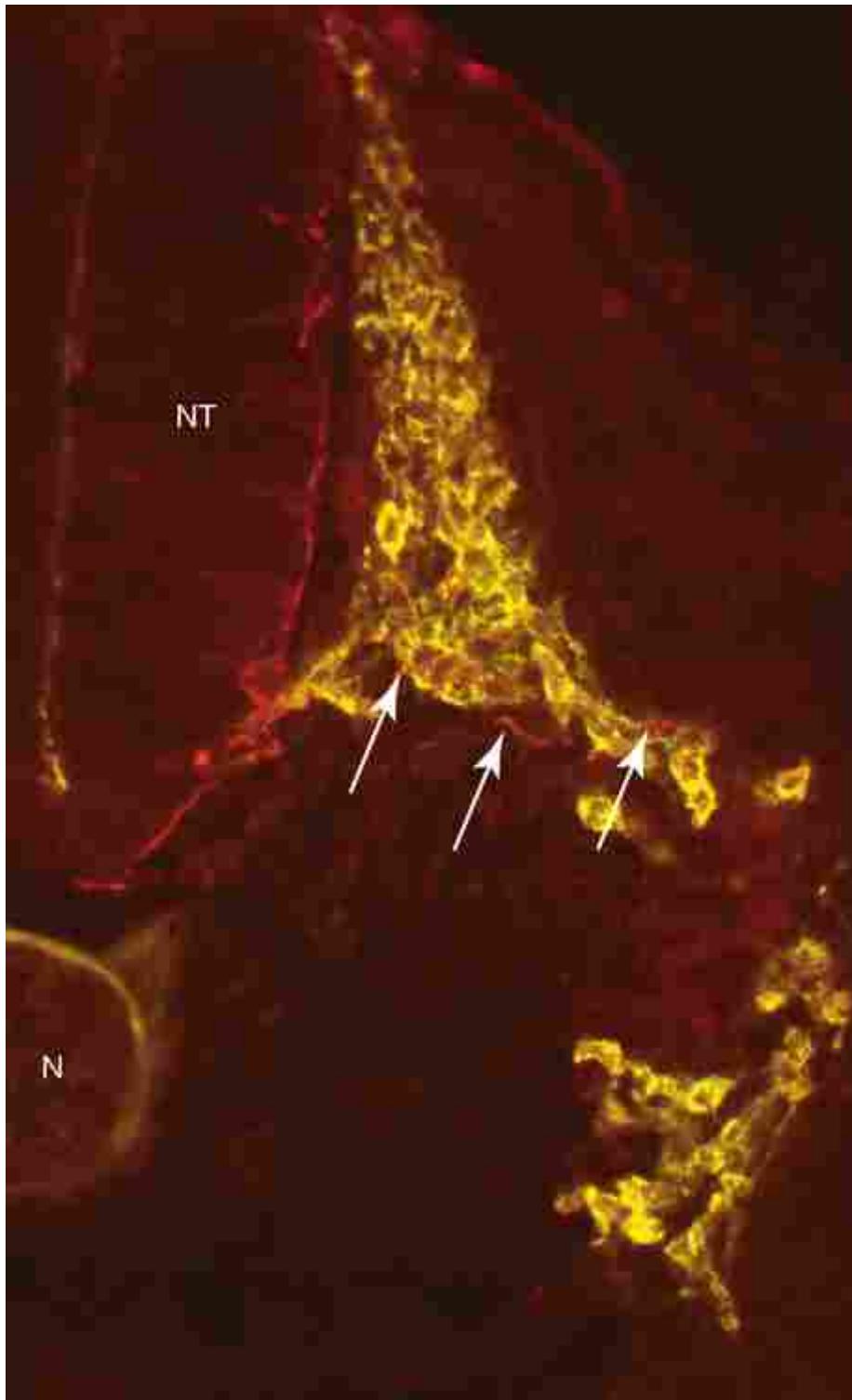


FIGURA 10-3 Preparação imunoquímica com dupla coloração mostrando células da crista neural (em embrião de galinha corado com anticorpo HNK-1; amarelo) e fibras de motoneurônios ventrais (marcadas com E/C8, um anticorpo contra proteína ligante de neurofilamento; vermelho e setas). As células da crista neural estão migrando através da segunda metade do esclerótomo. N, notocorda; NT, tubo neural.

Os axônios motores ventrais inicialmente deixam a medula espinal como uma ampla faixa contínua. Contudo, enquanto crescem em direção aos esclerótomas, eles rapidamente condensam formando discretos segmentos de nervos. Embora esses axônios, eventualmente, venham a formar sinapses com músculos dos miótomas em formação, sua orientação inicial depende apenas dos esclerótomas e não dos elementos de miótomo ou dermátomo do somito. Como visto no Capítulo 8, as células da crista neural migram no interior da metade cranial de cada esclerótomo; axônios da coluna ventral também migram no interior da metade craniana de cada esclerótomo (Fig. 10-3). Como resultado, esses axônios em crescimento passam próximo ao gânglio da raiz dorsal em desenvolvimento em cada nível.

Os primeiros axônios que inicialmente brotam da medula espinal logo se unem aos axônios motores adicionais da

coluna ventral, e o feixe em crescimento é, agora, denominado **raiz ventral** (Fig. 10-4). Nos níveis espinhais de T1 a L2 ou L3, a raiz ventral, posteriormente, recebe axônios provenientes dos motoneurônios simpáticos que se desenvolvem nas colunas intermediolaterais nesses níveis (Fig. 10-4; abordados posteriormente neste capítulo).

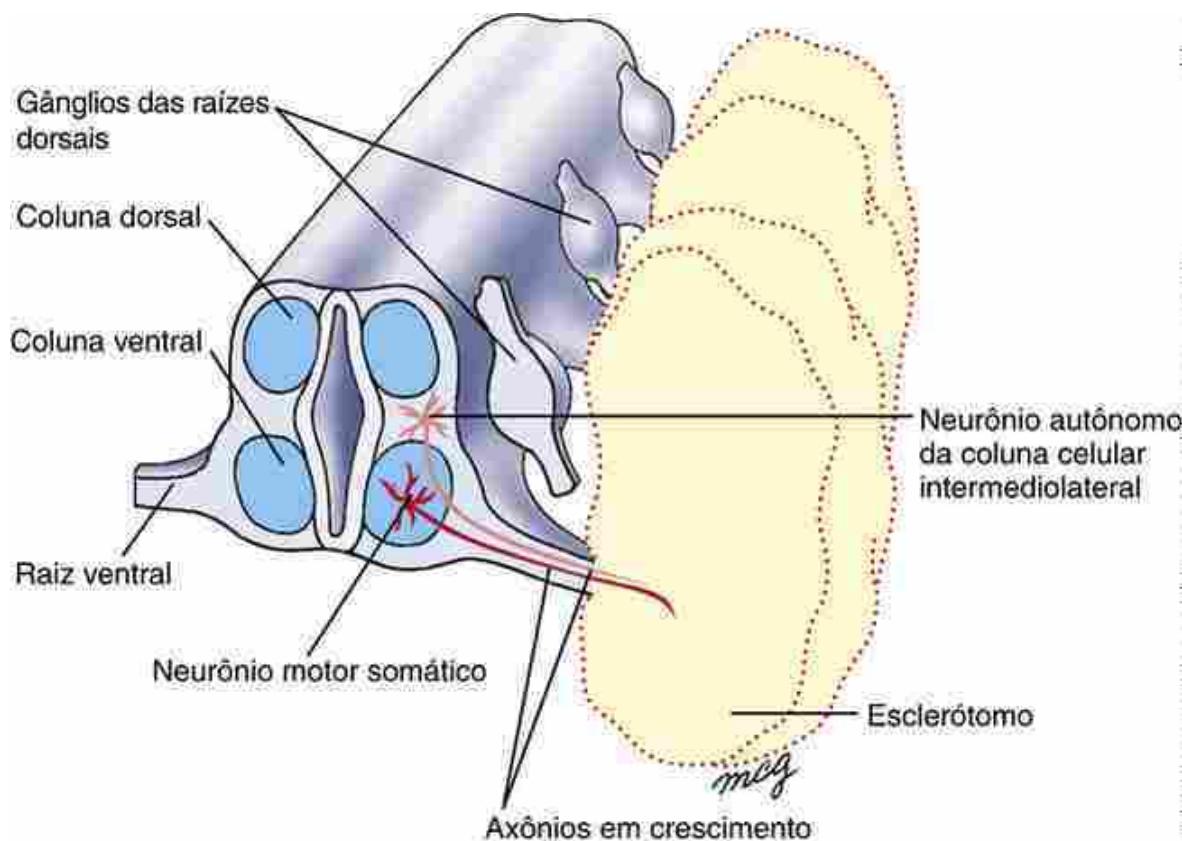


FIGURA 10-4 Crescimento das raízes ventrais e formação dos gânglios das raízes dorsais. Axônios de motoneurônios que crescem da coluna ventral em cada nível segmentar da medula espinal são guiados pelo esclerótomo para formar uma raiz ventral. Gânglios da raiz dorsal são formados no mesmo plano.

As Fibras Motoras Somáticas e Autônomas se Combinam às Fibras Sensoriais Formando os Nervos Espinhais

Enquanto os axônios dos motoneurônios ventrais se aproximam do gânglio da raiz dorsal correspondente, os neurônios no gânglio da raiz dorsal começam a estender axônios em duas direções. Cada um desses neurônios bipolares, cujos corpos celulares residem no interior do gânglio da raiz dorsal, tem um ramo que cresce medialmente em direção à coluna dorsal da medula espinal e um ramo que se une à raiz ventral e cresce em direção à periferia para inervar os órgãos-alvo (Fig. 10-5). O feixe de axônios que conecta o gânglio da raiz dorsal à medula espinal é denominado **raiz dorsal**. Os processos centrais das células ganglionares da raiz dorsal penetram as colunas dorsais da medula espinal (Fig. 10-6), onde fazem sinapse com os **neurônios de associação** em desenvolvimento. Destes neurônios de associação brotam axônios que fazem sinapse tanto com motoneurônios autônomos nas colunas celulares intermediolaterais quanto com motoneurônios somáticos nas colunas ventrais, ou ascendem para níveis mais altos na medula espinal na forma de **tratos**. Os axônios de alguns neurônios de associação formam sinapse com motoneurônios no mesmo lado, ou **ipsilateral**, da medula espinal, enquanto outros atravessam para fazer sinapse com motoneurônios no lado oposto da medula, ou **contralateral**.

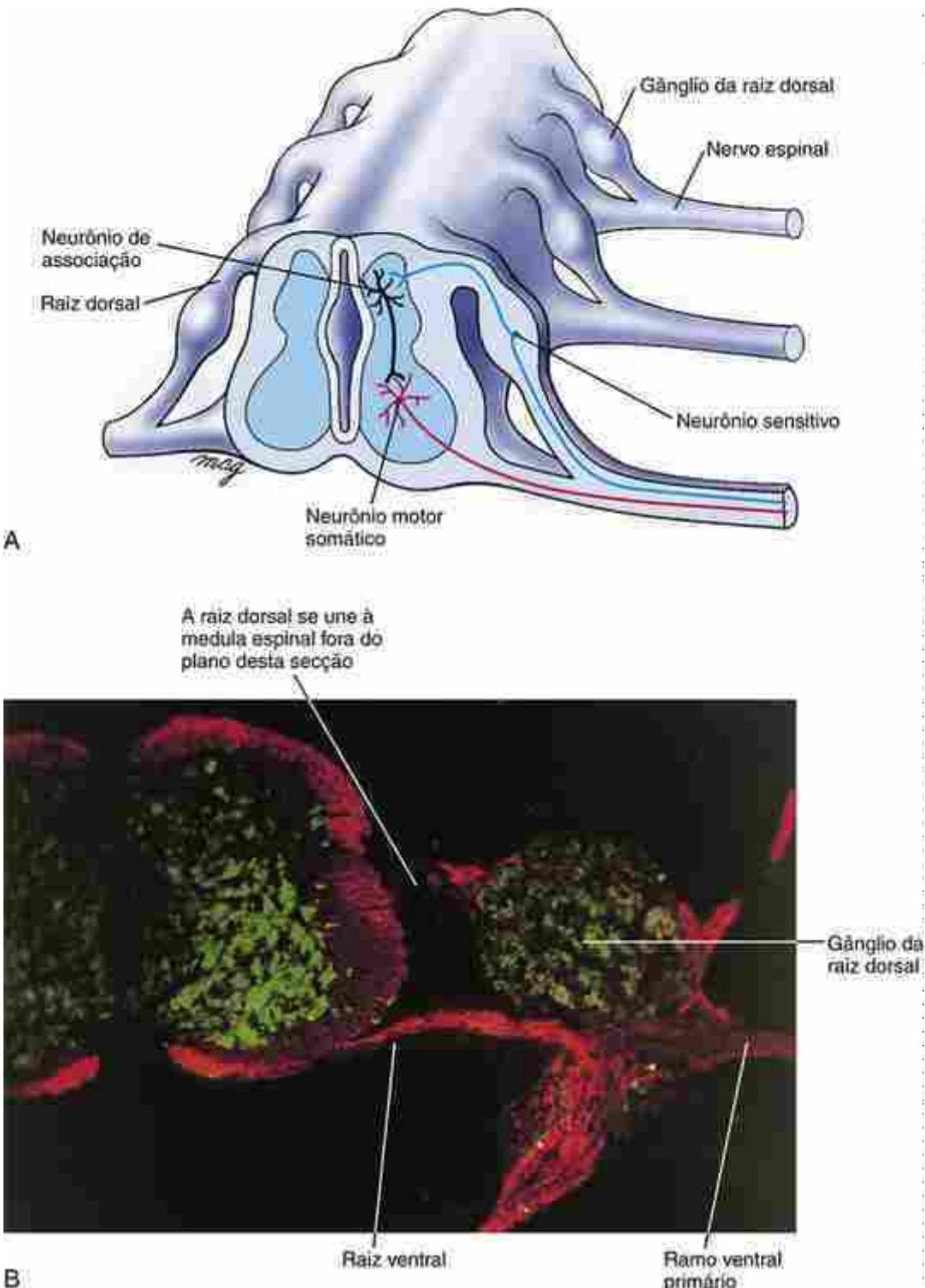


FIGURA 10-5 Nervos espinhais. A, Uma vez que as raízes ventrais são formadas, os neurônios sensitivos no interior de cada gânglio da raiz dorsal emitem processos que crescem para o interior do tubo neural, fazendo sinapse com neurônios de associação na coluna dorsal. Outros processos crescem a partir do gânglio da raiz dorsal para se unirem à raiz ventral, formando um nervo espinal típico. A raiz dorsal conecta o gânglio da raiz dorsal à medula espinal. O axônio do neurônio de associação nesta ilustração está fazendo sinapse com um neurônio motor do mesmo lado da medula espinal e no mesmo nível segmentar (axônios também podem mostrar outros padrões de conexão; discutido no texto). B, Preparação imunoquímica com dupla coloração mostrando corpos celulares de neurônios (verde) e neurofilamentos no interior dos processos nervosos celulares (vermelho).

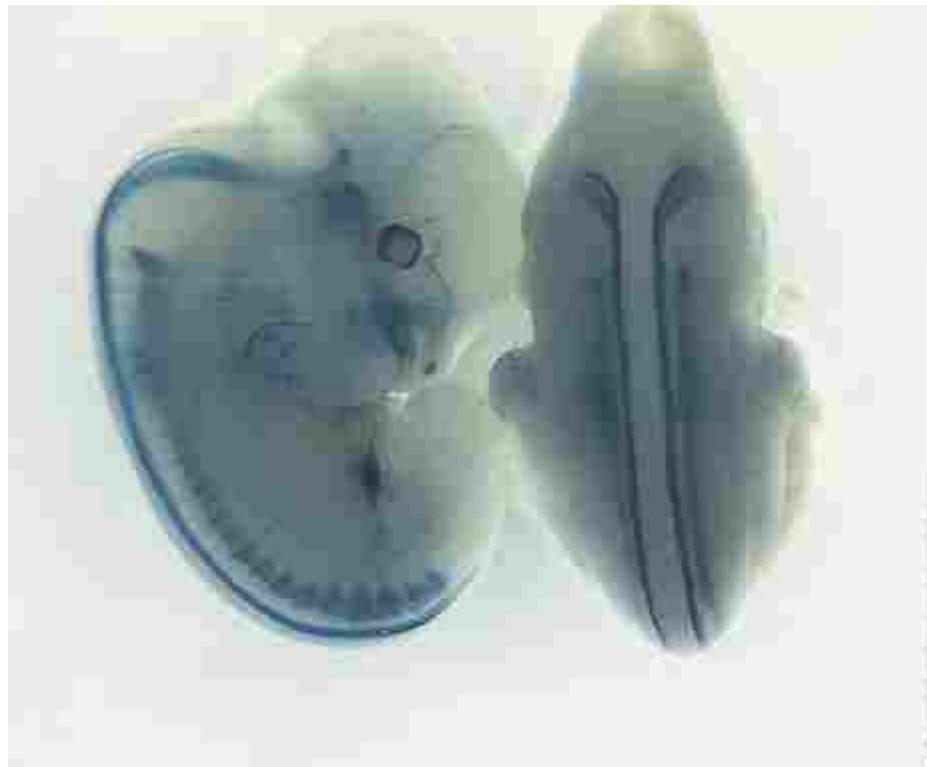


FIGURA 10-6 Vistas dorsal e lateral de camundongos transgênicos que expressam o gene bacteriano lacZ em tecidos que também produzem periferina (uma proteína neurofilamentar característica de neurônios do SNP, mas não encontrada no SNC). A enzima codificada pelo gene lacZ faz com que as células produtoras de periferina se tornem azuis quando processadas apropriadamente. A *coloração azul* está localizada em pequenos neurônios das células da crista neural, derivados dos gânglios da raiz dorsal e nos axônios destas células que penetram a medula espinal em uma região que se sobrepõe às colunas dorsais de cor cinza da medula espinal (*listras parassagitais*).

O tronco misto, motor e sensorial, formado em cada nível pela confluência dos processos periféricos das células do gânglio da raiz dorsal e das raízes ventrais, é denominado **nervo espinal** (Fig. 10-5). As fibras simpáticas (pré-ganglionares) que saem pelas raízes ventrais nos níveis T1 a L2 ou L3 logo se agrupam a partir do nervo espinal e crescem ventralmente entrando na **cadeia ganglionar simpática** correspondente (Figs. 10-7; 4-19, 4-22). Este ramo é conhecido como **ramo branco**. Algumas das fibras simpáticas que formam o ramo branco fazem sinapse diretamente com um neurônio na cadeia ganglionar. Este neurônio se torna o segundo neurônio (periférico ou pós-ganglionar ou pós-sináptico) em uma via neuronal simpática bineuronal e brota um axônio que cresce para inervar o órgão-alvo apropriado na periferia.

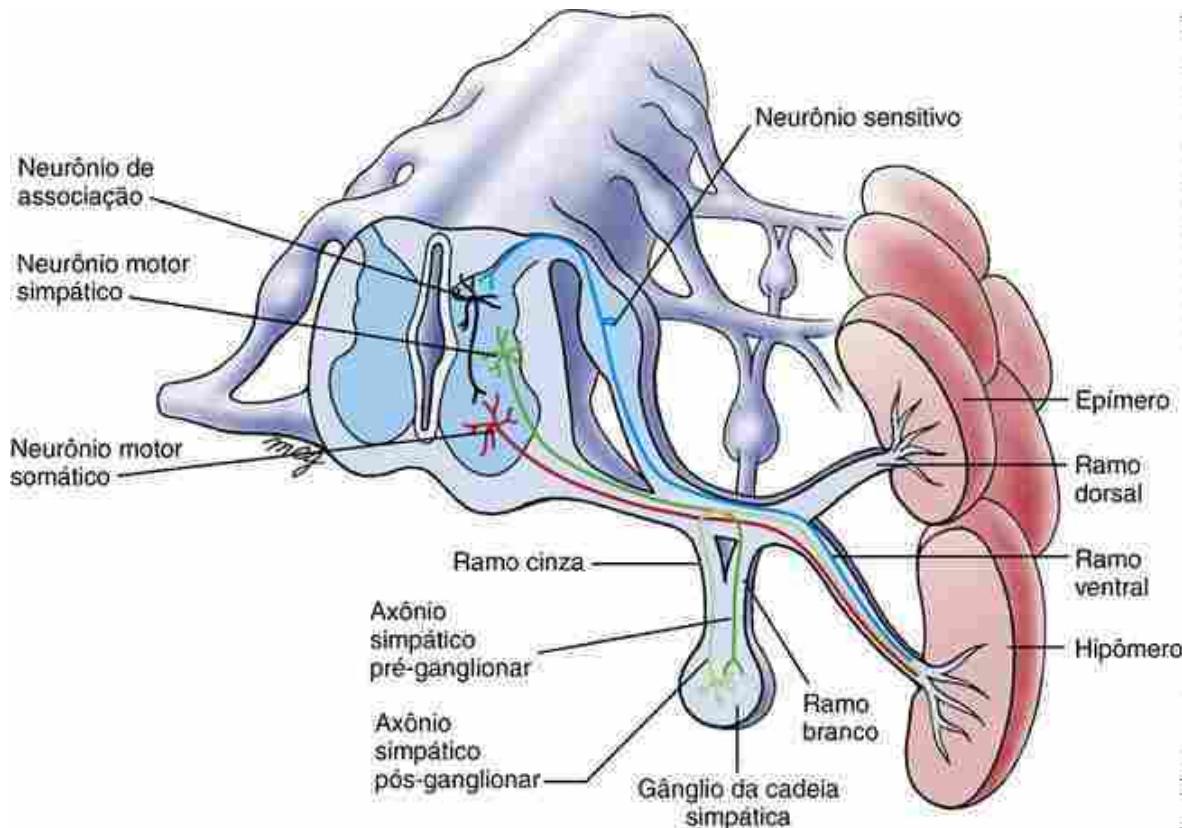


FIGURA 10-7 Organização dos nervos espinhais e gânglios associados aos níveis de T1-L2 e S2-S4.

Neste exemplo, a fibra pré-ganglionar que cresce a partir da coluna celular intermediolateral deixa o nervo espinal pelo ramo branco e faz sinapse com um neurônio no gânglio da cadeia no mesmo nível. A fibra pós-ganglionar, então, sai pelo ramo cinza e reencontra o mesmo nervo espinal. Cada nervo espinal se divide em ramo dorsal primário e ramo ventral primário, que inervam o epímero e o hipômero do segmento, respectivamente. Ambos os ramos contêm fibras motoras, sensitivas e autônomas.

Nem todas as fibras pré-ganglionares simpáticas que penetram uma cadeia ganglionar pelo ramo branco fazem sinapse lá. O remanescente se projeta cranial ou caudalmente fazendo sinapse em uma cadeia ganglionar mais cranial ou caudal, ou em um dos gânglios pré-vertebrais (pré-aórticos) (Fig. 4-19). O conjunto destas fibras e a cadeia ganglionar constituem o **tronco simpático**. Eles serão abordados no próximo capítulo.

As fibras pós-ganglionares que foram originadas de cada cadeia ganglionar formam um pequeno ramo — o **ramo cinza** — que cresce dorsalmente para reencontrar o nervo espinal e, depois, cresce em direção à periferia (Fig. 10-7). Distal ao ramo cinza, o nervo espinal também leva fibras sensitivas, fibras motoras somáticas e fibras simpáticas pós-ganglionares.

Axônios nos Nervos Espinhais Crescem em Direção a Locais Específicos

Axônios motores e sensitivos nos nervos espinhais crescem em direção a alvos específicos na parede corporal e nas extremidades. Logo após deixar a coluna espinal, cada axônio primeiramente escolhe uma de duas rotas, crescendo tanto dorsalmente em direção ao **epímero** quanto ventralmente em direção ao **hipômero**. Então, o nervo espinal se divide em dois **ramos**. Os axônios que direcionam seu caminho em direção ao epímero formam o **ramo dorsal**, e as fibras que crescem em direção ao hipômero formam o **ramo ventral** (Fig. 10-7). A presença do epímero é necessária para a formação do ramo dorsal. Se apenas um epímero for removido de um animal em experimento, o ramo dorsal do nervo espinal correspondente irá crescer para inervar um epímero adjacente. Entretanto, se vários epímeros sucessivos sofrerem ablação, o ramo dorsal correspondente não se formará.

Axônios de fibras motoras somáticas nos ramos dorsal e ventral buscam músculos específicos ou feixes de fibras musculares e formam sinapses com as fibras musculares, enquanto fibras motoras simpáticas pós-ganglionares inervam o músculo liso de vasos sanguíneos, glândulas sudoríparas e músculos eretores do pelo na pele. Os sinais específicos que guiam as fibras motoras por seus caminhos não são conhecidos. Acredita-se que os sinais inibitórios provenientes das efrinas nos músculos ventrais direcionam os axônios motores para os ramos nervosos dorsais (veja também o tema do direcionamento axonal nos quadros “No Laboratório de Pesquisa” intitulados “Padrão de Migração das Células Precursoras Simpáticas e Gânglios Simpáticos” e “A Regulação da Orientação Axonal no SNP”). Além disso, tem sido sugerido que as fibras simpáticas utilizam o sistema vascular em desenvolvimento como guia. Por outro lado, tem sido sugerido o oposto, que os nervos periféricos servem de guia na determinação do padrão

organotípico da ramificação dos vasos sanguíneos e diferenciação arterial na pele por meio da secreção local de fator de crescimento endotelial vascular (Vegf).

Os axônios sensitivos crescem, de algum modo, após os axônios motores. Na maior parte do seu trajeto eles seguem o caminho estabelecido pelas fibras motoras somáticas e simpáticas, embora, eventualmente, eles se ramifiquem dos nervos combinados e, finalmente, se associam aos órgãos sensitivos terminais, como os fusos musculares, receptores de temperatura e toque na derme, e sensores de pressão e quimiorreceptores na vasculatura em desenvolvimento. Em muitos casos, os neurônios sensitivos são responsáveis pela indução e manutenção dos receptores sensitivos especializados.

Na Clínica

Neuropatias periféricas hereditárias

Os motoneurônios, cujos corpos celulares residem no interior dos cornos da medula espinal, podem estender seus axônios por até 1 metro do SNP. Os neurônios sensitivos, cujos corpos celulares residem nos gânglios da raiz dorsal, estendem seus processos centrais para o interior de cada segmento da medula espinal, e seus processos periféricos fasciculam com os axônios de neurônios motores para formarem nervos mistos. Axônios no SNP são mielinizados pelas **células de Schwann**. Além disso, as células de Schwann desempenham uma função no SNP auxiliadas por astrócitos e oligodendrócitos no SNC ([Cap. 9](#)). O sinal para mielinização é proveniente do axônio, e a mielinização ocorre em axônios com mais de 1 a 2 μm de diâmetro. Cada segmento de um axônio mielinizado é ocupado por uma única célula de Schwann, e o comprimento dos segmentos se correlaciona com o diâmetro do axônio. Nas fibras amielínicas, uma única célula de Schwann geralmente cerca múltiplos axônios. A bainha de mielina é composta de camadas compactas da membrana das células de Schwann. Ela é predominantemente lipídica, embora contenha inúmeras proteínas que exercem papel fundamental na manutenção da estrutura e compactação da mielina e adesão da bainha ao axônio. Várias dessas proteínas e lipídios podem ser imunógenos importantes no processo patológico.

Os nervos periféricos são, geralmente, nervos mistos compostos por fibras sensitivas, motoras, simpáticas e parassimpáticas. Os nervos estão divididos em fascículos rodeados pelo **perineuro**, uma bainha de tecido conjuntivo, e estão agrupados pelo **epineuro**, uma bainha de tecido conjuntivo semelhante. Fibras nervosas individuais estão rodeadas por uma terceira bainha, o **endoneuro**. Esta bainha contém colágeno, fibroblastos, mastócitos e macrófagos residentes. As arteríolas endoneurais são supridas por um plexo de vasos sanguíneos epineurais com múltiplas anastomoses. Macromoléculas circulantes são excluídas do endoneuro pela **barreira hematoneural**, análoga à barreira hematoencefálica e formada pelos endoteliócitos e suas junções oclusivas.

O longo comprimento dos axônios do SNP, sua dependência do transporte axonal para a renovação das estruturas de membrana e componentes do citoesqueleto, dentre outros fatores, os tornam especialmente vulneráveis a dano. As principais patologias que acometem os nervos envolvem a degeneração axonal e desmielinização. O dano às células de Schwann ou à bainha de mielina pode resultar na desmielinização de um segmento. Neste processo, a bainha de mielina é perdida de um segmento completo de até 1 mm de comprimento. Macrófagos removem os debríis de mielina e as células de Schwann dividem-se após a desmielinização segmentar. A remielinização pode ser rápida, ocorrendo em poucos dias, produzindo pequenos segmentos de mielina, geralmente com cerca de 300 μm de comprimento.

Certas doenças desmielinizantes são hereditárias. O diagnóstico específico é, agora, possível por meio da análise genética de determinados fenótipos, necessitando da biópsia do nervo em muitos casos. O diagnóstico permite o manejo neurológico e aconselhamento sobre o risco para os membros da família.

Neuropatia Hereditária de Charcot-Marie-Tooth

A **neuropatia hereditária de Charcot-Marie-Tooth (CMT)**, também conhecida por neuropatia sensório-motora hereditária (HMSN), é um grupo de polineuropatias desmielinizantes crônicas (p. ex., motoras e sensitivas) que se manifestam na 1^a e 2^a décadas de vida por lenta e progressiva fraqueza distal, atrofia e perda sensorial, sendo pior nos membros inferiores (pernas). Arco plantar aumentado (pé cavos), dedos em martelo, instabilidade articular no tornozelo e eventuais deformidades são comuns. A hipertrofia de nervos também pode ser observada. Uma redução na velocidade de condução do impulso nervoso, geralmente de 20 a 30 m/s (normal ≥ 40 m/s), sem bloqueio de condução, é típica. Biópsias revelam perda de fibras mielínicas, sinais de desmielinização e remielinização e bulbos de cebola (estruturas laminares concêntricas formadas pelas células de Schwann). Tornozeleiras, sapatos especiais e cirurgia corretiva do pé e tornozelo geralmente são úteis. A maior parte dos pacientes, contudo, é de manejo ambulatorial. Atualmente quatro tipos são reconhecidos: os tipos **CMT1, 2, 4 e X**. Mutações que resultam em CMT têm sido identificadas em mais de 30 genes.

A **CMT1** é uma doença autossômica dominante que ocorre em 50% dos pacientes com CMT. Mutações foram

identificadas em cinco genes diferentes que codificam **mielina** ou proteínas relacionadas com a mielina, e a maior parte (70% a 80%) ocorre no gene PMP22 (proteína mielinica periférica 22) e 5% a 10% ocorrem no gene MPZ (proteína mielinica zero). A desmielinização afeta ambos os nervos motores e sensitivos, resultando em atrofia muscular e déficit sensorial.

A **CMT2** é uma doença predominantemente autossômica dominante e causa polineuropatia sensório-motora crônica dos axônios, sem desmielinização. Ela ocorre em 20% a 40% dos pacientes com CMT. Estudos de eletrofisiologia demonstram sinais de denervação muscular distal crônica e pequena diminuição na velocidade de condução do impulso nervoso. Pacientes com CMT1 e CMT2 apresentam pés cavos e dedos em martelo, com predominância de atrofia distal, fraqueza e perda sensorial. A CMT2 é geneticamente heterogênea, com mutações identificadas em 13 diferentes genes. Alguns desses genes são conhecidos por estarem envolvidos na função axonal, como o membro da família das cinesinas KIF1B.

A **CMT4** é uma doença autossômica recessiva rara que pode levar a anormalidades da **mielina** e/ou **axônios**. Os pacientes apresentam sintomas típicos de CMT, incluindo fraqueza muscular e perda sensitiva. Mutações foram encontradas em nove genes distintos.

A **CMTX** é uma doença ligada ao cromossoma X que afeta 10% a 20% dos pacientes com CMT. A axonopatia e a desmielinização ocorrem com maior gravidade em pacientes do sexo masculino que, clinicamente, se assemelham a pacientes com CMT1 e CMT2. Cerca da metade das mulheres portadoras são levemente afetadas. É observada redução na velocidade de condução do impulso nervoso da ordem de 30 a 40 m/s. Alterações patológicas sugerem que exista um defeito no **axônio**, embora uma proteína anormal das junções do tipo gap, a conexina 32, seja encontrada na **mielina** compactada.

Além dos quatro tipos de CMT, existem outras neuropatias periféricas hereditárias semelhantes à CMT, como a **doença de Refsum**. Esta doença se distingue da CMT pela presença de sintomas adicionais, incluindo anosmia, surdez, retinite, ictiose e ataxia. Ela é causada pelo acúmulo de **ácido fitânico** (uma substância comumente encontrada nos alimentos), resultado de mutações no gene codificador da enzima FITANOIL-CoA HIDROXILASE. Mutações foram encontradas em dois genes distintos.

O padrão da ineração motora somática e sensitiva é segmentar

Nervos motores e sensitivos inervam a parede do corpo e membros em um padrão baseado em uma organização segmentar estabelecida pelos somitos. Por exemplo, os músculos intercostais entre um dado par de costelas são inervados pelo nervo espinal que se originou naquele nível. A ineração sensitiva da pele também é basicamente segmentar: cada dermatomo é inervado pelo nervo espinal que cresceu a partir daquele mesmo nível ([Cap. 7](#)). Entretanto, o componente sensitivo de cada nervo espinal se espalha alcançando dermatomos adjacentes, por isso é evidente a existência de sobreposição na ineração de dermatomos ([Fig. 10-8](#)).

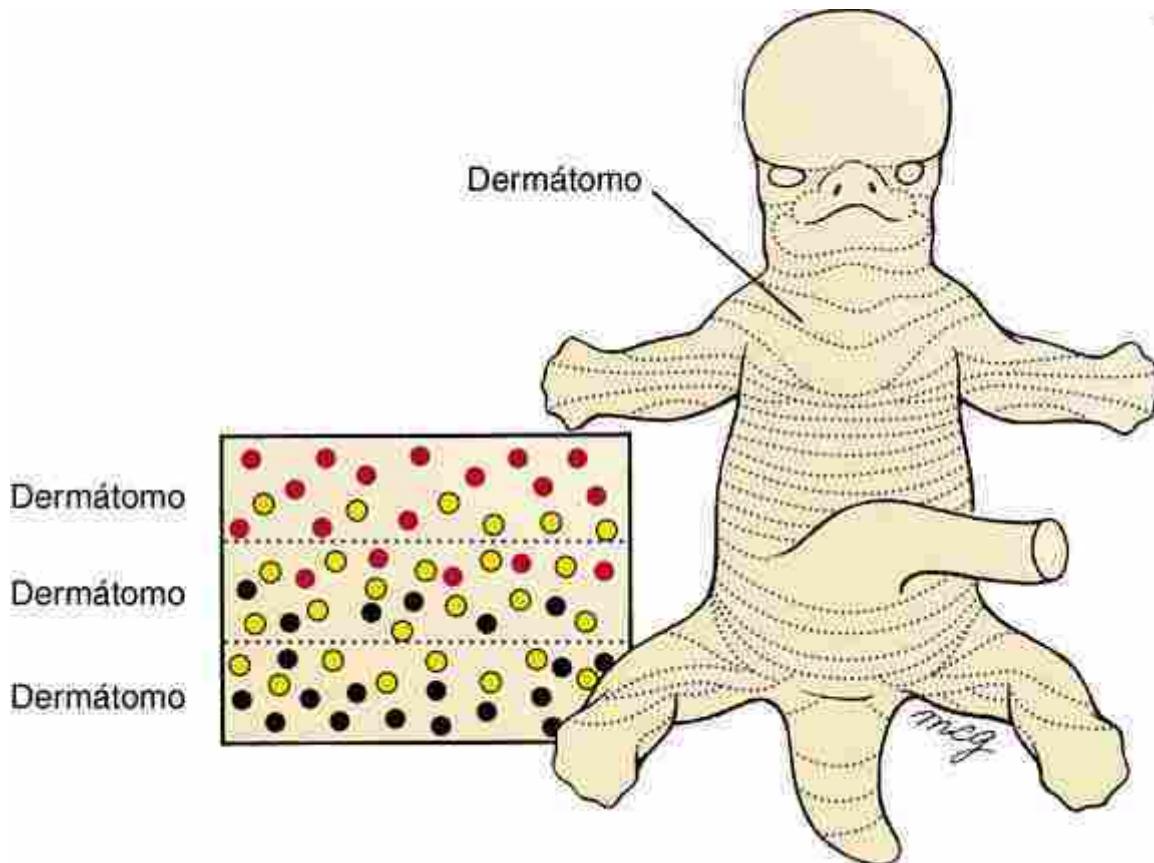


FIGURA 10-8 Distribuição em dermatomas da ineração sensitiva. Fibras sensitivas de cada nervo espinal inervam receptores principalmente no segmento ou dermatomo correspondente. Contudo, a ineração de dermatomas adjacentes mostra certa sobreposição, por isso a ablação de uma raiz dorsal não elimina totalmente a sensibilidade no seu dermatomo correspondente.

O padrão da ineração simpática não é inteiramente segmentar

Fibras simpáticas que percorrem os nervos espinhais compartilham a distribuição segmentar das fibras motoras somáticas e sensitivas. Além disso, segmentos da parede corporal e extremidades em desenvolvimento nos níveis T1 a L2 ou L3 são inervados por fibras pós-ganglionares oriundas da cadeia ganglionar nos níveis correspondentes da medula espinal. Porém, é necessário outro padrão para prover ineração simpática aos demais níveis da parede corporal e extremidades, que correspondem aos níveis medulares que não apresentam neurônios simpáticos. Cadeias ganglionares se desenvolvem nas regiões cervical, lombar baixa, sacral e cocígea, além das regiões torácica e lombar alta. Como esses gânglios recebem ineração simpática central? A resposta (como dada a dica anteriormente) é que algumas fibras pré-ganglionares simpáticas, ao penetrarem a cadeia ganglionar nos níveis de T1 a L2 ou L3, viajam cranial ou caudalmente até outras cadeias ganglionares antes de fazerem sinapse. Algumas dessas fibras ascendentes ou descendentes suprem a cadeia ganglionar externamente de T1 a L2 ou L3 (Fig. 10-9).

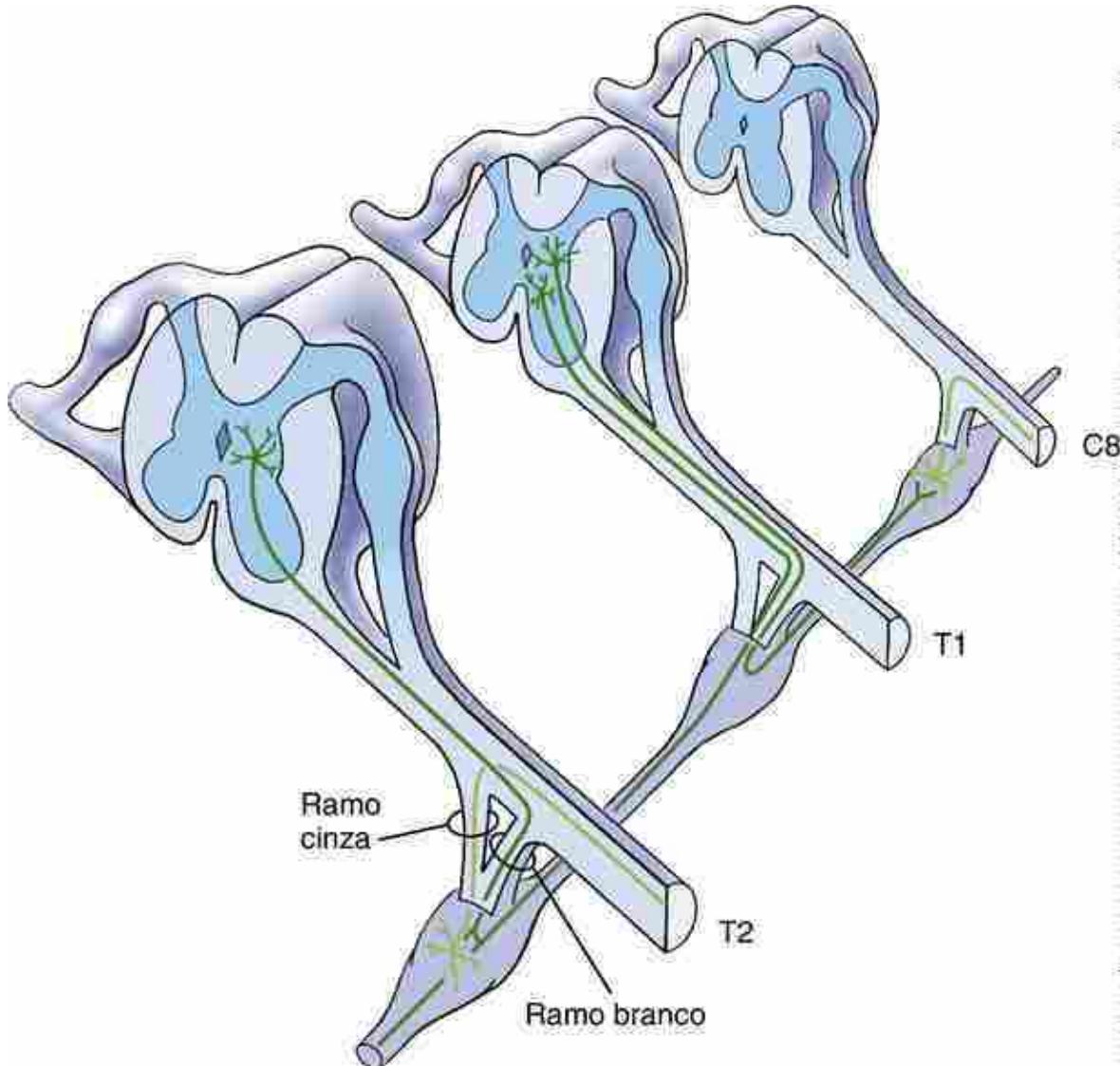


FIGURA 10-9 Fibras pré-ganglionares crescendo a partir da coluna celular intermediolateral podem fazer sinapse com um neurônio de uma cadeia ganglionar no seu nível, em nível inferior ou em nível superior. Este mecanismo provê ineração simpática a outros níveis espinhais além de T1-L2, que não possuem ramo branco (p. ex., C1-C8, L3 e L5, S1-S5 e o primeiro nervo coccígeo).

As fibras pós-ganglionares oriundas de cada cadeia ganglionar penetram o nervo espinal correspondente através do ramo cinza. Como resultado, os nervos espinhais nos níveis de T1 a L2 ou L3 apresentam ambos os ramos, branco e cinza, enquanto todos os demais nervos espinhais têm apenas o ramo cinza. Além disso, as fibras motoras que ligam as cadeias ganglionares entre si são exclusivamente fibras simpáticas pré-ganglionares.

Ineração Simpática de Órgãos do Tórax e Cabeça

O suprimento simpático para o coração se origina nos níveis medulares T1 a T4 (Fig. 10-10). Algumas das fibras de T1 sobem pelo tronco simpático fazendo sinapse em três cadeias ganglionares cervicais — o **gânglio cervical inferior** (que algumas vezes está fusionado ao gânglio em T1 formando o **gânglio estrelado**), o **gânglio cervical médio** e o **gânglio cervical superior**. Fibras pós-ganglionares provenientes desses gânglios se unem a fibras pós-ganglionares que emanam diretamente dos nervos T1 a T4 para formar os nervos cardíacos, que inervam o músculo cardíaco.

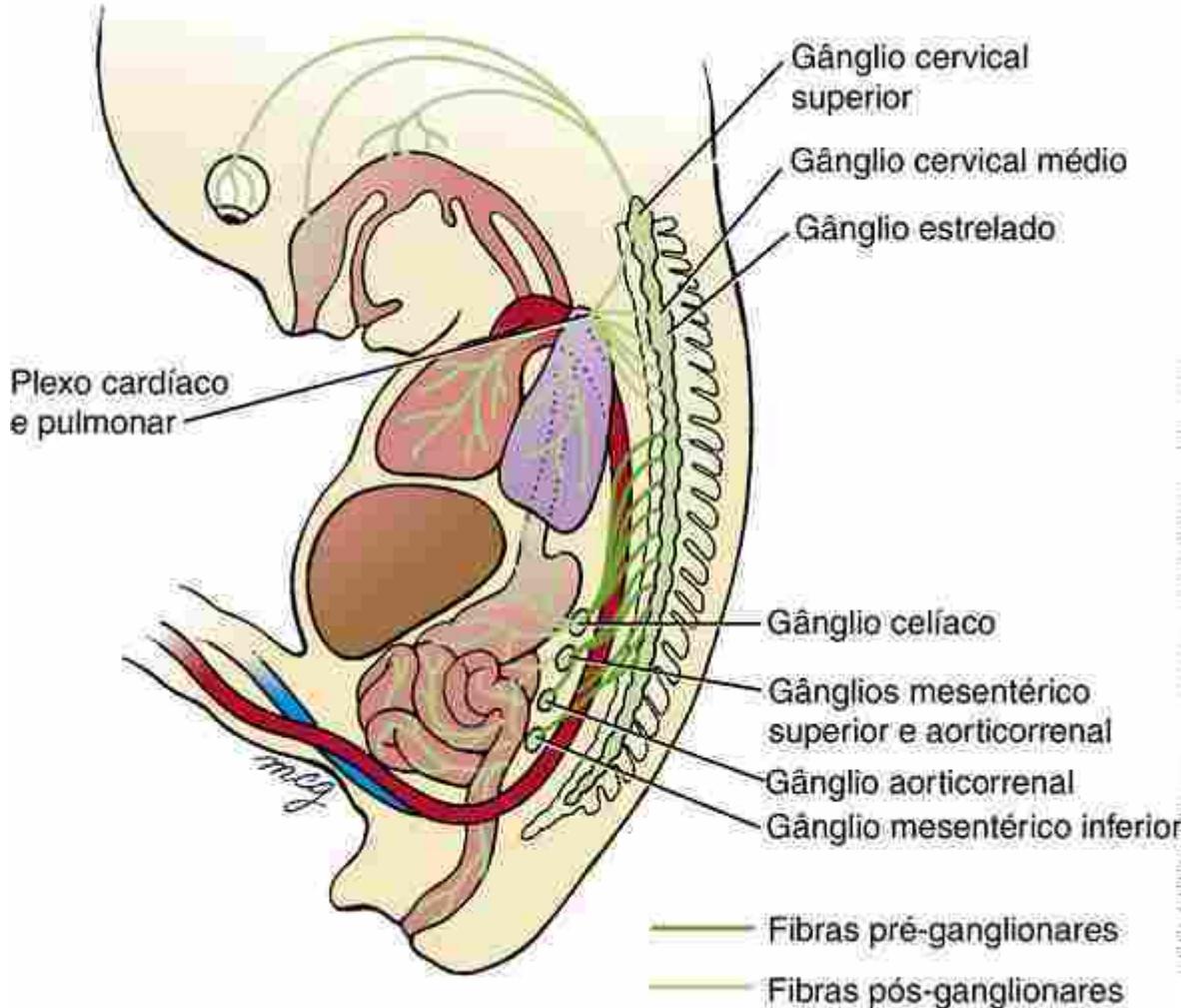


FIGURA 10-10 Algumas fibras simpáticas pós-ganglionares não se juntam aos nervos espinhos. As fibras pós-ganglionares que emanam das cadeias ganglionares cervicais e torácicas seguem os vasos sanguíneos até estruturas na cabeça e faringe, e ao coração e pulmões. Os nervos esplâncnicos são fibras pré-ganglionares que saem diretamente da cadeia ganglionar nos níveis de T5 a L2 para inervar neurônios nos gânglios celíacos, mesentéricos superiores, aorticorrenais e mesentéricos inferiores. As fibras pós-ganglionares advindas destes gânglios crescem com os vasos sanguíneos inervando seus órgãos terminais viscerais.

As fibras simpáticas pós-ganglionares que saem diretamente das cadeias ganglionares associadas aos níveis T1 a T4, ou dos gânglios cervicais inervados pelas fibras pré-ganglionares que se originaram nos níveis medulares T1 a T4, também inervam a traqueia e os pulmões.

Algumas fibras pós-ganglionares que surgem do gânglio cervical superior se projetam a várias estruturas na cabeça que recebem ineração simpática. Essas estruturas incluem as glândulas lacrimais, os músculos dilatadores das pupilas na íris e as mucosas nasal e oral.

Inervação Simpática do Abdome

As fibras simpáticas pré-ganglionares destinadas a suprir o intestino surgem dos níveis T5 a L2 ou L3 e penetram as cadeias ganglionares correspondentes. Entretanto, ao invés de formarem sinapses naquela região, elas imediatamente deixam o tronco simpático pela cadeia ganglionar (Fig. 10-10). Os nervos esplâncnicos inervam vários gânglios pré-vertebrais (ou pré-aórticos) que, em suma, emitem fibras pós-ganglionares para os órgãos terminais viscerais. O padrão de distribuição é o seguinte:

Fibras dos níveis T5 a T9 ou T10 se unem para formar os nervos esplâncnicos maiores, que suprem os gânglios celíacos.

Fibras de T10 e T11 formam os nervos esplâncnicos menores, que suprem os gânglios do plexo mesentérico superior e aorticorrenais.

Fibras exclusivamente de T12 formam o nervo esplâncnico imo (ou nervo esplâncnico inferior), que supre o plexo renal.

Fibras de L1 e L2 formam os nervos esplâncnicos lombares, que suprem os gânglios do plexo mesentérico inferior.

Os gânglios pré-vertebrais (ou pré-aórticos) se desenvolvem próximo aos maiores ramos da aorta descendente

(p. ex., as artérias celíaca, mesentérica superior e mesentérica inferior, abordadas no Cap. 13, e em relação às regiões do intestino no Cap. 14). Os axônios simpáticos pós-ganglionares dos gânglios pré-vertebrais crescem ao longo dessas artérias e, por isso, inervam os mesmos tecidos que as artérias suprem com sangue (Fig. 10-10). Além disso, as fibras pós-ganglionares dos gânglios celíacos inervam a porção distal do intestino anterior vascularizada pela artéria celíaca — que é a porção anterior do intestino a partir do esôfago abdominal, passando pelo duodeno até a papila duodenal maior. De forma semelhante, fibras provenientes dos gânglios mesentéricos superiores inervam o **intestino médio** (o remanescente do duodeno, o jejuno e o íleo), além do colo ascendente e cerca de dois terços do colo transverso. Os gânglios aorticorrenais inervam o rim, e a glândula suprarrenal e os gânglios mesentéricos inferiores inervam o intestino posterior, incluindo o terço distal do colo transverso, os colos descendente e sigmoide e os dois terços superiores do canal anorrectal.

Inervação Parassimpática do Abdome Inferior, Pelve e Períneo

As fibras parassimpáticas pré-ganglionares que surgem da medula espinhal sacral emergem do ramo ventral da medula e se unem formando os **nervos esplâncnicos pélvicos**. Estes nervos se ramificam pela pelve e abdome inferior, inervando os gânglios situados nas paredes dos colos descendentes e sigmoide, reto, ureter, próstata, bexiga, uretra e pênis. As fibras pós-ganglionares desses gânglios inervam a musculatura lisa ou glândulas nos órgãos alvo (Fig. 10-11).

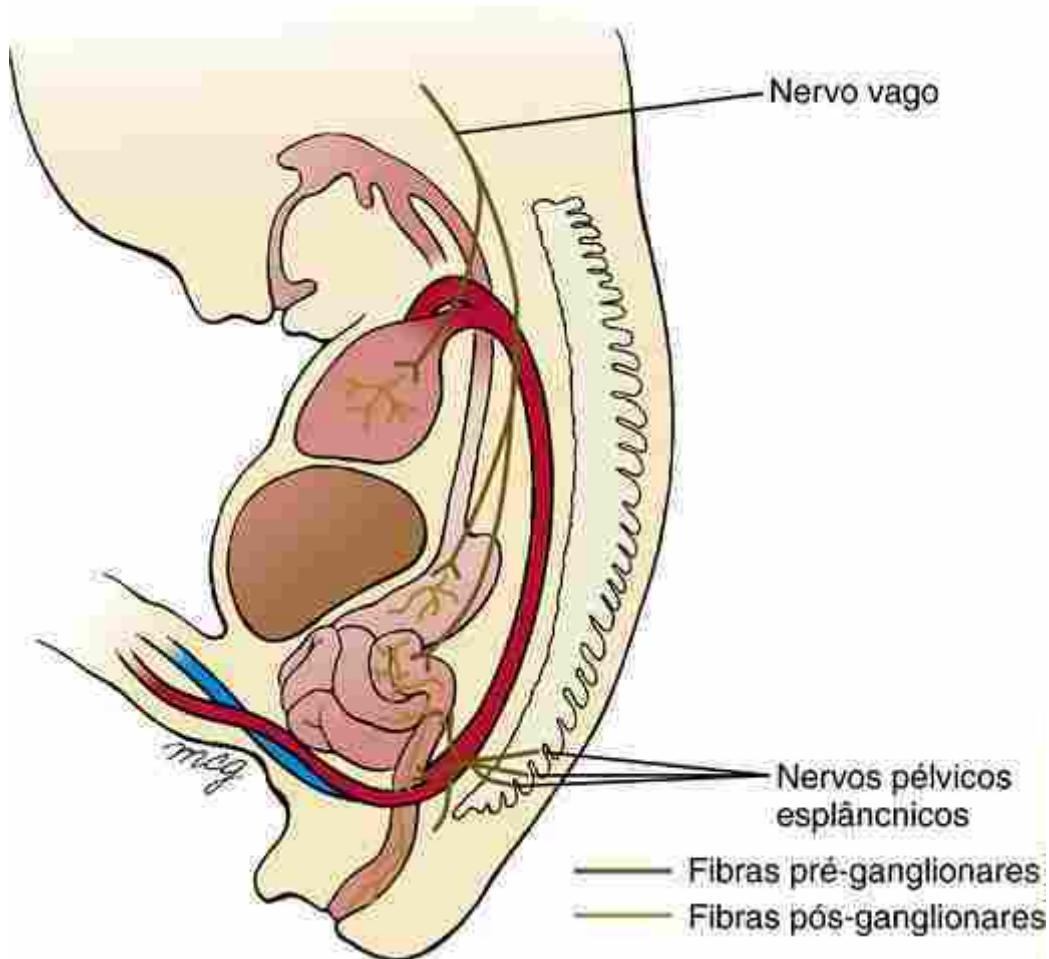


FIGURA 10-11 O nervo vago e o nervo esplâncnico pélvico provedem inervação pré-ganglionar parassimpática para gânglios localizados na parede dos órgãos viscerais. As fibras pré-ganglionares se originam na medula nos níveis de S2 a S4 e deixam a medula nestes níveis, ramificando-se nos nervos esplâncnicos pélvicos. Estes inervam os gânglios parassimpáticos das vísceras-alvo. As fibras pós-ganglionares parassimpáticas são relativamente curtas.

No Laboratório de Pesquisa

Padrão de migração das células precursoras simpáticas e gânglios simpáticos

Células da crista neural que migram ventralmente dessa região do tronco formam duas populações funcionalmente distintas: gânglios da raiz dorsal e gânglios simpáticos. Mas como esta escolha de diferenciação ocorre? Experimentos sofisticados com linhagem celular e imagem em tempo real utilizando galinhas, combinados com estudos de desregulação da expressão gênica, revelaram que um subgrupo das células migratórias da crista neural expressa o receptor de quimiocina Cxcr4. Quimiocinas são uma família de pequenas proteínas que foram nomeadas pela sua habilidade em induzir quimiotaxia em células vizinhas que apresentam receptores de quimiocinas. Muitas quimiocinas são pró-inflamatórias e atuam recrutando células para sítios de infecção pós-natal. Contudo, as quimiocinas e seus receptores também desempenham um papel no desenvolvimento. No caso de células da crista neural, o subgrupo que expressa Cxcr4 forma o núcleo dos gânglios simpáticos, e essas células são direcionadas diretamente para essa região, adjacente à aorta dorsal em desenvolvimento, durante sua migração pelo ligante de Cxcr4, o fator 1 derivado do estroma (Sdf-1), que é uma citocina que atua como um quimioatrativo. Além disso, duas populações são selecionadas dentre as células migratórias da crista neural do tronco: aquelas que expressam Cxcr4, que são atraídas para o sítio de formação dos gânglios simpáticos, e aquelas que não expressam Cxcr4, que param de migrar em uma posição mais dorsal e coalescem como os gânglios da raiz dorsal.

Uma vez que as células da crista neural populam o nível de formação dos gânglios simpáticos, elas formam um grupo contínuo de células; ainda no adulto, os gânglios simpáticos estão segregados em grupos de células distintos. Como este padrão ocorre? Experimentos semelhantes aos já descritos fornecem a resposta: as células estão dispersas em ilhas distribuídas ao longo do eixo craniocaudal pela interação inibitória entre células que expressam Ephs, outras que expressam efrinas, e aquelas, no interior das ilhas, que estabelecem contatos celulares adesivos entre si, mediadas pelas moléculas de adesão celular N-caderina. Essas interações estabelecem a morfologia característica do gânglio da cadeia simpática.

Uma vez que as células precursoras simpáticas alcançam seu destino, lateral à aorta em desenvolvimento, elas ainda devem passar por diferenciação para o tipo correto de neurônio para funcionar devidamente. Como mencionado há pouco, essas células contribuem para a formação do gânglio da cadeia simpática. Além disso, algumas dessas células contribuem para a formação da medula da glândula adrenal, outro componente do sistema nervoso simpático. Como essas linhagens neuronais distintas são geradas? Experimentos, novamente utilizando embriões de galinha, revelaram a resposta. São necessárias proteínas morfogenéticas do osso (Bmps), produzidas pela aorta dorsal, para a produção da citocina quimioatraente Sdf-1 (descrita anteriormente) e da neuregulina 1 (membro da família dos fatores de crescimento de epiderme; abordados no [Cap. 5](#)), que também atua como quimioatraente; esses dois quimioatraentes direcionam as células da crista neural para suas posições finais adjacentes à aorta dorsal (veja na seção anterior), confirmando e expandindo nosso entendimento desse processo.

Em estágios avançados de desenvolvimento, as Bmps produzidas pela aorta dorsal exercem um outro papel para a especificação celular: elas agem segregando células do gânglio simpático das células medulares adrenais. Uma vez que as células precursoras da cadeia simpática alcançam o nível dorsal da aorta, elas se tornam refratárias à sinalização Bmp, embora as células precursoras da medular adrenal ainda mantenham sua resposta. Em um grupo de experimentos aprimorados utilizando tetraciclina (expressão gênica controlada por tetraciclina) para regular temporariamente a habilidade das células precursoras em responder à sinalização por Bmp, foi demonstrado que a sinalização Bmp foi essencial na formação das células medulares adrenais, mas a extinção da sinalização Bmp foi essencial para a formação das células ganglionares da cadeia simpática.

Finalmente, como os neurônios simpáticos conduzem seus axônios a grandes distâncias até atingirem o local correto? Estudantes de anatomia sabem que nervos, artérias, veias e linfáticos frequentemente viajam juntos como um feixe vasculonervoso. Assim, não é de surpreender que os fatores produzidos pelos vasos sanguíneos exerçam um papel na orientação axonal. As endotelinas são um desses fatores. As endotelinas são proteínas produzidas pelos vasos sanguíneos que têm um papel no controle da pressão sanguínea pela constrição dos vasos sanguíneos. Elas sinalizam através de receptores para endotelina. Experimentos que utilizaram camundongos mutantes demonstraram que a endotelina 3 atua pelo receptor de endotelina A, guiando um subgrupo de neurônios simpáticos ao seu alvo intermediário preferido, a artéria carótida externa.

A Regulação da Orientação Axonal no SNP

Como já mencionado para os neurônios ganglionares da cadeia simpática, neurônios sensitivos e motoneurônios do cérebro e da medula espinal se tornam interconectados em padrões funcionais, e os axônios crescem a partir do SNC e dos gânglios periféricos para inervar os **órgãos-alvo terminais** no corpo. Axônios periféricos viajam para suas estruturas-alvo, assim como fazem no interior do SNC ([Cap. 9](#)) — ou seja, por locomoção ativa de uma estrutura apical denominada **cone de crescimento** ([Figs. 10-12](#) e [9-16](#)). O cone de crescimento guia o axônio por sua trajetória correta até seu destino pela detecção e integração de várias pistas moleculares tanto no caminho do axônio quanto ao redor dele. Esta atividade do cone de crescimento é denominada **pathfinding**. Quando o cone de crescimento atinge seu alvo, ele para e forma uma sinapse. Fibras motoras somáticas e sensitivas fazem sinapse diretamente com seus órgãos-alvo. Diferentemente, axônios dos neurônios autônomos centrais chegam aos

gânglios autônomos periféricos, onde fazem sinapse com neurônios periféricos da via autônoma bineuronal.

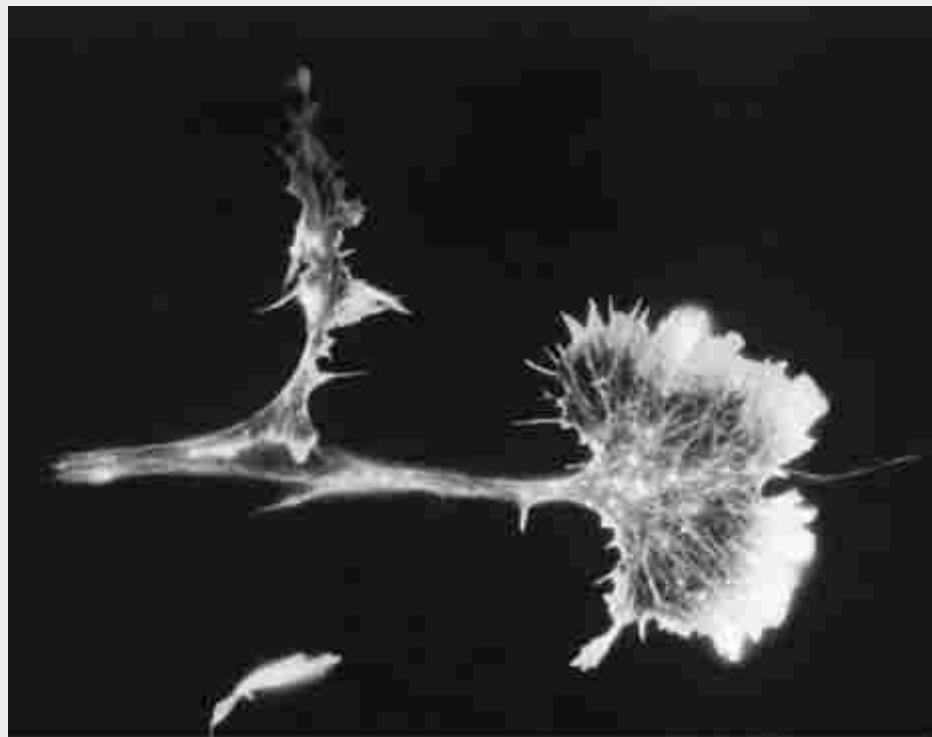


FIGURA 10-12 Cone de crescimento axonal. O corpo celular do nervo foi removido, mas estaria à esquerda. Os filamentos de actina no cone de crescimento (à direita da ilustração) estão corados com fálicoína marcada com rodamina. A rodamina é uma molécula fluorescente e a fálicoína (a toxina do fungo verde venenoso *Amanita phalloides*) se liga fortemente aos filamentos de actina.

O processo de *pathfinding* neuronal é orquestrado por uma interação complexa entre famílias de moléculas altamente conservadas de orientação atrativa e repulsiva, e dentre elas, as **ne trinas**, **Slits**, **semaforinas** e **efrinas** são as mais bem compreendidas. As ne trinas podem guiar axônios a partir de distâncias de alguns poucos milímetros, embora, em alguns casos, elas atuem apenas em uma distância reduzida. As ne trinas sinalizam através das proteínas transmembrana Unc5 e Unc40. Este último pertence à família de genes Dcc (deletados no carcinoma colorretal). As Slits são proteínas secretadas de grande tamanho que podem atuar como repelentes e que sinalizam pela família de receptores *roundabout* (Robo). Em mamíferos, estão presentes três genes Slit e quatro Robo. Pelo fato de Slit1 e Slit2 serem expressos em células que cercam o quiasma óptico, surgiu a hipótese de que as Slits criariam uma barreira repulsiva e um corredor para guiar os axônios da retina até o quiasma (Cap. 9). As semaforinas são uma grande família de moléculas-guia de superfície celular e secretadas (até o momento, mais de 30 foram descritas), definidas pela presença do domínio conservado “sema”. Elas sinalizam pela família de receptores de neurofilina que, por outro lado, ligam-se a uma segunda família de receptores denominados **plexinas**. Estima-se que a semaforina atue promovendo inibição a curta distância que repele os cones de crescimento de áreas inapropriadas ou os guia por corredores de repulsão. De forma contrária, em certos axônios, as semaforinas podem agir como atraentes. As efrinas formam uma família de receptores que atuam principalmente como repelentes. Ligantes de efrina-A no colículo superior e receptores EphA na retina, respectivamente, formam gradientes complementares direcionando topograficamente para as conexões corretas (Cap. 9). Ocorrem tanto sinalização “anterógrada”, sinalizando a partir do ligante para o receptor, quanto “retrograda”, sinalizando a partir dos receptores Eph para seus ligantes de membrana. A habilidade de mediar tanto atração quanto repulsão é comum entre as moléculas de orientação.

Há alguns anos, a visão prevalente era a de que a atividade neuronal atuaria apenas durante as fases terminais da seleção do alvo. Esta noção agora tem sido desafiada pela evidência de **episódios precoces de atividade elétrica rítmica espontânea** na medula espinal embrionária que depende de correntes excitatórias mediadas por GABA (p. ex., correntes que resultam da liberação do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico) e aparentemente é necessária para que os axônios motores naveguem corretamente aos seus alvos periféricos. A inibição desta atividade precoce com picrotoxina perturba a orientação axonal, causando uma acentuada redução na expressão da forma polisialilada da molécula de adesão celular neuronal (Psa-Ncam) e EphA4. Esses resultados intrigantes sugerem que a atividade neuronal precoce contribui para o *pathfinding* neuronal pela regulação de Psa-Ncam e

expressão de molécula-guia nos axônios motores.

Uma nova hipótese para o *pathfinding* neuronal sugere um papel na morfogênese, incluindo as famílias de proteínas **hedgehog**, **Wnt** e **Bmp**. Essas evidências são provenientes de explantes ventrais de medula espinal deficientes em retrina expostos a uma fonte local de *sonic hedgehog* (Shh). O Shh atraiu o cone de crescimento. Este evento pode ser evitado pelo bloqueio do transdutor *hedgehog smoothened*. Em contrapartida, a Bmp repele as fibras comissurais na medula espinhal dorsal. Camundongos *knock-out* para o receptor Wnt frizzled3 mostram trajetórias aberrantes dos neurônios comissurais. Estes morfógenos têm uma característica de atração desejável na estimulação da orientação axonal: eles formam gradientes na medula espinal. A Bmp, que inicialmente apresentava um papel de promover a dorsalização, forma um gradiente dorsoventral; Shh, que tem atividade ventralizadora, forma um gradiente ventrodorsal; e Wnt4 forma um gradiente rostrocaudal na região longitudinal ventral, não pareada, do tubo neural (placa do assoalho). Embora esses resultados sejam animadores, muitas questões ainda permanecem. Ainda não se sabe como essas moléculas sinalizam ao citoesqueleto para direcionar o crescimento axonal e não ao núcleo para determinar o destino da célula.

Estima-se que as moléculas-guia e a atividade elétrica neuronal converjam em uma alteração da homeostase do cálcio no interior do cone de crescimento, regulando seu crescimento. Áreas de concentração de cálcio livre intracelular foram encontradas próximo à fonte de fator de orientação. A amplitude do sinal de cálcio parece ordenar a função do fator de orientação. Por exemplo, tratamentos que reduzem os sinais de cálcio convertem neutrina-1 de uma condição de atração para uma condição de repulsão. Além disso, estima-se que um gradiente de cálcio livre intracelular através do cone de crescimento medeie mudanças de orientação, com sinais de cálcio de alta amplitude mediando atração e sinais de baixa amplitude mediando repulsão. A sinalização de cálcio, em resumo, atuará no citoesqueleto do cone de crescimento pela estabilização dos microtúbulos que se estendem e retraem dinamicamente, que crescem preferencialmente ao longo dos filamentos de actina dos filopódios. Por consequência, a extensão assimétrica dos feixes estabilizados de microtúbulos no interior do filopódio faz com que o cone de crescimento vire em uma nova direção.

Embora muitos dos mecanismos discutidos nesta sessão tenham sido elucidados no SNC, vários deles provavelmente são os mesmos para o SNP. Em suma, a informação atualmente disponível aponta para a existência de um complexo sistema de estimuladores de curta e longa distâncias, cujas concentrações relativas são ainda mais importantes para a orientação posicional do que as concentrações absolutas.

Nem todos os axônios necessitam navegar por vias de forma independente. É provável que o primeiro (o “pioneiro”) cone de crescimento, ao atravessar uma rota, estabeleça um caminho, que é utilizado por axônios que crescem mais tarde. Esses mecanismos contariam para a formação dos nervos, na qual vários axônios trafegam juntos. O fenômeno do *pathfinding* axonal é uma área bastante ativa de pesquisa, com implicações óbvias ao processo de regeneração nervosa após lesão em crianças e adultos.

O desenvolvimento do SNP cranial

O SNP cranial é formado por nervos cranianos e gânglios, bem como nervos autônomos (parassimpáticos) e gânglios. Os nervos parassimpáticos se juntam nos nervos cranianos na cabeça e nos nervos espinhais sacrais no tronco caudal para atingir seus gânglios. Os que surgem dos nervos espinhais sacrais foram discutidos anteriormente neste capítulo. O desenvolvimento dos nervos cranianos (e gânglios) e o desenvolvimento dos nervos parassimpáticos cranianos são considerados em conjunto.

Desenvolvimento dos nervos cranianos e sensitivos e dos gânglios parassimpáticos

As vias de neurônios periféricos dos nervos cranianos sensitivos e parassimpáticos estão abrigadas em gânglios encontrados fora do SNC. A divisão cranial parassimpática consiste em vias bineuronais: o neurônio central de cada via reside em um núcleo periférico, no qual o neurônio periférico reside em um gânglio localizado na cabeça ou pescoço. Os gânglios cranianos sensitivo (afferente) e parassimpático (eferente visceral) ([Tabela 10-1](#), [Fig. 10-13](#)) aparecem durante o fim da 4^a semana e o início da 5^a semana. O gânglio craniano do nervo sensitivo tem os corpos celulares dos neurônios sensitivos para os nervos cranianos correspondentes. Os gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos podem ser divididos em dois grupos: os gânglios associados ao nervo vago, que se encontram localizados na parede dos órgãos viscerais (p. ex., intestino, coração, pulmões e órgãos pélvicos), e os gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos III, VII e IX, que inervam estruturas da cabeça. A cabeça recebe ineração simpática oriunda dos nervos da cadeia ganglionar cervical.

Tabela 10-1**Origens dos neurônios nos gânglios dos nervos cranianos**

Nervo Craniano	Gânglio e Tipo	Origem dos Neurônios
Olfatório (I)	Epitélio olfatório (neurônios primários da via olfatória) (afferente especial)	Placoide nasal
Oculomotor (III)	Gânglio ciliar (eferente visceral)	Células da crista neural da porção caudal do diencéfalo e porção cranial do mesencéfalo
Trigêmeo (V)	Gânglio trigeminal (afferente geral)	Células da crista neural da porção caudal do diencéfalo e porção cranial do mesencéfalo; placoide trigeminal
Facial (VII)	Gânglio superior do nervo VII (afferente geral e especial)	Células da crista neural rombencefálicas; primeiro placoide epifaríngeo
	Gânglio inferior (geniculado) do nervo VII (afferente geral e especial)	Primeiro placoide epifaríngeo
	Gânglio esfenopalatino (eferente visceral)	Células da crista neural rombencefálicas
	Gânglio submandibular (eferente visceral)	Células da crista neural rombencefálicas
Vestibuloclear (VIII)	Gânglio acústico (coclear) (afferente especial)	Placoide ótico
	Gânglio vestibular (afferente especial)	Placoide ótico e contribuição de células da crista neural
Glossofaríngeo (IX)	Gânglio superior (afferente geral e especial)	Células da crista neural rombencefálicas
	Gânglio inferior (petroso) (afferente geral e especial)	Segundo placoide epifaríngeo
	Gânglio ótico (eferente visceral)	Células da crista neural rombencefálicas
Vago (X)	Gânglio superior (afferente geral)	Células da crista neural rombencefálicas
	Gânglio inferior (nodoso) (afferente geral e especial)	Terceiro e quarto placoides epifaríngeos
	Gânglio vagal parassimpático (enteral) (eferente visceral)	Células da crista neural rombencefálicas

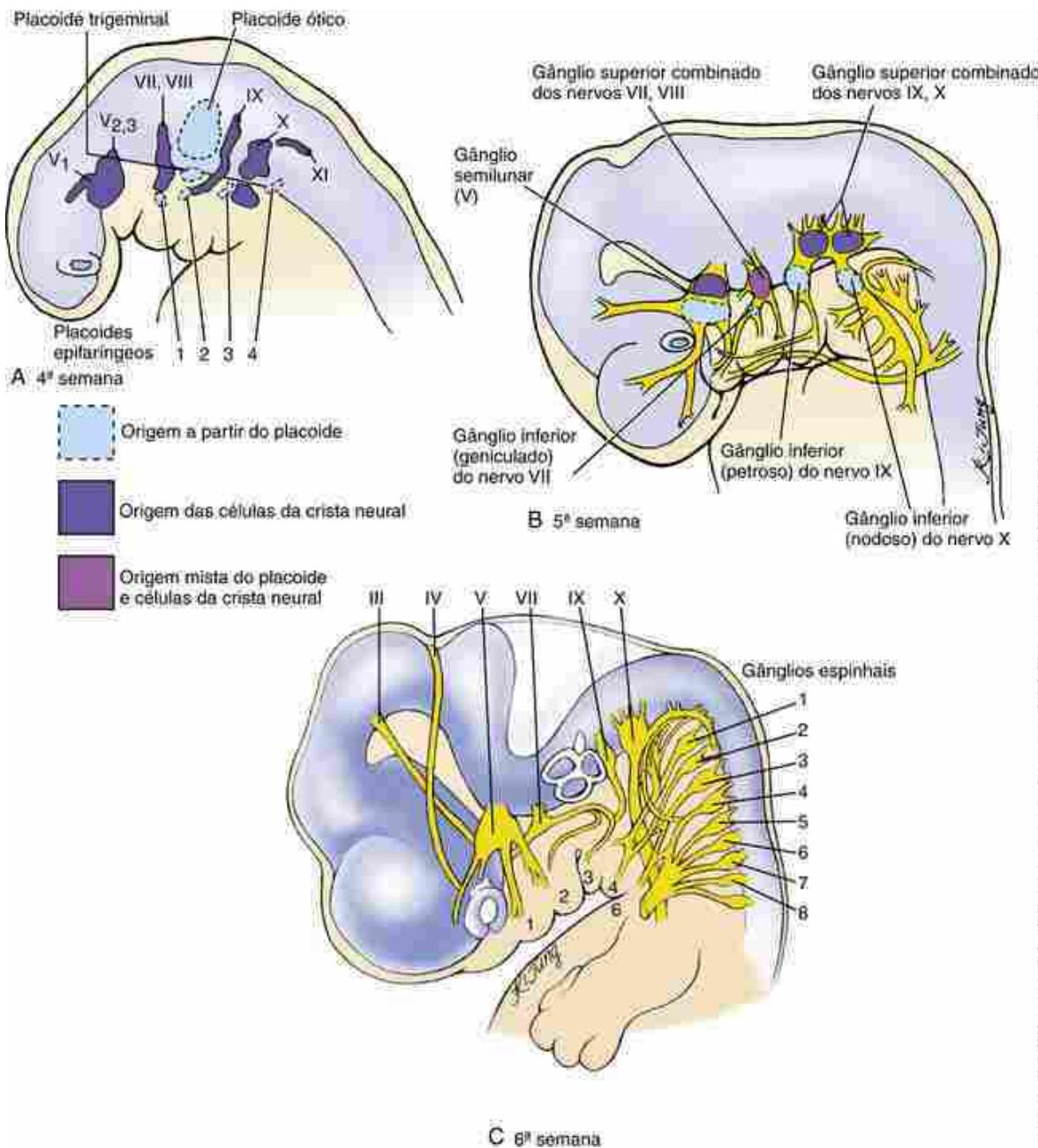


FIGURA 10-13 Desenvolvimento dos nervos cranianos e seus gânglios. **A, B**, Origem dos gânglios dos nervos cranianos a partir de células da crista neural e placoides ectodérmicos. Os gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos surgem exclusivamente das células da crista neural, enquanto os neurônios nos gânglios sensitivos dos nervos cranianos surgem a partir das células da crista neural ou células do placode. As células da glia de todos os nervos cranianos são derivadas das células da crista neural. **C**, O arranjo definitivo dos nervos cranianos se torna aparente na 6^a semana.

Origem dos Gânglios Sensitivos dos Nervos Cranianos

Experimentos que envolveram transplante de quimeras de codorna-galinha (Cap. 5) demonstraram que os neurônios dos gânglios sensitivos dos nervos cranianos têm duas origens (Figs. 10-13 e 4-21). Alguns são formados a partir das células da crista neural da mesma forma que os neurônios nos gânglios da raiz dorsal dos nervos espinhais e outros neurônios são derivados dos **placoides ectodérmicos**. Três destes placoides — placoides nasais, placoides do disco da retina (a camada mais interna e espessa das vesículas ópticas, também chamada retina neural) e placode ótico —, são abordados nos Capítulos 17 a 19. Além disso, quatro **placoides epifaríngeos** (também chamados **epibranquiais**) se desenvolvem como espessamentos do ectoderma dorsais às quatro fendas faríngeas, e um **placode trigeminal** mais difuso se desenvolve na área entre os placoides epifaríngeos e os placoides da lente. Os placoides epifaríngeos dão origem a precursores neuronais, iniciando no final da 4^a semana de gestação. Diferentemente dos neurônios dos gânglios sensitivos dos nervos cranianos, que podem surgir das células da crista neural ou dos placoides ectodérmicos, toda a glia nesses gânglios deriva das células da crista neural.

Os placoides nasais dão origem às células neurossensoriais primárias do epitélio olfatório, e os axônios destas células formam o nervo olfatório (I) que penetra o bulbo olfatório do telencéfalo. Com algumas exceções, os demais gânglios sensitivos dos nervos cranianos mostram uma estratificação regular no que tange à sua origem: os gânglios (ou porções dos gânglios) que estão mais próximos ao cérebro (p. ex., os chamados gânglios proximais) derivam das células da crista neural, enquanto os neurônios dos gânglios mais distantes do cérebro (p. ex., chamados gânglios distais) são formados por células derivadas dos placoides. Contudo, as células de suporte de todos os gânglios dos nervos sensitivos cranianos derivam das células da crista neural.

O **gânglio trigeminal (semilunar)** do V nervo craniano tem origem mista: a porção proximal surge a partir das células da crista neural diencefálicas e mesencefálicas, enquanto a maioria dos neurônios da porção distal se origina do placoide trigeminal difuso. Os gânglios sensitivos associados ao 2º, 3º, 4º e 6º arcos faríngeos derivam dos placoides epifaríngeos correspondentes e das células da crista neural. Cada um desses nervos apresenta um gânglio sensitivo proximal e distal. Em geral, a regra proximal e distal discutida no parágrafo anterior se aplica a esses gânglios. O **gânglio superior** combinado dos nervos IX e X é formado por células da crista neural rombencefálicas. Os neurônios do **gânglio inferior (petroso)** do nervo IX são derivados do segundo placoide epifaríngeo, e os do **gânglio inferior (nodoso)** do nervo X são derivados do 3º e 4º placoides epifaríngeos. O **gânglio superior combinado** dos nervos VII e VIII deriva do primeiro placoide epifaríngeo e das células da crista neural rombencefálicas, porém, os neurônios do **gânglio inferior (geniculado)** do nervo VII derivam exclusivamente do primeiro placoide epifaríngeo. Como mencionado no [Capítulo 18](#), os gânglios distais do nervo craniano VIII — o **gânglio vestibular** e o **gânglio coclear** — se diferenciam a partir do placoide ótico.

Origem dos Gânglios Parassimpáticos dos Nervos Cranianos

A origem das células da crista neural que forma os vários gânglios parassimpáticos dos nervos cranianos foi determinada em experimentos que utilizaram transplante em quimeras codorna-galinha ([Cap. 5](#)). Os neurônios e a glia em cada gânglio (e todo o gânglio) surgem a partir de células da crista neural localizadas quase no mesmo nível que os núcleos do tronco cerebral correspondente (compare as [Figs. 10-13 e 9-6; Fig. 4-21](#)). Especificamente, o **gânglio ciliar** do nervo oculomotor (III) é formado pelas células da crista neural que surgem da porção caudal do diencéfalo e da porção cranial do mesencéfalo; os **gânglios esfenopalatino e submandibular** do nervo facial (VII) são formados por células da crista neural que migram da porção cranial do rombencéfalo; e o **gânglio ótico** do nervo glossofaríngeo (IX) e gânglios entéricos servidos pelo nervo vago são derivados de células da crista neural originárias da porção caudal do rombencéfalo.

Diferenças no comprimento de fibras pré-ganglionares e pós-ganglionares entre as divisões parassimpática e simpática do sistema nervoso autônomo

Os gânglios parassimpáticos formam-se próximo aos órgãos que eles são destinados a inervar. Isso se contrapõe aos gânglios simpáticos, que se formam relativamente longe dos órgãos que eles são destinados a inervar. Além disso, de forma geral, as fibras pré-ganglionares da divisão parassimpática são relativamente longas e suas fibras pós-ganglionares são relativamente curtas, enquanto na divisão simpática a situação se inverte.

Os neurônios centrais (pré-ganglionares ou pré-sinápticos) das vias parassimpáticas bineuronais residem em um dos quatro núcleos motores no cérebro (associados aos nervos cranianos III, VII, IX e X) ou nas colunas de células intermediolaterais da medula sacral nos níveis de S2 a S4. Os núcleos cranianos suprem a cabeça e vísceras superiores até o intestino posterior, e os neurônios sacrais suprem as vísceras abaixo deste ponto ([Fig. 10-11](#)).

As fibras pré-ganglionares parassimpáticas associadas aos nervos cranianos III, VII e IX viajam para os gânglios parassimpáticos localizados próximo às estruturas a serem inervadas, onde elas formam sinapse com o segundo neurônio da via (pós-ganglionar ou pós-sináptico). Órgãos que recebem ineração parassimpática nesta via incluem os músculos dilatadores da pupila no olho, as glândulas lacrimais, glândulas salivares e glândulas da mucosa oral e nasal ([Cap. 17](#)). Em contrapartida, as fibras pré-ganglionares parassimpáticas associadas ao nervo craniano X se unem a fibras somáticas motoras e sensitivas formando o **nervo vago**. Alguns ramos do nervo vago servem a estruturas na cabeça e no pescoço, embora outras fibras parassimpáticas e sensitivas no interior do nervo continuem no tórax e abdome, onde as fibras parassimpáticas formam sinapse com neurônios pós-ganglionares em numerosos pequenos gânglios parassimpáticos situados nas paredes de órgãos-alvo, como o coração, fígado, córtex da suprarrenal, rim, gônadas e intestino. As fibras pré-ganglionares vagais, por isso, são muito longas, enquanto as fibras pós-ganglionares que penetram nos órgãos-alvo são muito curtas ([Fig. 10-11](#)).

Choro irregular

Ao nascimento de um garoto de termo, primeiro filho de um casal, a equipe de parto notou que o recém-nascido apresentava face assimétrica de choro. No mais, ele se apresentava saudável. Muito saudável por sinal, com quase 4 kg! Sua chegada turbulenta a este mundo requereu a utilização de instrumentos chamados “fórceps” ou o que seu pai, em alta voz, chamou naquela hora de “o pegador de salada”.

O recém-nascido foi examinado minuciosamente em busca de alterações, primeiro pela enfermeira e depois pelo médico. Eles prestaram atenção particular ao exame neurológico de sua cabeça e pescoço e concluíram que ele não possuía movimentos do lado direito da face, embora apresentasse os reflexos normais como o de sugar e reflexo do vômito. Ele também possui reflexo de Piper normal bilateralmente (no qual o recém-nascido vira e faz movimentos de sucção para o lado ao se esfregar a bochecha). Com base na deficiência motora com função sensitiva normal, eles concluíram que ele possuía paralisia do nervo facial (nervo craniano VII) e explicaram que ela teria sido provavelmente “adquirida durante o trabalho de parto complicado”.

Membros do corpo clínico observaram o garoto durante o seu 1º dia de vida e ficaram encorajados com o seu progresso. Apesar de um início difícil com a amamentação, ele conseguiu se alimentar normalmente após a orientação de um especialista em amamentação. Ele também passou no teste de acuidade auditiva (descartando o envolvimento do nervo craniano VIII), e a família foi informada de que não havia mais necessidade de investigações.

A paralisia do nervo facial descoberta ao nascimento tem incidência de 1,8 para cada 1.000 nascimentos. Cerca de 90% das vezes o problema é adquirido e está fortemente associado à utilização de fórceps no parto, primiparidade e peso de nascimento acima de 3.500 gramas. Estima-se que a paralisia do nervo facial induzida por fórceps seja devida à compressão do nervo no forame estilomastóideo ou pela pressão sobre o osso que se sobrepõe ao canal facial. A evolução da paralisia adquirida do nervo facial tem sido descrita como favorável. Era esperado que o paciente descrito aqui se recuperasse totalmente em 1 a 2 meses sem nenhum tratamento.

No diagnóstico diferencial da paralisia traumática do nervo facial estão anomalias de desenvolvimento. Pacientes com múltiplas paralises, geralmente bilaterais, com face sem expressão são agrupados na chamada **síndrome de Möbius**. Pacientes com a **síndrome CHARGE** também podem apresentar múltiplas anormalidades dos nervos cranianos, inclusive paralisia do nervo VII. Uma causa não neurológica de assimetria facial é a anomalia de Cayler, que é causada pela hipoplasia do músculo depressor do ângulo da boca e resulta em assimetria facial apenas ao chorar. Esta patologia pode estar associada à síndrome de deleção de 22q11, de mais difícil diagnóstico, e deve alertar o clínico para avaliar o recém-nascido com mais cautela.

Leituras sugeridas

- Bovolenta, P., Rodriguez, J., Esteve, P. Frizzled/Ryk mediated signalling in axon guidance. *Development*. 2006; 133:4399–4408.
- Gelfand, M. V., Hong, S., Gu, C. Guidance from above: common cues direct distinct signaling outcomes in vascular and neural patterning. *Trends Cell Biol*. 2009; 19:99–110.
- Kasemeier-Kulesa, J. C., McLennan, R., Romine, M. H., et al. CXCR4 controls ventral migration of sympathetic precursor cells. *J Neurosci*. 2010; 30:13078–13088.
- Lowery, L. A., Van Vactor, D. The trip of the tip: understanding the growth cone machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009; 10:332–343.
- Round, J., Stein, E. Netrin signaling leading to directed growth cone steering. *Curr Opin Neurobiol*. 2007; 17:15–21.
- Saito, D., Takase, Y., Murai, H., Takahashi, Y. The dorsal aorta initiates a molecular cascade that instructs sympatho-adrenal specification. *Science*. 2012; 336:1578–1581.
- Takeichi, M. The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8:11–20.
- Zou, Y., Lyuksyutova, A. I. Morphogens as conserved axon guidance cues. *Curr Opin Neurobiol*. 2007; 17:22–28.

Desenvolvimento do Sistema Respiratório e das Cavidades Corporais

Resumo

Conforme visto no [Capítulo 4](#), logo após a formação dos três folhetos germinativos durante a gastrulação, o **dobramento do corpo** forma o intestino anterior – de derivação endodérmica – na extremidade cranial do embrião, delineando, deste modo, o tubo interno do **plano geral da estrutura corporal** como **um tubo dentro de outro tubo**. No 22º dia, o intestino anterior produz uma evaginação ventral denominada **divertículo respiratório** ou **brotamento pulmonar**, a qual é o primórdio dos pulmões. À medida que o brotamento pulmonar se desenvolve, ele permanece envolvido por uma cobertura derivada do mesoderma da esplancnopleura, a qual originará a vascularização pulmonar e dos tecidos conjuntivo, cartilaginoso e muscular da estrutura dos brônquios. Entre o 26º e o 28º dia, conforme o brotamento pulmonar se alonga, ele se bifurca nos **brotamentos bronquiais primários** esquerdo e direito, os quais darão origem aos dois pulmões. Na 5ª semana, uma segunda geração de ramificações produz três **brotamentos bronquiais secundários** no lado direito e dois no lado esquerdo. Esses são os primórdios dos futuros lobos pulmonares. Os brotamentos pulmonares e sua bainha de esplancnopleura continuam a crescer e a se bifurar, preenchendo gradualmente as cavidades pleurais. Por volta da 28ª semana, a 16ª etapa de ramificação gera os **bronquíolos terminais**, os quais subsequentemente se dividem em dois ou mais **bronquíolos respiratórios**. Em torno da 36ª semana, esses bronquíolos respiratórios se associam a capilares e passam a ser denominados **sacos terminais** ou **alvéolos primitivos**. Entre a 36ª semana e o nascimento, os alvéolos tornam-se maduros. Alvéolos adicionais continuam a ser produzidos durante toda a infância.

Durante a 4ª semana, formam-se partições para subdividir o celoma intraembrionário nas cavidades pericárdica, pleural e peritoneal. A primeira partição a se desenvolver é o **septo transverso**, uma cunha de mesoderma com formato semelhante a um bloco que forma uma estrutura ventral que divide parcialmente o celoma em uma **cavidade pericárdica primitiva** torácica e uma **cavidade peritoneal** abdominal. O dobramento cranial do corpo e o crescimento diferencial das regiões da cabeça e do pescoço em desenvolvimento deslocam esse bloco de mesoderma a partir da borda cranial do disco embrionário em direção caudal até a posição do futuro diafragma. Enquanto isso, formam-se as **membranas pleuropericárdicas** na cavidade pericárdica primitiva, a partir da parede lateral do corpo, as quais crescem medialmente para se fundir uma à outra e à superfície ventral do mesoderma do intestino anterior, consequentemente subdividindo a cavidade pericárdica primitiva em uma **cavidade pericárdica** definitiva e duas **cavidades pleurais**. Inicialmente, as cavidades pleurais se comunicam com a cavidade peritoneal através de um par de **canais pericardioperitoneais**, os quais passam dorsalmente ao septo transverso. Entretanto, um par de **membranas pleuroperitoneais** transversais se desenvolve ventralmente a partir da parede dorsal do corpo para se fundir ao septo transverso, fechando assim os canais pericardioperitoneais. Consequentemente, o septo transverso e as membranas pleuroperitoneais formam as partes principais do futuro diafragma.

Conforme abordado no [Capítulo 6](#), como resultado do dobramento, o âmnio, que inicialmente surge a partir da margem dorsal do ectoderma do disco embrionário, é transportado ventralmente para envolver todo o embrião, tomando como origem o **anel umbilical** que circunda as raízes do ducto vitelínico e o pedúnculo de conexão do embrião. O âmnio também se expande até preencher a cavidade coriônica e se funde ao córion. À medida que o âmnio se expande, ele envolve o pedúnculo do embrião e o colo do saco vitelínico em uma bainha de membrana amniótica. Essa estrutura composta se torna o **cordão umbilical**.

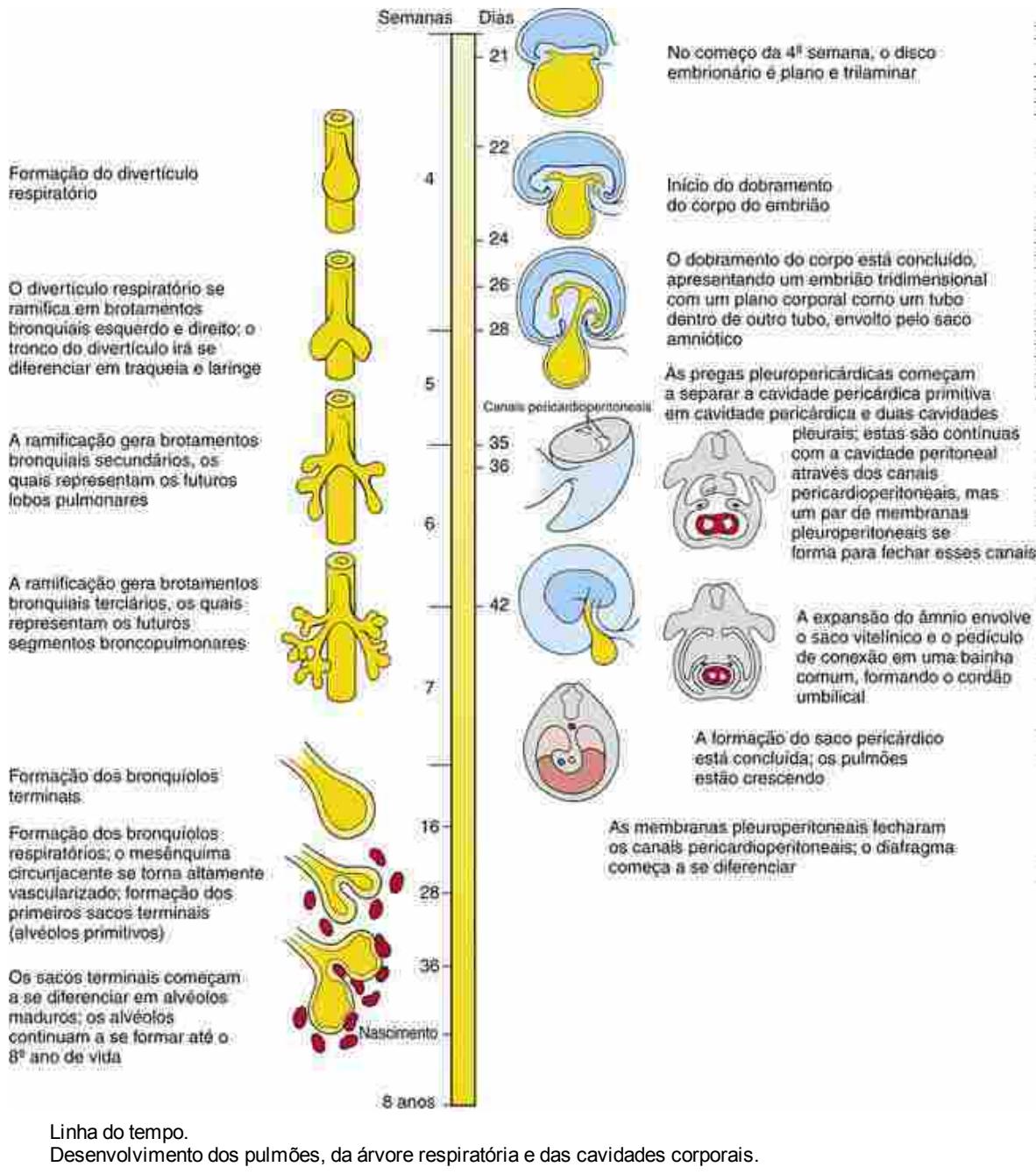
Caso Clínico

Um operário de construção de 18 anos se submete a uma cirurgia de reparação para corrigir uma fratura de

fêmur após ter caído de um telhado. A cirurgia e a evolução pós-operatória inicial ocorreram sem complicações. Entretanto, o paciente acamado sofre de uma prolongada falta de oxigênio pós-operatório, apesar de receber cuidados respiratórios adequados, incluindo o uso frequente de espirometria de incentivo (o paciente expira no interior deste aparelho para manter o volume pulmonar). Ele apresenta tosse e dispneia progressivas e, cinco noites após a cirurgia, surge febre alta. O residente de plantão solicita uma radiografia torácica, que mostra uma consolidação focal (área de parênquima pulmonar denso) no lobo inferior esquerdo, consistente com pneumonia bacteriana. É iniciado tratamento com antibióticos intravenosos e o paciente recebe terapia respiratória mais intensiva.

A família informa à equipe que o rapaz já teve pneumonia uma vez anteriormente e também apresentou vários casos de sinusite. Ele tem uma tosse crônica que foi diagnosticada como “asma”, mas que não é suficientemente intensa para impedi-lo de ser fisicamente ativo. Um dos irmãos mais velhos do paciente apresenta um problema respiratório semelhante, e foi constatado que ele é estéril.

O paciente melhora com os antibióticos e com a terapia respiratória. Depois de uma nova radiografia para monitoramento da pneumonia, o radiologista informa à equipe que ocorreu um erro durante a realização da radiografia torácica anterior. Aparentemente, o paciente tem *situs inversus*, e o técnico em radiologia da noite que fez a radiografia anterior rotulou erradamente o filme. O radiologista também observa alterações sutis nas bases dos campos pulmonares do paciente, consistentes com bronquiectasia (dilatação anormal e inflamação das vias aéreas associadas a bloqueio por muco), semelhante ao observado na **discinesia ciliar primária** (DCP) ou fibrose cística. A combinação de sinusite recorrente, bronquiectasia e *situs inversus* é consistente com o diagnóstico de **síndrome de Kartagener** (discussões adicionais sobre a síndrome de Kartagener são mostradas nos [Caps. 3 e 12](#)), uma variante de DCP. A síndrome de Kartagener é causada por mutações autossômicas recessivas no gene DNAH5 (*dynein axonemal heavy chain*, cadeia pesada da dineína do axonema). Mutações nesse gene acarretam **cílios imóveis** no trato respiratório, causando deficiência no transporte de muco e frequentes infecções. Como os cílios também estão envolvidos no deslocamento dos espermatozoides, os indivíduos do sexo masculino afetados se tornam estéreis. Durante o desenvolvimento embrionário, os cílios situados no nó primitivo são envolvidos na determinação do eixo esquerdo-direito (abordada no [Cap. 3](#)). A perda da função ciliar do nó primitivo na DCP causa randomização da lateralidade, e 50% dos indivíduos afetados apresentam *situs inversus*.



Desenvolvimento dos pulmões e da árvore respiratória

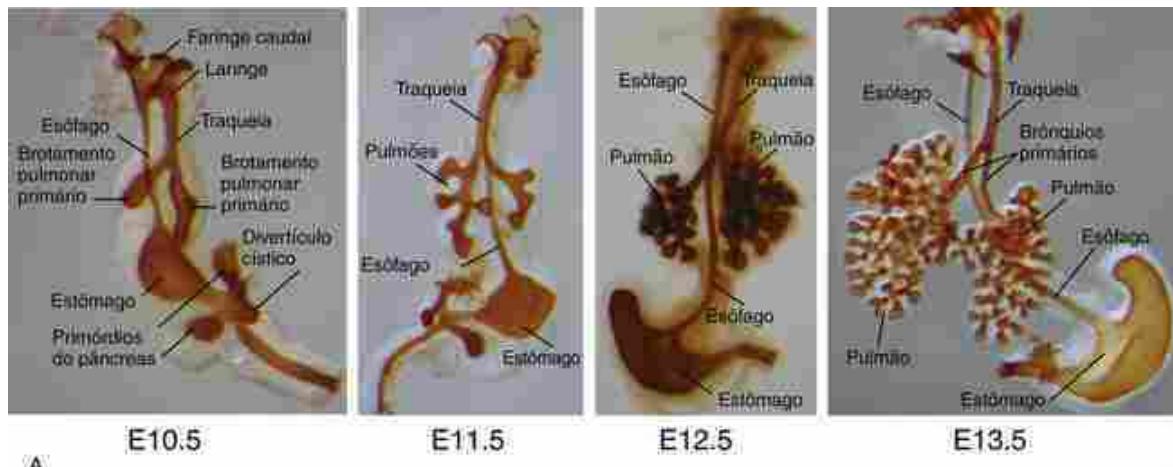
O esôfago, o estômago, a traqueia e os pulmões têm seus respectivos desenvolvimentos, a partir da região do intestino anterior, intimamente vinculados (Fig. 11-1A). Consequentemente, defeitos no desenvolvimento da região do intestino anterior envolvem tanto o nível craniano do sistema gastrointestinal quanto o sistema respiratório (consulte os Caps. 14 e 17, nos quais a região do intestino anterior é abordada com mais detalhes). O desenvolvimento dos pulmões é iniciado no 22º dia, com a formação de uma evaginação ventral do endoderma do intestino anterior denominada **divertículo respiratório** (Fig. 11-1B). Esse brotamento se desenvolve na direção ventrocaudal através do mesênquima adjacente ao intestino anterior e, entre o 26º e o 28º dia, sofre uma primeira bifurcação, dividindo-se em **brotamentos bronquiais (ou pulmonares) primários** direito e esquerdo. Esses brotamentos são os primórdios dos dois pulmões e dos **brônquios primários** direito e esquerdo, enquanto a extremidade proximal (tronco) do divertículo forma a **traqueia** e a **laringe**. A laringe se comunica com a faringe por meio da **glote**, uma passagem formada no ponto original de evaginação do divertículo. Durante a formação dos brotamentos bronquiais primários, o tronco do divertículo começa a se separar da porção sobrejacente da faringe, a qual se torna o **esôfago**. Entre a 5ª e a 12ª semana, os brotamentos bronquiais primários sofrem cerca de 16 etapas de ramificação para gerar a árvore respiratória dos pulmões. O padrão de ramificação do endoderma do pulmão é regulado pelo mesênquima circunjacente, o qual

envolve os brotamentos a partir do instante em que eles se formam. Os estágios de desenvolvimento dos pulmões estão resumidos na [Tabela 11-1](#).

Tabela 11-1

Estágios do desenvolvimento do pulmão humano

Estágio de desenvolvimento	Período	Eventos
Embrionário	26 dias à 6 ^a semana	O divertículo respiratório surge como uma evaginação ventral do endoderma do intestino anterior e sofre três séries iniciais de ramificação, produzindo sucessivamente os primórdios dos dois pulmões, os lobos pulmonares e os segmentos broncopulmonares; o tronco do divertículo forma a traqueia e a laringe
Pseudoglandular	6 ^a à 16 ^a semana	A árvore respiratória sofre 14 gerações adicionais de ramificação, resultando na formação dos bronquíolos terminais
Canalicular	16 ^a à 28 ^a semana	Cada bronquíolo terminal se divide em dois ou mais bronquíolos respiratórios. A vascularização respiratória começa a se desenvolver. Durante esse processo, os vasos sanguíneos se tornam intimamente justapostos ao epitélio pulmonar. O epitélio pulmonar também começa a se diferenciar em tipos celulares especializados (células ciliadas, secretoras e neuroendócrinas proximalmente e precursoras dos pneumócitos tipo II e I distalmente)
Sacular	28 ^a à 36 ^a semana	Os bronquíolos respiratórios se subdividem para produzir os sacos terminais (alvéolos primitivos). Os sacos terminais continuam a ser produzidos até boa parte da infância
Alveolar	36 ^a semana até o termo	Maturação dos alvéolos



A

E10.5

E11.5

E12.5

E13.5

B

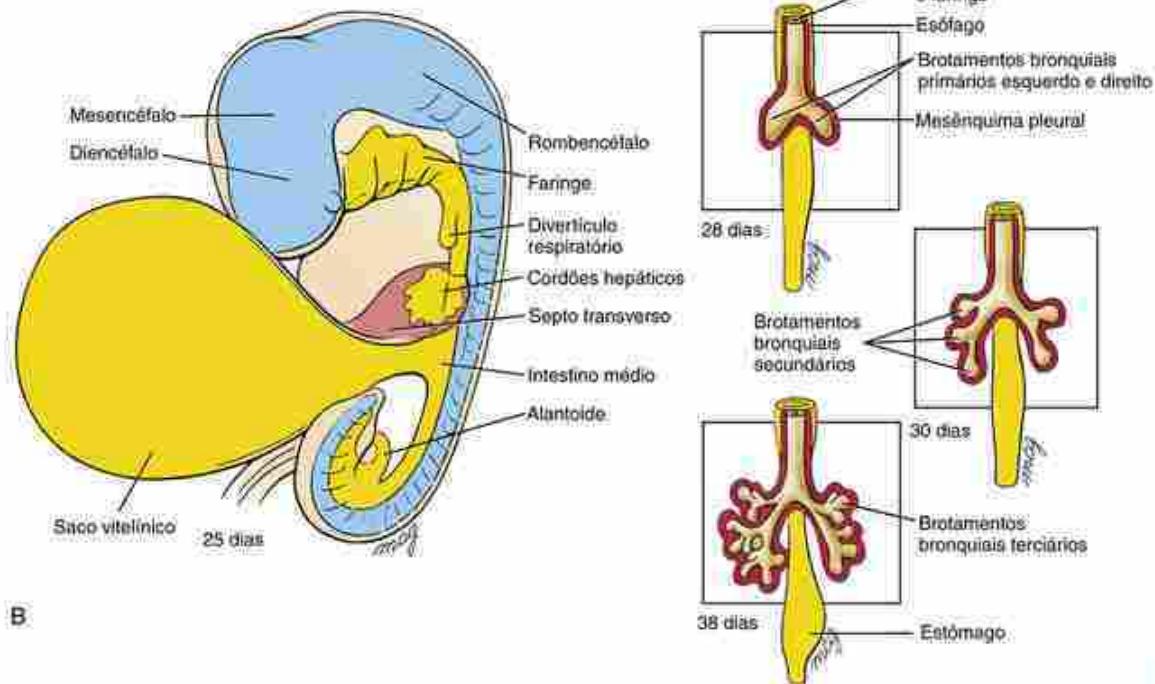


FIGURA 11-1 Desenvolvimento do divertículo respiratório. A, Quatro estágios do desenvolvimento do intestino anterior de camundongo mostrando as origens do esôfago, traqueia, pulmões e estômago. O epitélio do intestino anterior foi submetido a coloração com um anticorpo anti-E-caderina. O padrão de ramificação da árvore respiratória do camundongo difere do padrão dos seres humanos, que é descrito no texto. B, O divertículo respiratório se forma inicialmente como uma evaginação do intestino anterior no 22º dia e imediatamente se bifurca em brotamentos bronquiais primários entre o 26º e o 28º dia. No início da 5ª semana, o brotamento bronquial direito se ramifica em três brotamentos bronquiais secundários, enquanto o brotamento bronquial esquerdo se ramifica em dois. Até a 6ª semana, os brotamentos bronquiais secundários se ramificam em brotamentos bronquiais terciários (geralmente 10 de cada lado) para formar os segmentos broncopulmonares.

A primeira etapa de ramificação dos brotamentos bronquiais primários ocorre no início da 5^a semana (Fig. 11-1B). Essa etapa de ramificações é altamente estereotípica e produz três **brotamentos bronquiais secundários** no lado direito e dois no lado esquerdo. Os brotamentos bronquiais secundários dão origem aos **lobos pulmonares**: três no pulmão direito e dois no esquerdo. Durante a 6^a semana, uma etapa mais variável de ramificação normalmente produz 10 **brotamentos bronquiais terciários** a ambos os lados; estes se tornam os **segmentos broncopulmonares** do pulmão maduro.

Por volta da 16^a semana, depois de aproximadamente 14 ramificações adicionais, a árvore respiratória produz pequenos ramos denominados **bronquíolos terminais** (Fig. 11-2). Entre a 16^a e a 28^a semana, cada bronquíolo terminal se divide em dois ou mais **bronquíolos respiratórios** e o mesênquima circunjacente a essas estruturas se torna altamente vascularizado. Em torno da 28^a semana, os bronquíolos respiratórios começam a produzir uma geração final

de ramos abaulados. Esses ramos se desenvolvem em uma progressão craniocaudal, formando-se inicialmente nos bronquíolos terminais em localização mais cranial. Até a 36^a semana, os ramos terminais formados na primeira leva são envolvidos por uma densa rede de capilares e passam a ser denominados **sacos terminais (alvéolos primitivos)**. Nesse ponto, trocas gasosas limitadas são possíveis, mas os alvéolos ainda existem em quantidades muito pequenas e são tão imaturos que os bebês nascidos nesse momento podem morrer de insuficiência respiratória caso não recebam tratamento adequado (assunto tratado a seguir no quadro “Na Clínica” intitulado “Maturação dos Pulmões e Sobrevida de Bebês Prematuros”).

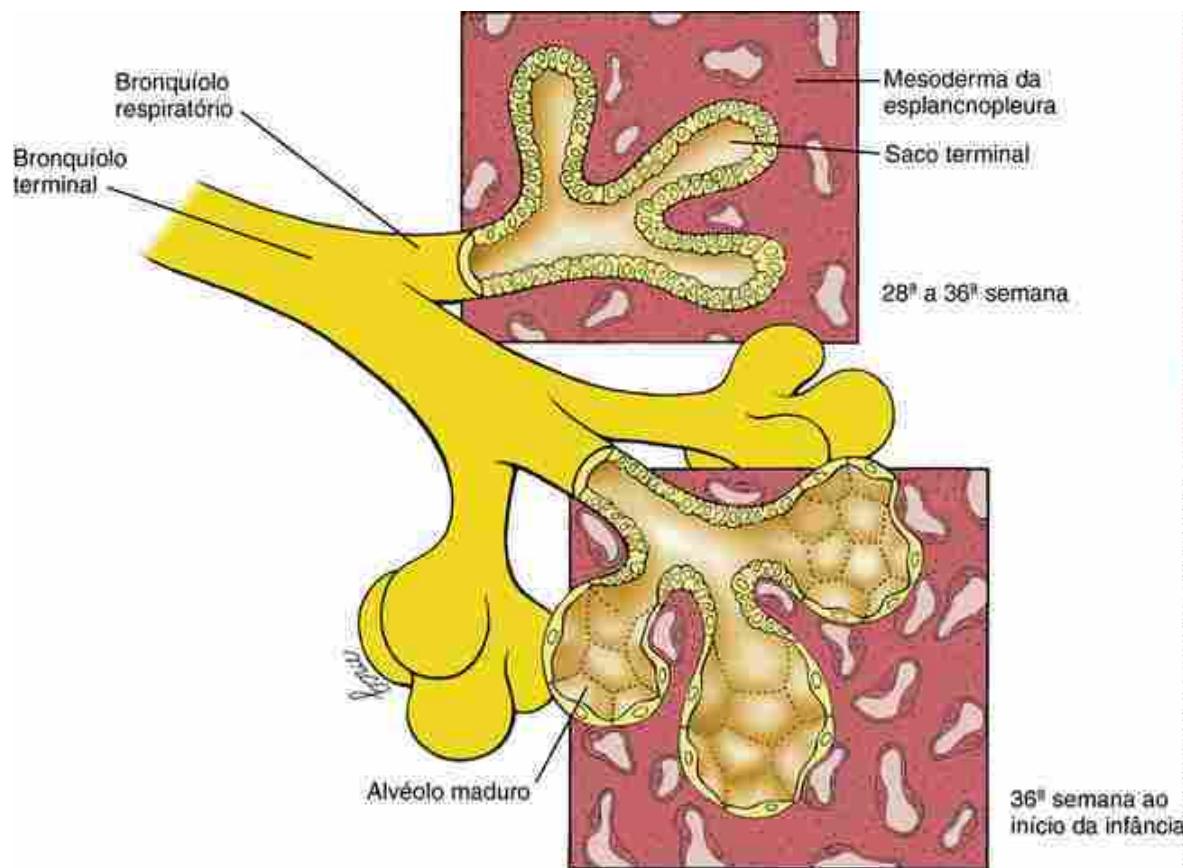


FIGURA 11-2 Maturação do parênquima pulmonar. Os sacos terminais (alvéolos primitivos) começam a se formar entre a 28^a e a 36^a semana e começam a maturar entre a 36^a semana e o nascimento. Contudo, somente 5% a 20% de todos os sacos terminais produzidos são formados antes do nascimento. A subsequente septação dos alvéolos não é mostrada.

Sacos terminais adicionais continuam a se formar e a se diferenciar em progressão craniocaudal tanto antes quanto depois do nascimento. O processo é essencialmente concluído em até 2 anos. Aproximadamente 20 a 70 milhões de sacos terminais são formados em cada pulmão antes do nascimento; o número total de alvéolos no pulmão maduro é de 300 a 400 milhões. O contínuo adelgaçamento do revestimento epitelial pavimentoso dos sacos terminais começa um pouco antes do nascimento, resultando na diferenciação desses alvéolos primitivos em alvéolos maduros.

Com frequência, o desenvolvimento do pulmão durante a vida fetal e pós-natal é subdividido em quatro fases. A **fase pseudoglandular** começa aproximadamente no início do 5º mês de gestação. Ela se caracteriza pela presença de brônquios terminais, os quais consistem em tubos de paredes espessas circundados por um mesenquima denso. A **fase canalicular** começa aproximadamente no início do 6º mês de gestação (Fig. 11-3A). Ela é caracterizada pelo adelgaçamento das paredes dos tubos à medida que os lumens dos brônquios aumentam. Durante a fase canalicular, o pulmão se torna altamente vascularizado. A **fase sacular** começa aproximadamente no início do 7º mês de gestação (Fig. 11-3B). Ela se caracteriza pelo adelgaçamento adicional dos tubos para formar numerosos sáculos revestidos por células alveolares (ou pneumócitos) dos tipos I e II (as primeiras formam a superfície para as trocas gasosas, e as segundas respondem aos danos sofridos pelas células do tipo I, dividindo-se e substituindo-as; conforme discutido no quadro “Na Clínica” intitulado “Maturação dos Pulmões e Sobrevida de Bebês Prematuros”, as células do tipo II são a fonte do surfactante pulmonar). A **fase alveolar** começa um pouco antes do nascimento, normalmente em torno do início do 9º mês de gestação, e prossegue na vida pós-natal (Fig. 11-3C). Ela se caracteriza pela formação de alvéolos maduros.

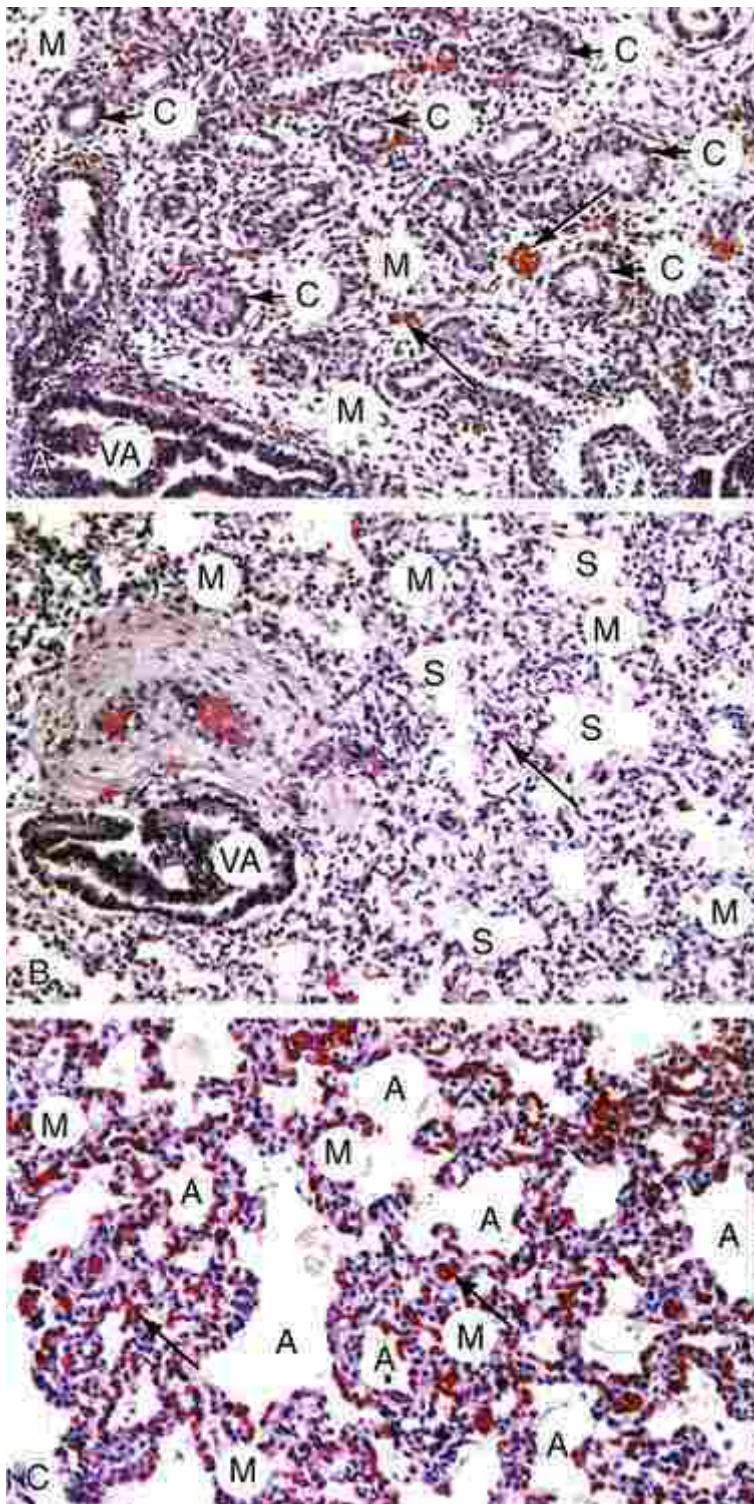


FIGURA 11-3 Estágios histológicos do desenvolvimento do pulmão humano normal. A, Estágio canalicular. B, Estágio sacular. C, Estágio alveolar. A, alvéolo; VA, via aérea; C, canalículo; M, mesênquima; S, sáculo; Setas, capilares.

Um importante processo de **septação**, o qual subdivide ainda mais os alvéolos, ocorre após o nascimento. Cada septo formado durante esse processo contém tecido muscular liso e capilares.

O pulmão é composto de tecidos de derivação endodérmica e mesodérmica. O endoderma do divertículo respiratório dá origem ao revestimento da mucosa dos brônquios, bronquiolos e às células epiteliais dos alvéolos. Os demais componentes do pulmão, incluindo a musculatura lisa e as peças cartilaginosas que sustentam os brônquios e a pleura visceral que recobre o pulmão, são originários do mesoderma da esplancnopleura, o qual recobre os brônquios à medida que eles crescem para fora a partir do mediastino em direção ao espaço pleural. Acredita-se que a vascularização pulmonar se desenvolva por angiogênese (ou seja, brotamentos a partir dos vasos adjacentes; a angiogênese é abordada no [Cap. 13](#)).

No Laboratório de Pesquisa

Indução dos pulmões e da árvore respiratória

Experimentos em embriões de camundongos revelaram que a indução da árvore respiratória requer a via de sinalização Wnt. Após a inativação da β -catenina no endoderma do intestino anterior ou em camundongos nulos para Wnt2/2b, o intestino anterior deixa de expressar o fator de transcrição Nkx2.1 (anteriormente denominado fator de transcrição da tireoide 1, Tif1) — o marcador mais precoce da árvore respiratória — e os pulmões não se formam. Por outro lado, o aumento da via de sinalização Wnt/ β -catenina leva à conversão do endoderma do esôfago e do estômago em endoderma pulmonar que expressa Nkx2.1. Em conjunto, essas experiências demonstram que a via de sinalização Wnt é suficiente e necessária para a formação da árvore respiratória, e que uma escolha é feita durante o desenvolvimento por meio de interações indutivas para converter o endoderma do intestino anterior em traqueia e pulmões ou em esôfago e estômago.

Na Clínica

Atresia esofágica e fistula traqueoesofágica

A **atresia esofágica** (AE; um esôfago com fundo cego) e a **fistula traqueoesofágica** (FTE; uma conexão anormal entre a traqueia e o lúmen do esôfago, resultante da separação incompleta do intestino anterior em traqueia e esôfago; também conhecida como **fistula esofagotraqueal**) geralmente ocorrem de forma simultânea, com incidência em 1 de cada 3.000 a 5.000 nascimentos ([Fig. 11-4](#)). No entanto, muitas variações dessas malformações são conhecidas, incluindo uma AE que se conecta à traqueia, formando uma FTE proximal (com ou sem uma FTE distal; esta última é ilustrada na [Fig. 11-4](#)), uma FTE isolada (ou seja, sem AE) e uma AE isolada (ou seja, sem FTE). Além disso, ambas as malformações podem estar associadas a outros defeitos (p. ex., atresia esofágica com malformações cardiovasculares, como a tetralogia de Fallot — discutida no [Cap. 12](#); fistula traqueoesofágica com a **síndrome (ou associação) de VATER ou VACTERL** — abordada no [Cap. 3](#)). Tanto a atresia esofágica quanto a fistula traqueoesofágica são perigosas para o recém-nascido, já que elas permitem que o leite ou outros líquidos sejam aspirados para o interior dos pulmões. Por isso, elas são corrigidas cirurgicamente no recém-nascido. Além de ameaçar a vida após o nascimento, a atresia esofágica exerce um efeito adverso sobre o ambiente intrauterino antes do nascimento: o esôfago em fundo cego impede que o feto engula o líquido amniótico e o devolva à mãe por meio da circulação placentária. Isso leva a um excesso de líquido amniótico (**polidrâmnio**) e à consequente distensão do útero.

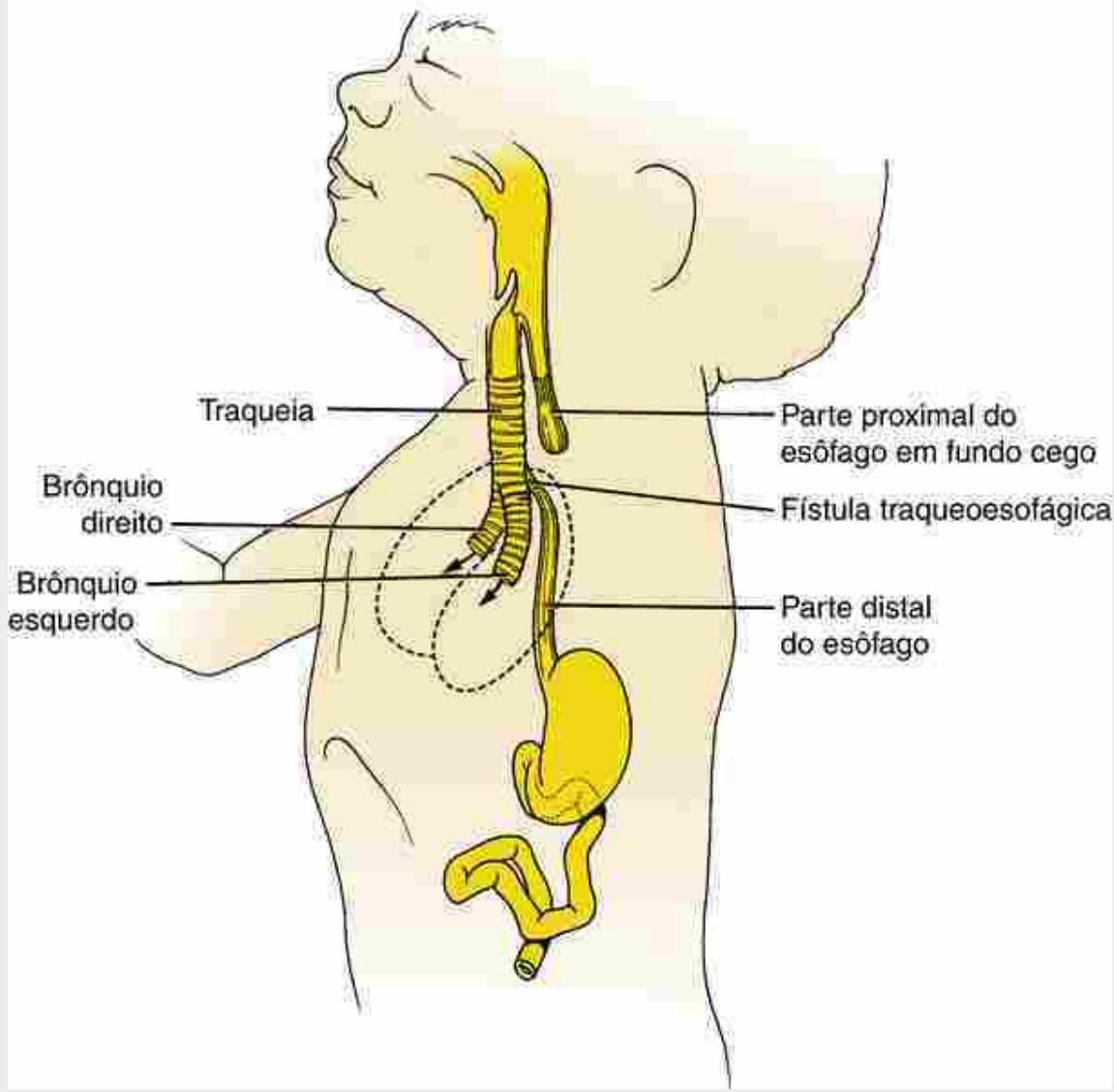


FIGURA 11-4 O diagrama de um bebê com atresia esofágica e fistula traqueoesofágica mostra como a primeira ingestão de líquido após o nascimento pode ser desviada para os pulmões recém-expandidos (setas).

No Laboratório de Pesquisa

Atresia esofágica e fistula traqueoesofágica

Acredita-se que a **atresia esofágica** seja decorrente da falha do endoderma esofágico em proliferar rápido o suficiente durante a 5^a semana de modo a acompanhar o alongamento do embrião. Entretanto, a causa da **fistula traqueoesofágica** e o motivo pelo qual essas duas malformações geralmente ocorrem em conjunto continuam a ser um enigma. Durante o desenvolvimento do embrião do camundongo, o intestino anterior expressa o fator de transcrição Sox2, e os níveis mais elevados de expressão ocorrem nos futuros esôfago e estômago. Por outro lado, a futura região traqueal do intestino anterior expressa o fator de transcrição Nkx2.1. Além disso, a via de sinalização sonic hedgehog (Shh) é expressa no endoderma ventral do intestino anterior, onde ela controla a proliferação celular, e fatores de crescimento de fibroblastos (FGFs) são expressos no mesênquima ventral adjacente. A interrupção da via Shh ou do fator de transcrição Nkx2.1 origina a fistula traqueoesofágica. Acredita-se que a expressão de Sox2 no intestino anterior gere um limite que separa a traqueia e o esôfago no desenvolvimento normal, e experimentos de cultura de órgãos sugerem que os FGFs expressos pelo mesênquima ventral regulem a expressão de Sox2. Além disso, a sinalização por proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) também é necessária para reprimir a expressão de Sox2 na futura traqueia. Finalmente, Sox2 e Nkx2.1 inibem reciprocamente a expressão um do outro, dando suporte a uma importante função para o estabelecimento de um limite tecidual (septo

traqueoesofágico) no desenvolvimento normal da traqueia e do esôfago.

Na Clínica

Anormalidades do desenvolvimento dos pulmões e da árvore respiratória

Muitas anomalias pulmonares surgem a partir de falha do divertículo respiratório ou de seus ramos em se ramificar ou se diferenciar corretamente. A mais grave dessas anomalias, a **agenesia pulmonar**, ocorre quando o divertículo respiratório não se divide em brotos bronquiais direito e esquerdo e não continua a crescer. Erros no padrão da ramificação pulmonar (**morfogênese de ramificação**) durante os períodos embrionário e fetal inicial resultam em defeitos que variam desde um número anormal de lobos pulmonares ou de segmentos bronquiais até a completa ausência de um pulmão. A complexidade da morfogênese de ramificação pode ser apreciada por meio do exame de pulmões em desenvolvimento em embriões de camundongos nos quais a árvore respiratória tenha sido especificamente corada (Fig. 11-5); tais imagens demonstram como os defeitos na morfogênese de ramificação podem causar anomalias nos lobos ou nos segmentos bronquiais.

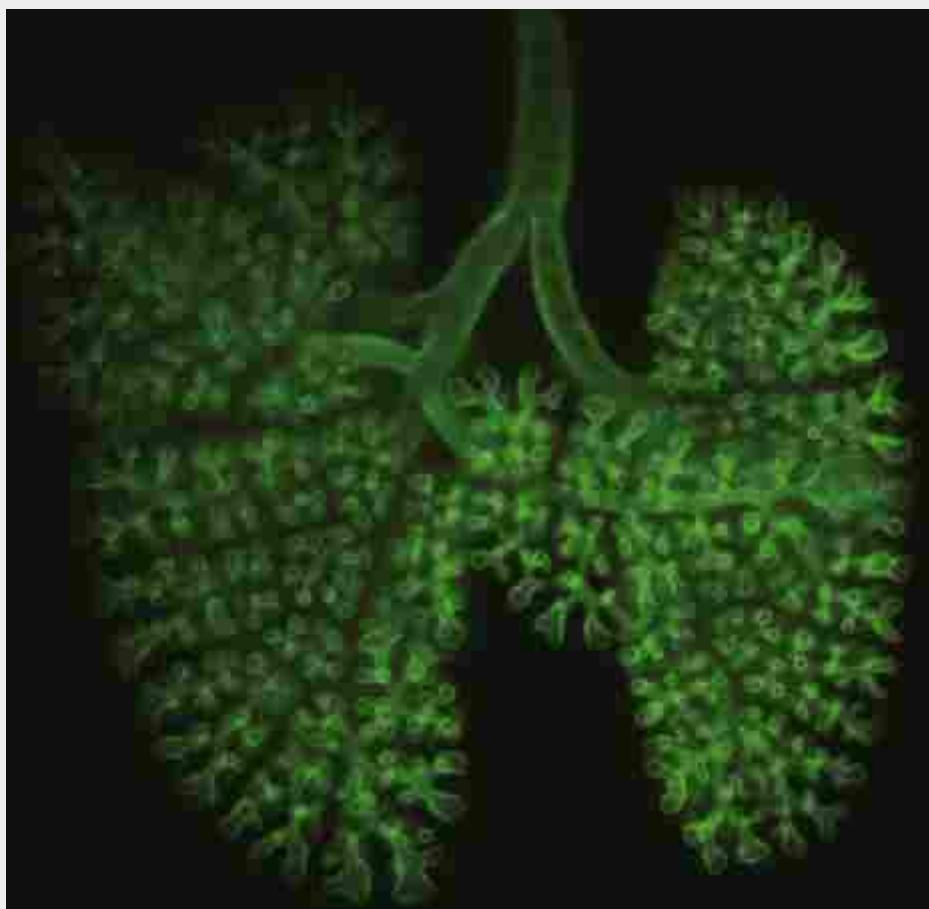


FIGURA 11-5 Preparado total de pulmões em desenvolvimento de um embrião de camundongo em E14.5. Os epitélios do pulmão e da traqueia foram marcados com um anticorpo anti-E-caderina para mostrar o padrão de ramificação (o padrão é diferente do padrão humano, que é descrito no texto).

Defeitos na subdivisão dos brônquios terminais ou na formação de septos após o nascimento podem resultar em uma escassez anormal de alvéolos, mesmo se a árvore respiratória for normal. Alguns desses tipos de anomalias pulmonares são causados por defeitos moleculares e celulares intrínsecos à morfogênese de ramificação (consulte o quadro “No Laboratório de Pesquisas” intitulado “Bases Moleculares e Celulares da Morfogênese de Ramificação”). Entretanto, a principal causa da **hipoplasia pulmonar** — um número reduzido de segmentos pulmonares ou de sacos aéreos terminais — frequentemente representa uma resposta a alguma doença que reduz o volume da cavidade pleural, consequentemente restringindo o crescimento dos pulmões (p. ex., projeção das vísceras abdominais para o interior da cavidade torácica, uma doença conhecida como hérnia diafragmática congênita; discutida adiante no quadro “Na Clínica” com o título “Defeitos Diafragmáticos e Hipoplasia

Pulmonar").

Maturação dos pulmões e sobrevida de bebês prematuros

À medida que o final da gestação se aproxima, os pulmões sofrem uma rápida e dramática série de transformações que os preparam para a respiração aérea. O líquido que preenche os alvéolos no período pré-natal é reabsorvido ao nascimento, as defesas que protegerão os pulmões contra patógenos invasores e contra os efeitos oxidativos da atmosfera são ativados e a área de superfície para as trocas gasosas alveolares aumenta intensamente. Ocorrem alterações na estrutura dos pulmões durante os últimos 3 meses de gestação, aceleradas nos dias que precedem o parto a termo normal. Caso um bebê nasça prematuramente, o estado de desenvolvimento dos pulmões em geral será o principal fator a determinar se o bebê sobreviverá. Bebês nascidos entre a 24^a semana e a termo — durante a fase de maturação pulmonar acelerada — têm alta probabilidade de sobrevivência com suporte neonatal adequado (incluindo assistência médica intensiva nos mais prematuros). Bebês nascidos antes da 24^a semana (durante a fase canalicular do desenvolvimento pulmonar) atualmente têm baixa chance de sobrevivência (nas unidades de terapia intensiva neonatal, ou UTINs, 10% a 15% dos bebês nascidos entre a 22^a e a 23^a semana sobrevivem, mas cerca de 50% deles apresentam um profundo comprometimento; recentemente, foi relatado que um bebê nascido na 21^a semana sobreviveu). Infelizmente, bebês sobreviventes que recebem assistência respiratória intensiva podem desenvolver fibrose pulmonar, que acarreta problemas respiratórios a longo prazo.

Embora a área de superfície total para as trocas gasosas no pulmão dependa do número de alvéolos e da densidade dos capilares alveolares, trocas gasosas eficientes só ocorrerão se a barreira que separa o ar do sangue (barreira hematoaérea, ou membrana alveolocapilar) for delgada — ou seja, caso os alvéolos apresentem paredes delgadas, sejam adequadamente insuflados e não estejam preenchidos com líquido. As paredes dos sacos alveolares em maturação se adelgam durante as semanas prévias ao nascimento. Além disso, células alveolares específicas (células alveolares, ou pneumócitos, do tipo II) começam a secretar o **surfactante pulmonar**, uma mistura de fosfolipídios e proteínas surfactantes que reduz a tensão superficial da película de líquido que recobre internamente os alvéolos, o que facilita a insuflação. Na ausência de surfactante, a tensão superficial da interface ar-líquido dos sacos alveolares tende a causar o colapso dos alvéolos durante a expiração. Esses alvéolos colapsados podem ser insuflados apenas com grande esforço.

A principal causa da **síndrome da angústia respiratória** em bebês prematuros (insuficiência pulmonar acompanhada por dispneia e cianose) é a produção inadequada de surfactante. A síndrome da angústia respiratória não somente ameaça o bebê com uma asfixia imediata, mas também a frequência respiratória elevada e a ventilação mecânica necessárias para sustentar a respiração do bebê podem danificar o delicado revestimento alveolar, permitindo o extravasamento de fluido e proteínas celulares e séricas para o interior do alvéolo. A lesão continuada pode causar o descolamento da camada de células que reveste os alvéolos, um quadro denominado **doença da membrana hialina**. A lesão pulmonar crônica associada a bebês prematuros causa uma doença denominada **displasia broncopulmonar**, na qual os pulmões se tornam inflamados e, por fim, sofrem cicatrização, comprometendo sua capacidade de oxigenar o sangue. Em mães com risco elevado de parto prematuro, o feto pode ser tratado na fase pré-natal com esteroides para acelerar a maturação pulmonar e a síntese do surfactante.

Neonatos *criticamente doentes* foram tratados com sucesso, inicialmente, por meio de uma **terapia de reposição de surfactante** — a administração de surfactante exógeno — ao final da década de 1970. Embora originalmente o surfactante fosse extraído de pulmões de animais ou do líquido amniótico humano, atualmente são usados preparados sintéticos de surfactantes. Além de conter fosfolipídios, os preparados atuais incluem algumas das proteínas suplementares encontradas no surfactante natural. São conhecidas quatro proteínas surfactantes nativas: proteínas surfactantes hidrofóbicas B e C (Sp-B e Sp-C, respectivamente) e proteínas surfactantes hidrofílicas A e D (Sp-A e Sp-D, respectivamente). A Sp-B parece agir por meio da organização de fosfolipídios do surfactante em estruturas tubulares denominadas mielina tubular, as quais são particularmente eficazes em reduzir a tensão superficial. Embora a Sp-C não seja necessária para a formação de mielina tubular, ela intensifica a função dos fosfolipídios do surfactante. As proteínas Sp-A e Sp-D aparentemente desempenham uma função importante na defesa inata do pulmão do hospedeiro contra patógenos virais, bacterianos e fúngicos.

Uma doença fatal denominada **deficiência hereditária da proteína surfactante B (deficiência hereditária de SP-B)** é uma causa rara de **insuficiência respiratória** nos bebês prematuros e em recém-nascidos a termo. Os espaços aéreos alveolares são preenchidos com um material proteináceo eosinofílico granular e a mielina tubular está ausente. Mesmo com a aplicação de intervenções clínicas agressivas nesses casos, incluindo a terapia de reposição de surfactante, os bebês afigidos por essa doença falecem, normalmente durante o 1^o ano de vida, caso não sejam submetidos a um transplante pulmonar.

A deficiência hereditária de SP-B é uma doença autossômica recessiva. A base genética para esse quadro foi examinada. Na maioria dos casos, foi identificada uma **mutação de mudança de fase de leitura** no exón 4 do gene SP-B humano. Essa mutação causa a interrupção prematura da tradução da proteína SP-B. Outras mutações do

gene SP-B que resultam na síntese de formas defeituosas da proteína SP-B também foram identificadas. Foi demonstrado que efeitos da deficiência de SP-B se estendem para além da interrupção da tradução do gene SP-B. Resultados de estudos de mutações nulas do gene SP-B em camundongos transgênicos, por exemplo, mostram que, embora a quantidade do RNAm das proteínas SP-C ou SP-A não seja afetada, precursores da proteína SP-C madura não são completamente processados. Além disso, o processamento de fosfolipídios pulmonares é interrompido. Interrupções similares do processamento do peptídeo SP-C e de fosfolipídios foram descritos em um bebê com deficiência de SP-B. Mais de 15 diferentes mutações no gene SP-B foram associadas à deficiência hereditária de SP-B. Mutações leves podem causar doença pulmonar crônica em bebês. Embora esses estudos tenham sido úteis para o diagnóstico, espera-se que eles levem à descoberta de terapias eficazes para essa doença usualmente fatal.

No Laboratório de Pesquisa

Abordagens para o estudo do desenvolvimento dos pulmões e da morfogênese da ramificação

Cultura de Órgãos

Logo após a formação dos brotamentos bronquiais primários, os primórdios pulmonares podem ser removidos de embriões de aves ou de camundongos e submetidos a cultura em meios livres de soro e de outros fatores de crescimento exógenos. Nessas condições, os primórdios pulmonares irão crescer e se ramificar por alguns dias. Entretanto, na ausência de um sistema vascular intacto, o desenvolvimento completo não é possível. Com essa limitação, é possível usar esses pulmões cultivados para analisar as funções dos fatores de crescimento e de outros agentes no processo da ramificação. Em um desses estudos, um pequeno peptídeo que serviu como inibidor competitivo da ligação de ligantes a integrinas resultou na morfologia anormal do primórdio pulmonar em desenvolvimento. Em outro estudo, a incubação com anticorpos monoclonais para sequências específicas da proteína laminina, presente na matriz extracelular, resultou na redução dos brotamentos terminais e na dilatação segmentar dos primórdios pulmonares explantados. Em outra estratégia, explantes pulmonares foram tratados com oligonucleotídeos antisenso, os quais se ligam ao RNAm do fator de interesse específico e o inativam. Experiências com oligonucleotídeos antisensor contra fatores de transcrição, como o Nkx2.1, resultaram em redução no número de ramos terminais do primórdio pulmonar. É possível separar de forma eficiente o endoderma dos brotamentos pulmonares do mesoderma e cultivá-los separadamente ou em conjunto e na presença de fatores purificados. Isso pode revelar os mecanismos pelos quais essas camadas e fatores interagem *in vivo*.

Tecnologias Transgênicas e de Direcionamento Genético

Estratégias genéticas, incluindo a geração projetada de mutações com perda de função (genes *knockouts*) e de transgênicos com ganho de função, forneceram importantes informações sobre o desenvolvimento pulmonar. Os recentes avanços possibilitaram que os genes fossem deletados somente nas células epiteliais do pulmão, tanto no embrião quanto no adulto, eliminando, consequentemente, a letalidade precoce de algumas mutações nulas. Além disso, podem ser selecionados transgenes que gerem a expressão de proteínas em tipos específicos de células do trato respiratório. Entre os exemplos, foi descrita, no quadro “Na Clínica” intitulado “Maturação dos Pulmões e Sobrevivência de Bebês Prematuros”, uma mutação nula do gene da proteína surfactante B. Abordagens similares envolveram muitos fatores de transcrição no controle do crescimento, diferenciação e ramificação dos pulmões. Entre eles, estão incluídos o proto-oncogene N-myc, o regulador de transcrição Gata6 e o fator Lhx4 com homeodomínio Lim (anteriormente conhecido como Gsh4). Similarmente, foi mostrado que o fator de transcrição Nkx2.1 contendo homeodomínio e os fatores de transcrição em hélice alada Foxa1 e Foxa2 (anteriormente conhecidos, respectivamente, como fator nuclear hepático 3α e β) são necessários para a regulação de genes de células pulmonares, incluindo a síntese do surfactante. Foi obtido um dramático resultado pela interrupção direcionada da função de uma proteína receptora de FGF no pulmão. Um transgene que consistia em um elemento promotor do surfactante C e uma forma mutante do receptor de FGF sem uma sequência com atividade de quinase foi elaborado e injetado em ovos fertilizados para gerar camundongos transgênicos. A inclusão do elemento promotor do surfactante C no transgene resultou em sua expressão somente no epitélio das vias aéreas. O fundamento desse experimento é que a formação de um receptor funcional de FGF necessita da dimerização de dois monômeros normais da proteína FGF. Consequentemente, a dimerização da proteína mutante produzida pelo transgene com a proteína FGF endógena selvagem (normal) resultou na formação de receptores inativos apenas nos pulmões. Como consequência, outro tecido dos embriões se desenvolveu de modo normal, mas a ramificação da árvore respiratória nos filhotes transgênicos foi completamente inibida. Isso acarretou a formação de tubos epiteliais alongados que foram incapazes de sustentar a função respiratória normal ao nascimento (Fig. 11-6). Experimentos subsequentes de direcionamento genético em camundongos demonstraram que o fator de

crescimento de fibroblastos 10 (FGF10) e uma isoforma de seu receptor no epitélio respiratório, o receptor de FGF 2, foram essenciais para a formação de ambos os pulmões e dos membros. De maneira semelhante, a ablação de Nkx2.1 bloqueou a formação da tireoide e dos pulmões.

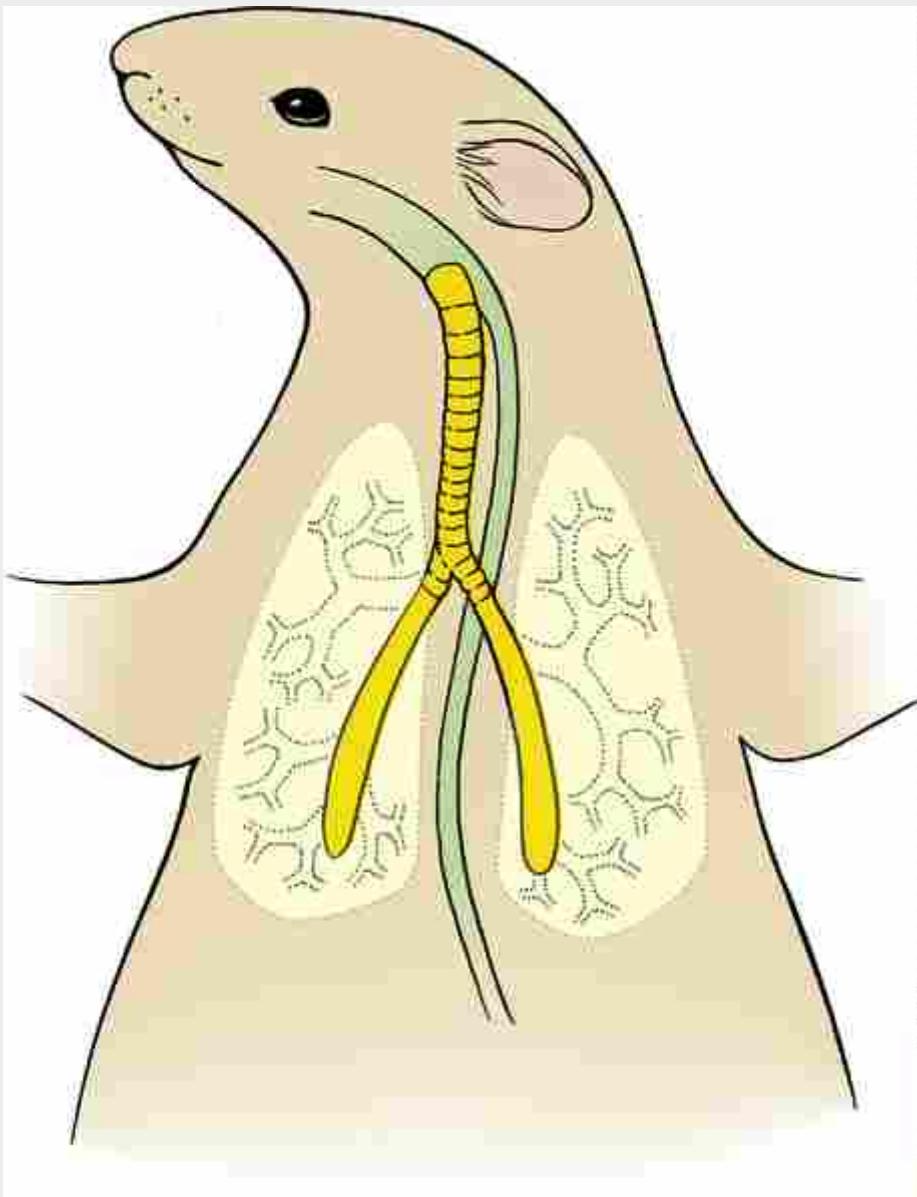


FIGURA 11-6 A mutação de um receptor para o fator de crescimento de fibroblastos especificamente expresso nos pulmões resulta na inibição da árvore respiratória e na formação de tubos epiteliais alongados que terminam bruscamente. O pontilhado indica o contorno onde os pulmões se formariam e seu padrão de ramificação em um embrião normal.

Estratégias genéticas também têm sido utilizadas para criar modelos de doenças pulmonares humanas, como a **fibrose cística**. Camundongos mutantes, com atividade secretora de cloreto estimulada por AMPc do gene da fibrose cística ausente ou reduzida, foram criados por recombinação homóloga. Esses camundongos expressam alguns dos fenótipos anormais (mas não todos) característicos da doença em seres humanos. Em outros experimentos, camundongos transgênicos foram criados portando o gene humano normal da fibrose cística para demonstrar que ele é não tóxico e é, portanto, provavelmente seguro para uso na terapia em seres humanos. Atualmente, diversas abordagens de terapias para fibrose cística em genes humanos estão sendo desenvolvidas com sistemas de veiculação com bases virais e de DNA. A meta a longo prazo é inserir o gene da fibrose cística diretamente nas células epiteliais somáticas das vias aéreas de bebês e crianças afetados.

Bases moleculares e celulares da morfogênese da ramificação

Conforme discutido anteriormente no capítulo, os brotamentos bronquiais endodérmicos e os subsequentes ramos das vias aéreas crescem em meio ao mesênquima circunjacente ao tubo do intestino anterior torácico. Deficiências

ou anormalidades na ramificação da árvore respiratória servem como base para muitas formas de **hipoplasia pulmonar** (discutida no quadro “Na Clínica” precedente, intitulado “Anormalidades do Desenvolvimento dos Pulmões e da Árvore Respiratória”). Estudos ao longo das últimas décadas demonstraram que a **morfogênese da ramificação** da árvore respiratória é regulada por interações recíprocas entre o endoderma e o mesoderma circunjacente. Por exemplo, quando o mesênquima da região dos brotamentos bronquiais que estão se bifurcando é substituído pelo mesênquima circunjacente à traqueia em desenvolvimento, ramificações adicionais são inibidas. Por outro lado, a substituição do mesênquima traqueal pelo mesênquima da região dos brotamentos bronquiais que estão se desenvolvendo estimula o brotamento e a ramificação ectópicos da traqueia. Com base em experimentos como esses, constatou-se que componentes da **matriz extracelular** e **fatores de crescimento** estão implicados na estimulação e inibição da ramificação. Por exemplo, acredita-se que os colágenos dos tipos IV e V, laminina, fibronectina e tenascina — todos componentes da matriz extracelular — desempenhem um papel permissivo ou estimulante na ramificação dos brotamentos bronquiais. Da mesma maneira, a regulação da expressão de receptores para esses componentes da matriz tem sido implicada no controle de morfogênese da ramificação.

Muitos **fatores de crescimento** estão envolvidos no crescimento, na diferenciação e na morfogênese de ramificação do pulmão. Entre eles estão citados o ácido retinoico (AR), o fator de crescimento transformante β (TGF- β), Shh, Wnts, FGFs, o fator de crescimento epidérmico (EGF), o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e o fator de crescimento transformante α (TGF- α). Esses fatores de crescimento e seus receptores são expressos em populações celulares específicas durante diferentes fases do crescimento e ramificação dos pulmões, consistente com seus papéis sugeridos neste processo complexo. Por exemplo, a ramificação durante o estágio **pseudoglandular** aparentemente é influenciada, em parte, pela atividade dinâmica das vias de sinalização de AR, Shh, FGF (principalmente FGF10), BMP e TGF- β . Consequentemente, experimentos demonstraram que o FGF10, produzido pelo mesênquima sobrejacente às extremidades dos brotamentos bronquiais em crescimento, promove tanto a proliferação de células endodérmicas quanto sua **quimiotaxia** (ou seja, movimento direcionado de acordo com a presença dos chamados fatores quimiotáticos liberados em meio ao microambiente celular). Por outro lado, o Shh, produzido pelo endoderma, promove a proliferação e a diferenciação de células mesenquimais sobrejacentes. Além disso, a ausência de expressão de Shh regula a expressão de FGF10, suprimindo, portanto, a ramificação inadequada.

O complexo padrão de ramificação do pulmão do camundongo foi examinado sob o ponto de vista tridimensional ([Fig. 11-5](#)), e foi observado que a ramificação ocorre de três maneiras geométricas: ramificação de domínios — formação de ramos com arranjo similar às cerdas de uma escova; bifurcação planar — divisão da extremidade de um ramo em dois ramos menores; e bifurcação ortogonal — que envolve duas etapas de bifurcação planar com rotação de 90 graus entre cada etapa para formar uma estrutura em formato de roseta de quatro ramos. Por meio da repetição desses três padrões simples de ramificação, são gerados mais de 1 milhão de ramos no pulmão do camundongo. Além disso, os experimentos corroboram um modelo no qual a ramificação das vias aéreas, seguindo o estabelecimento da assimetria esquerda-direita no pulmão (ou seja, três lobos no pulmão direito e dois lobos no pulmão esquerdo de seres humanos), é controlada por um **gerador de ramos mestre** servida por três sub-rotinas que controlam eventos discretos de padronização. As três sub-rotinas consistem em um **relógio de periodicidade**, o qual determina o instante da formação dos ramos, e duas outras rotinas — uma que controla a bifurcação, e outra que controla a rotação no ponto de ramificação. O sprouty2, um inibidor da sinalização por FGF, é um gene candidato para o relógio de periodicidade. Interações entre sprouty2, FGF10 e o receptor para FGF 2 controlam o gerador de ramos mestre. As duas outras sub-rotinas envolvem interações entre os inúmeros sistemas de sinalização discutidos anteriormente nesta seção. Finalmente, é importante destacar que os pulmões em mamíferos e o sistema de traqueias em moscas (consulte a próxima seção, “Desenvolvimento do Sistema de Traqueias de *Drosophila*”) são submetidos a uma extensa ramificação para aumentar a área de superfície para trocas gasosas, e que a sinalização por FGF (e, presumivelmente, a ramificação) é regulada pelo nível de oxigênio nas moscas. Nos mamíferos, pelo menos duas famílias de fatores provavelmente atuam como sensores de oxigênio na morfogênese de ramificação do pulmão: o fator induzível por hipoxia (HIF) e o fator de crescimento para endotélio vascular (VEGF).

Desenvolvimento do sistema de traqueias de *drosophila*

O órgão respiratório da *Drosophila*, o sistema de traqueias, consiste em uma rede ramificada de tubos ([Fig. 11-7](#)). É interessante observar que, em virtude do recém-discutido papel central da sinalização por FGF no desenvolvimento dos pulmões em vertebrados, a formação do sistema de traqueias também envolve genes ortólogos de *Drosophila* do sistema de sinalização por FGF. Três componentes desse sistema foram identificados durante o desenvolvimento do sistema de traqueias: *branchless*, um ligante semelhante ao FGF; *breathless*, um receptor de FGF, e *sprouty*, inibidor endógeno de FGF. Embora pelo menos 30 outros genes estejam envolvidos no

desenvolvimento das traqueias, *branchless* e *breathless* são usados repetidamente para controlar o brotamento e o crescimento dos ramos. Sprouty fornece regulação por *feedback* negativo pela antagonização da sinalização por FGF, limitando, portanto, o grau de ramificação.

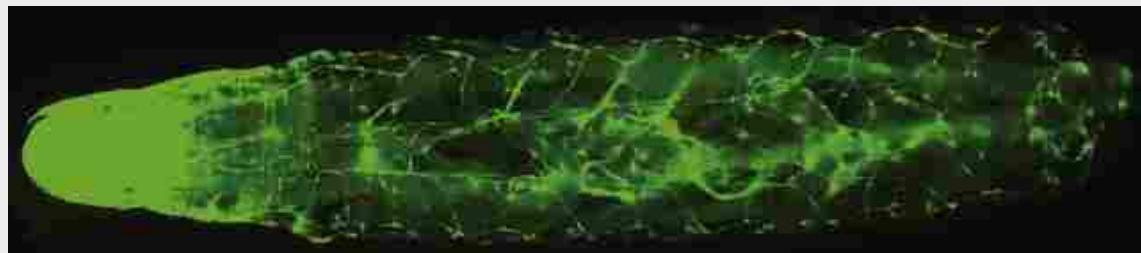


FIGURA 11-7 O sistema de traqueias (respiratório) da *Drosophila* consiste em uma rede de tubos epiteliais interconectados, visualizados em uma larva de terceiro ínstar pela expressão de proteína fluorescente verde gerada pelo promotor *breathless*. *Breathless* é um gene ortólogo do receptor do FGF necessário para a ramificação e o crescimento dos tubos traqueais. A imagem mostra uma vista ventral da larva, com a cabeça (anterior) à esquerda.

Bases moleculares e celulares da diferenciação alveolar

Fatores de crescimento, como FGFs e EGF, regulam não apenas o crescimento e a ramificação iniciais do pulmão, mas também a formação e a maturação subsequentes dos sacos terminais durante o estágio sacular. Ainda subsequentemente, o PDGF-A é necessário para a formação pós-natal de septos alveolares que contêm miofibroblastos. De forma semelhante ao Nkx2.1 e ao Foxa1/a2 (discutidos no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Tecnologias Transgênicas e de Direcionamento Genético”), citocinas, glicocorticoides e tiroxina estimulam a síntese de surfactante antes do nascimento. Espera-se que esses achados acarretem a estimulação terapêutica da formação e diferenciação alveolar adequadas e a síntese de surfactante em pulmões de bebês prematuros.

Consideráveis esforços têm sido realizados na identificação de genes que regulam a diferenciação das células progenitoras pulmonares em tipos especializados, tais como células ciliadas, células secretoras de Clara, e células neuroendócrinas. Por exemplo, a análise de pulmões de camundongos sem o gene Mash1 (membro da via *notch*, discutida no Cap. 5) mostrou que eles não têm células neuroendócrinas, ao passo que em mutantes nulos para Hes1 (outro membro da via *notch*) as células neuroendócrinas se formam prematuramente e em maiores números do que os normais. O gene Foxj1 (um dos muitos fatores de transcrição Fox) é necessário para o desenvolvimento de células ciliadas diferenciadas. A formação de glândulas na submucosa dos brônquios, as quais são a principal fonte de produção de muco no pulmão normal, também é regulada geneticamente. Camundongos que não apresentam genes controladores da via de sinalização da ectodispersina (Eda/Edar) (um gene envolvido na morfogênese de epitélios, discutido no Cap. 7) não desenvolvem glândulas na submucosa. Essas glândulas também estão ausentes em seres humanos que não possuem o gene EDA.

Divisão do celoma e formação do diafragma

No início da 4^a semana de desenvolvimento, antes do dobramento do corpo do embrião, o **celoma intraembrionário** forma um espaço com formato de ferradura que envolve parcialmente a futura extremidade cefálica do embrião (Fig. 11-8). Cranialmente, o celoma intraembrionário se situa imediatamente caudal ao **septo transverso** e representa a futura **cavidade pericárdica**. As duas ramificações do celoma intraembrionário em formato de ferradura direcionadas caudalmente representam as futuras cavidades **pleural** e **peritoneal** contínuas. Na região média do tronco e em níveis mais caudais, o celoma intraembrionário a cada lado é contínuo com o **celoma extraembrionário** (ou **cavidade coriônica**).

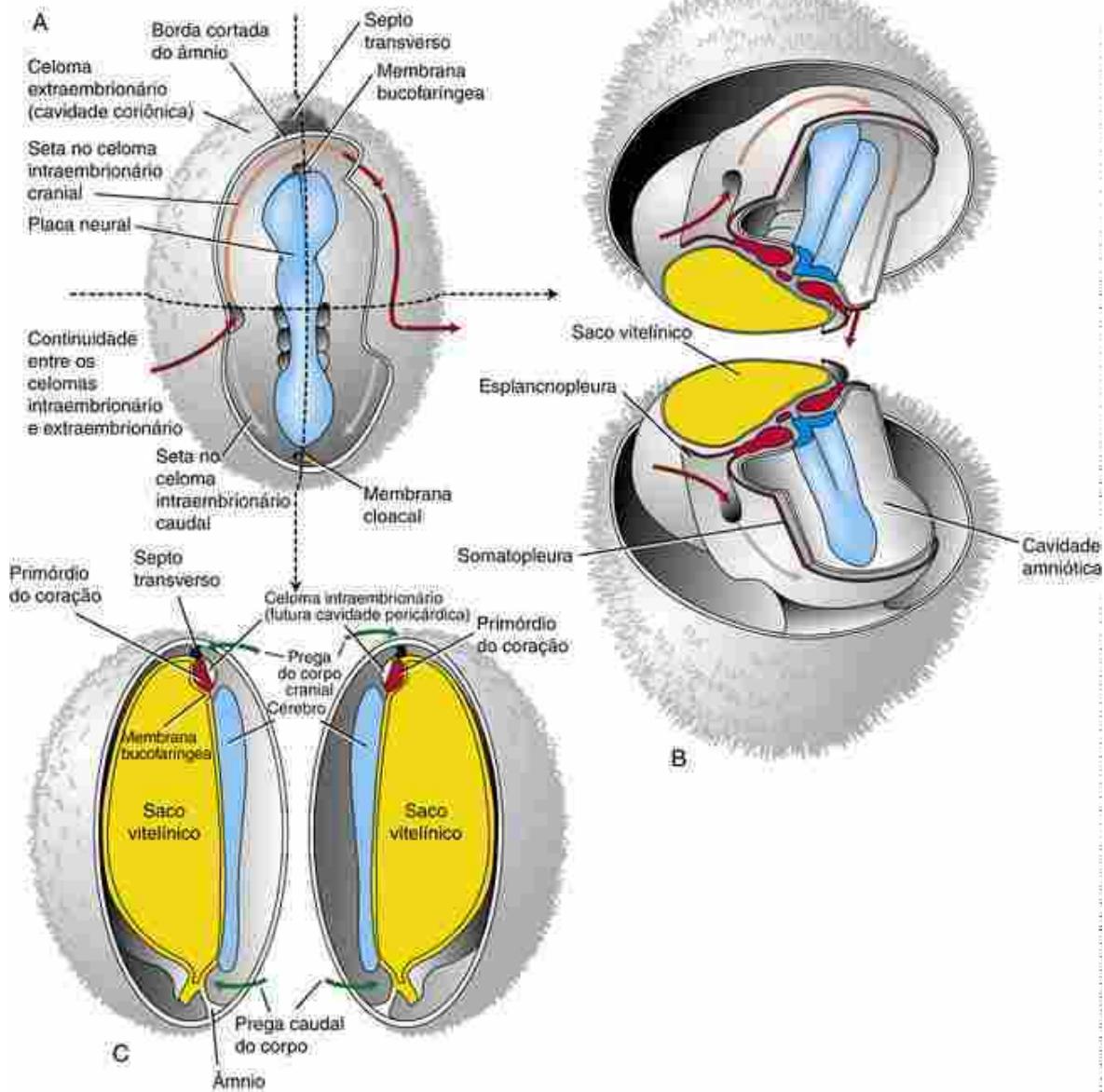


FIGURA 11-8 O celoma intraembrionário antes do dobramento do corpo do embrião. **A**, No início da 4^a semana, o celoma intraembrionário forma um espaço com formato de ferradura que envolve parcialmente a extremidade cefálica do embrião. O diagrama do epiblasto após a remoção do âmnio mostra a posição da placa neural, das membranas bucofaríngea e cloacal, e do celoma intraembrionário; este último é contínuo com o celoma extraembrionário na região média do tronco e em níveis mais caudais. **B**, Metades cranial (acima) e caudal (abaixo) de embriões secionados no nível indicado em A. As setas mostram a continuidade dos celomas intraembrionário e extraembrionário. **C**, Vista sagital mediana através do lado direito de um embrião no nível indicado em A. As setas mostram as direções das pregas cefálica e caudal durante o dobramento do embrião.

Com o dobramento do corpo do embrião, ocorrem alterações na posição do celoma intraembrionário. A **prega cefálica** movimenta a futura cavidade pericárdica caudalmente e a reposiciona sobre a face anterior (ventral) da cabeça em desenvolvimento (Fig. 11-9A). O septo transverso, que inicialmente constitui uma partição localizada cranialmente à futura cavidade pericárdica, é reposicionado pela prega cefálica para permanecer caudal à futura cavidade pericárdica. O coração em desenvolvimento (abordado no Cap. 12), que no início se encontra ventralmente à futura cavidade pericárdica, é reposicionado dorsalmente e rapidamente começa a se projetar para o interior da cavidade pericárdica. Consequentemente, após a formação da prega cefálica, o celoma intraembrionário é reformatado em uma expansão cranial ventral (**cavidade pericárdica primitiva**); dois estreitos canais denominados **canais pericardioperitoneais** (futuras **cavidades pleurais**) que se situam dorsalmente ao septo transverso e duas áreas mais caudais (as quais se fundem para formar a futura **cavidade peritoneal**), onde os celomas intraembrionário e extraembrionário são amplamente contínuos (Fig. 11-9B).

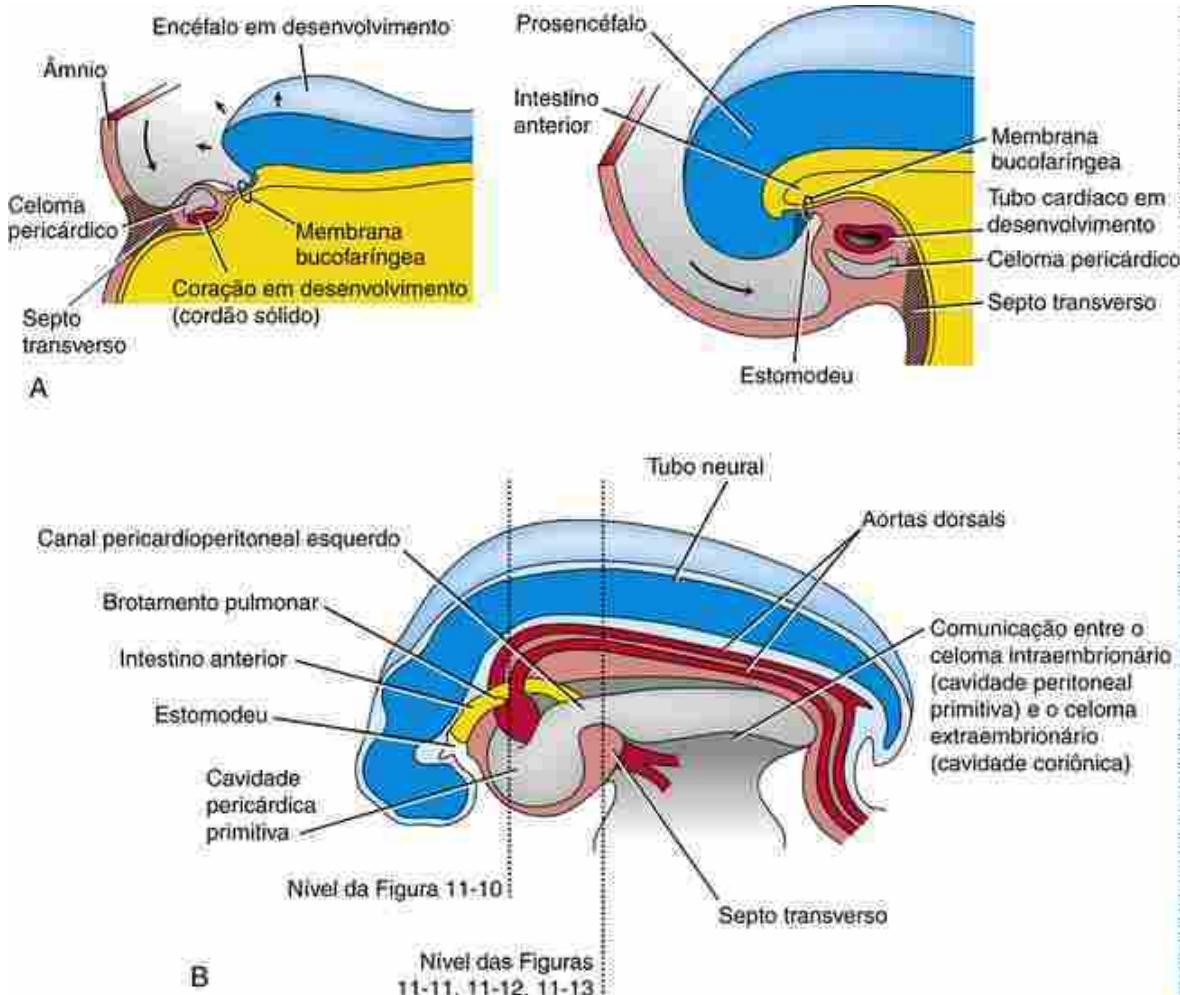


FIGURA 11-9 O dobramento do corpo do embrião modifica o formato do celoma intraembrionário. *A*, A extremidade cefálica do embrião antes (à esquerda) e depois (à direita) da formação da prega cefálica. *B*, Subdivisão inicial do celoma intraembrionário em uma cavidade pericárdica primitiva, um par de canais pericardioperitoneais e um par de cavidades peritoneais primitivas. Estas últimas são contínuas a cada lado com o celoma extraembrionário. O subsequente dobramento lateral do corpo separa progressivamente os celomas intraembrionário e extraembrionário à medida que o pedúnculo vitelínico se estreita.

Durante a 4^a e a 5^a semanas, o contínuo dobramento e o crescimento diferencial do eixo embrionário ocasionam um gradual deslocamento caudal do septo transverso. A borda ventral do septo finalmente se prende à parede anterior do corpo no nível da futura 7^a vértebra torácica, e a conexão dorsal com o mesênquima esofágico se fixa no nível da futura 12^a vértebra torácica. Enquanto isso, mioblastos (precursores de células musculares) se diferenciam em meio ao septo transverso. Essas células, que farão parte da futura musculatura do diafragma, são inervadas por nervos espinhais em um nível cervical transitório do septo transverso, ou seja, por fibras dos 3^º, 4^º e 5^º nervos espinhais cervicais (C3, C4, C5). Essas fibras se unem para formar o par de **nervos frênicos**, os quais se alongam à medida que seguem o septo em migração caudal.

O saco pericárdico é formado pelas pregas pleuropericárdicas que crescem a partir da parede lateral do corpo em um plano coronal

Durante a 5^a semana, as cavidades pleural e pericárdica estão separadas uma da outra pelas **pregas pleuropericárdicas** que se originam ao longo das paredes laterais do corpo em um plano coronal (Figs. 11-10 e 11-9B para orientação). Esses septos surgem como largas pregas de mesênquima que crescem medialmente uma em direção à outra entre o coração e os pulmões em desenvolvimento. Ao final da 5^a semana, as pregas se encontram e se fundem com o mesênquima do intestino anterior, consequentemente subdividindo a cavidade pericárdica primitiva em três compartimentos: uma **cavidade pericárdica definitiva** em posição ventral, totalmente fechada, e duas **cavidades pleurais** em posição dorsolateral. Essas últimas ainda são contínuas com as cavidades peritoneais mais caudais através dos canais pericardioperitoneais. O termo *pericardioperitoneal* é mantido para esses canais, muito embora eles agora comuniquem as cavidades pleural e peritoneal.

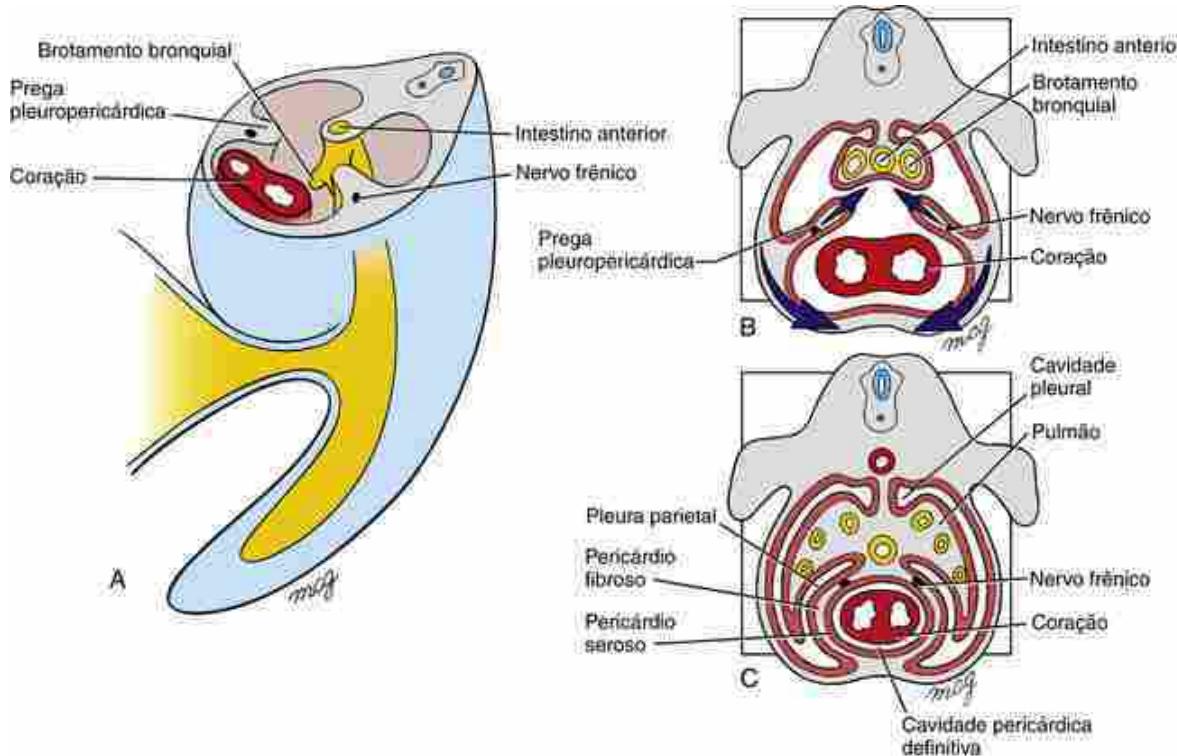


FIGURA 11-10 Subdivisão da cavidade pericárdica primitiva. *A*, Durante a 5^a semana, as pregas pleuropericárdicas crescem da parede lateral do corpo em direção à linha média, onde se fundemumas com as outras e com o mesoderma associado ao esôfago. Simultaneamente, as raízes dessas pregas migram ventralmente e, por fim, se conectam à parede ventral (anterior) do corpo. *B*, Os nervos frênicos, inicialmente incluídos na parede do corpo, se estendem para dentro dessas partições em desenvolvimento. *C*, As pregas pleuropericárdicas, com sua membrana serosa associada, formam o saco pericárdico e transformam a cavidade pericárdica primitiva em uma cavidade pericárdica definitiva e em cavidades pleurais direita e esquerda.

À medida que as extremidades das pregas pleuropericárdicas crescem medialmente uma em direção à outra, suas raízes migram na direção da linha média ventral (Fig. 11-10B, C). No momento em que as extremidades das pregas se encontram para vedar a cavidade pericárdica, suas raízes se originam da linha média ventral. Por consequência, o espaço que originalmente constituía a porção lateral da cavidade pericárdica primitiva é convertido na parte ventrolateral das cavidades pleurais direita e esquerda.

As pregas pleuropericárdicas apresentam três camadas, constituídas por uma camada de mesênquima situada entre duas camadas epiteliais; todas as três camadas derivam da parede do corpo. O delgado saco pericárdico definitivo mantém essa composição tripla, consistindo em membranas serosas interna e externa (o **pericárdio seroso** interno e a **pleura mediastinal** externa) separadas por um delicado preenchimento de tecido conjuntivo derivado do mesênquima, o **pericárdio fibroso**. Os nervos frênicos, os quais originalmente seguem a porção de mesênquima da parede do corpo incorporada às pregas pleuropericárdicas, percorrem o pericárdio fibroso do adulto.

As membranas pleuroperitoneais que se originam das paredes posterior e lateral do corpo vedam os canais pericardioperitoneais

Lembre-se de que o **septo transverso** é reposicionado pela prega céfala para se situar em posição ventral com relação ao par de **canais pericardioperitoneais** (Figs. 11-9B e 11-11 para orientação). No início da 5^a semana, um par de membranas, as **membranas pleuroperitoneais**, surge ao longo de uma linha oblíqua que conecta a raiz da 12^a costela às extremidades da 12^a costela até a 7^a costela (Figs. 11-9B e 11-12 para orientação). Essas membranas crescem ventralmente para se fundirem com o septo transverso, vedando assim os canais pericardioperitoneais. O canal pericardioperitoneal esquerdo é maior do que o direito e se fecha mais tarde. O fechamento de ambos os canais é concluído até a 7^a semana. As membranas que fecham esses canais são denominadas **membranas pleuroperitoneais** porque elas não fazem contato com o septo transverso até depois da formação do saco pericárdico; consequentemente, após se fundirem ao septo transverso, elas separam as cavidades pleurais definitivas da cavidade peritoneal.

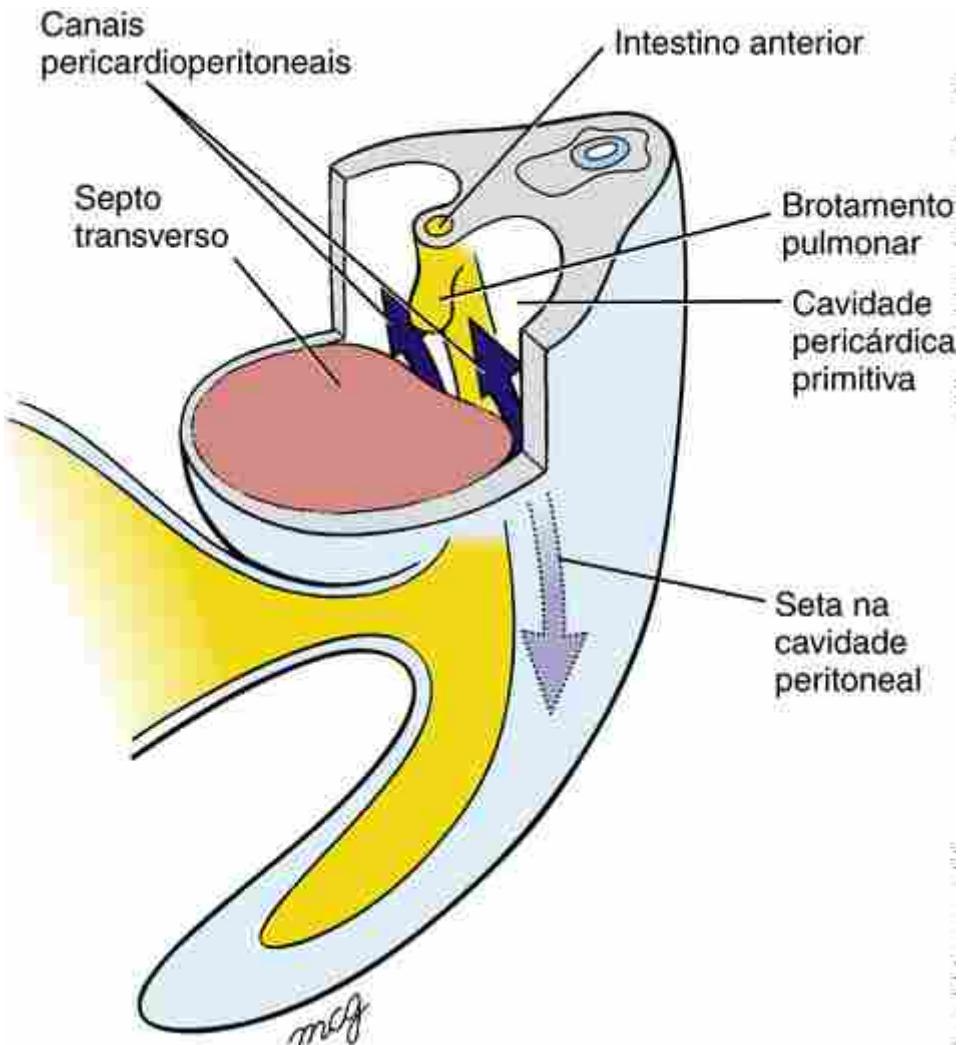


FIGURA 11-11 Na futura região torácica, o septo transverso forma uma partição ventral abaixo do par de canais pericardioperitoneais (setas), os quais interconectam a cavidade pericárdica primitiva cranialmente e as cavidades peritoneais caudalmente.

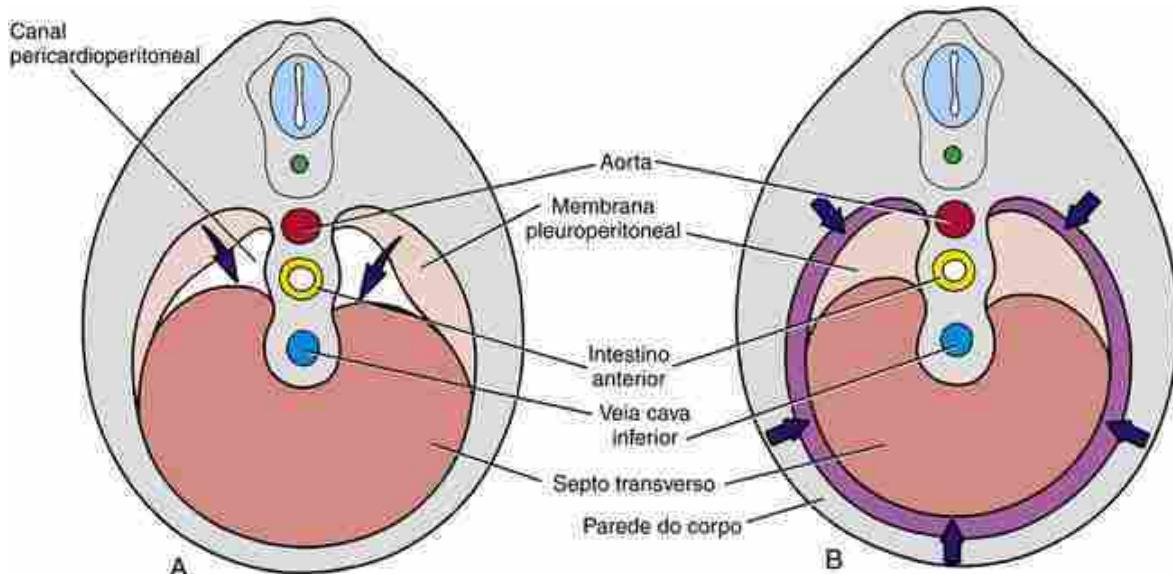


FIGURA 11-12 Fechamento dos canais pericardioperitoneais (*A, B*). Entre a 5^a e a 7^a semana, um par de membranas pleuroperitoneais horizontais cresce a partir da parede posterior do corpo para se encontrar com o septo transverso (setas, *A*), fechando, desta forma, os canais pericardioperitoneais. Essas membranas formam as porções posteriores do diafragma e vedam por completo as cavidades pleurais da cavidade peritoneal. As setas em *B* indicam invasão do diafragma em desenvolvimento por fibras musculares da parede corporal adjacente.

O diafragma é uma estrutura complexa derivada de quatro estruturas embrionárias

O **diafragma** definitivo, uma estrutura musculotendinosa, incorpora derivados de quatro estruturas embrionárias: (1) o septo transverso, (2) as membranas pleuroperitoneais, (3) o mesoderma da parede do corpo, e (4) o mesoderma do esôfago (Figs. 11-9B e 11-13A para orientação). Alguns dos mioblastos que se originam no septo transverso migram para as membranas pleuroperitoneais, puxando os ramos dos seus nervos frênicos junto com eles. A maior parte do septo transverso dá origem ao **tendão central** não muscular do diafragma (Fig. 11-13B).

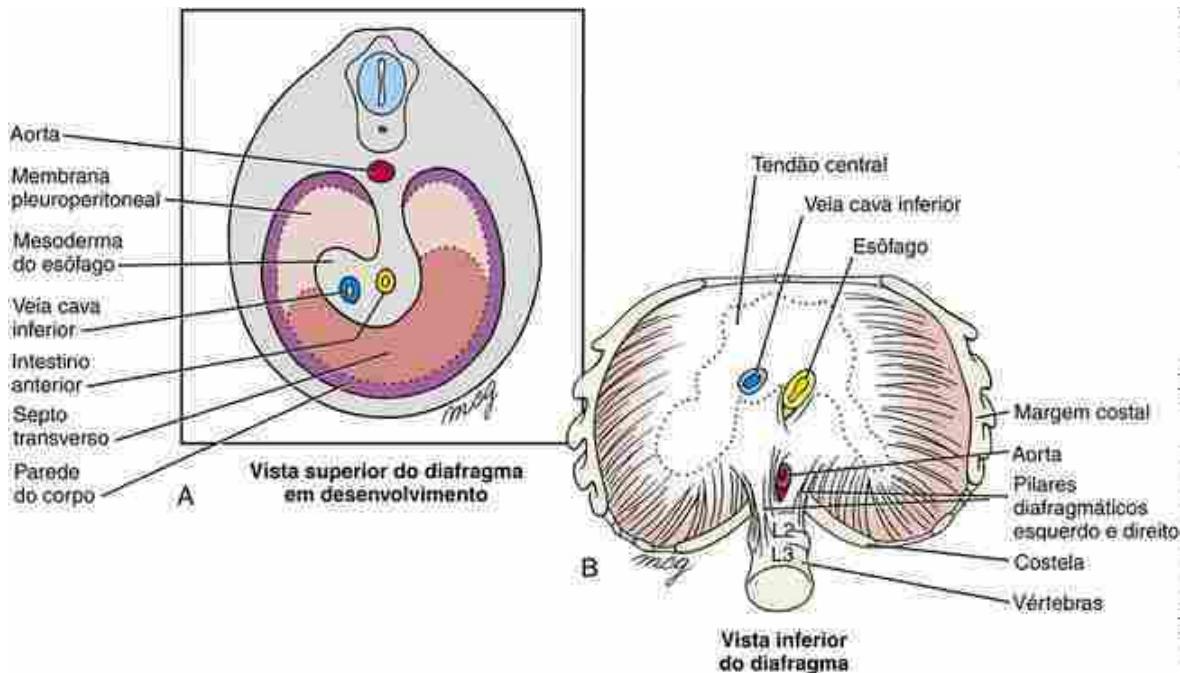


FIGURA 11-13 Formação do diafragma O diafragma definitivo é uma estrutura composta, incluindo elementos do septo transverso, as membranas pleuropititoneais e o mesênquima esofágico, além de uma borda de mesoderma da parede do corpo. *A*, Vista superior. *B*, Vista inferior.

A maior parte da **musculatura do diafragma** nas membranas pleuropititoneais é inervada pelo nervo frônico. Entretanto, a borda externa do músculo do diafragma se origina a partir de um anel de mesoderma da parede do corpo (Figs. 11-12B e 11-13 A); esse mesoderma deriva do mesoderma somático e é invadido por mioblastos derivados dos miótomas de somitos adjacentes. Consequentemente, a musculatura periférica do diafragma é inervada por nervos espinhais dos níveis torácicos T7 até T12. Finalmente, o mesoderma que se origina a partir dos níveis das vértebras L1 a L3 se condensa para formar duas faixas musculares, os **pilares direito e esquerdo** do diafragma, os quais se originam na coluna vertebral e se inserem na porção dorsomedial do diafragma (Fig. 11-13B). O pilar direito se origina nos corpos vertebrais L1 a L3 e o pilar esquerdo, nos corpos vertebrais L1 e L2.

Na Clínica

Defeitos diafragmáticos e hipoplasia pulmonar

Conforme abordado anteriormente no capítulo, a **hipoplasia pulmonar** frequentemente ocorre em resposta a algumas condições que reduzem o volume da cavidade pleural, consequentemente restringindo o crescimento dos pulmões. Na **hérvia diafragmática congênita**, as vísceras abdominais em desenvolvimento podem se projetar para o interior da cavidade pleural (Fig. 11-14). Se o volume de vísceras deslocadas for muito grande, ele impedirá o crescimento dos pulmões, normalmente em ambos os lados. A hérvia diafragmática congênita ocorre aproximadamente em 1 de cada 2.500 nascimentos. O lado esquerdo do diafragma está envolvido 4 a 8 vezes mais do que o lado direito (ou seja, cerca de 80% das hérvias diafragmáticas ocorrem no lado esquerdo), provavelmente porque o canal pericardioperitoneal esquerdo é maior e se fecha mais tarde do que o direito. A maioria das hérvias diafragmáticas (ou seja, 95%) ocorre posterolateralmente no diafragma e são conhecidas, clinicamente, como hérvias de Bochdalek. Entretanto, as hérvias diafragmáticas raramente ocorrem através do hiato esofágico ou mais anteriormente (ou seja, retroesternalmente ou paraesternalmente), quando são referidas clinicamente como hérvias de Morgagni. A taxa de mortalidade das hérvias diafragmáticas é elevada, em torno de 50%, mas o prognóstico depende do tipo da hérvia. Por exemplo, hérvias de Bochdalek no lado direito apresentam um prognóstico pior do que hérvias no lado esquerdo, e as hérvias de Morgagni geralmente trazem apenas consequências clínicas mínimas. Hérvias diafragmáticas podem ser corrigidas cirurgicamente no nascimento e também têm sido raramente corrigidas por cirurgia durante o período fetal (discutido no Cap. 6). Entretanto, se a hérvia tiver ocasionado uma grave hipoplasia pulmonar, o recém-nascido poderá morrer de insuficiência pulmonar ou de hipertensão pulmonar mesmo se a hérvia for corrigida.

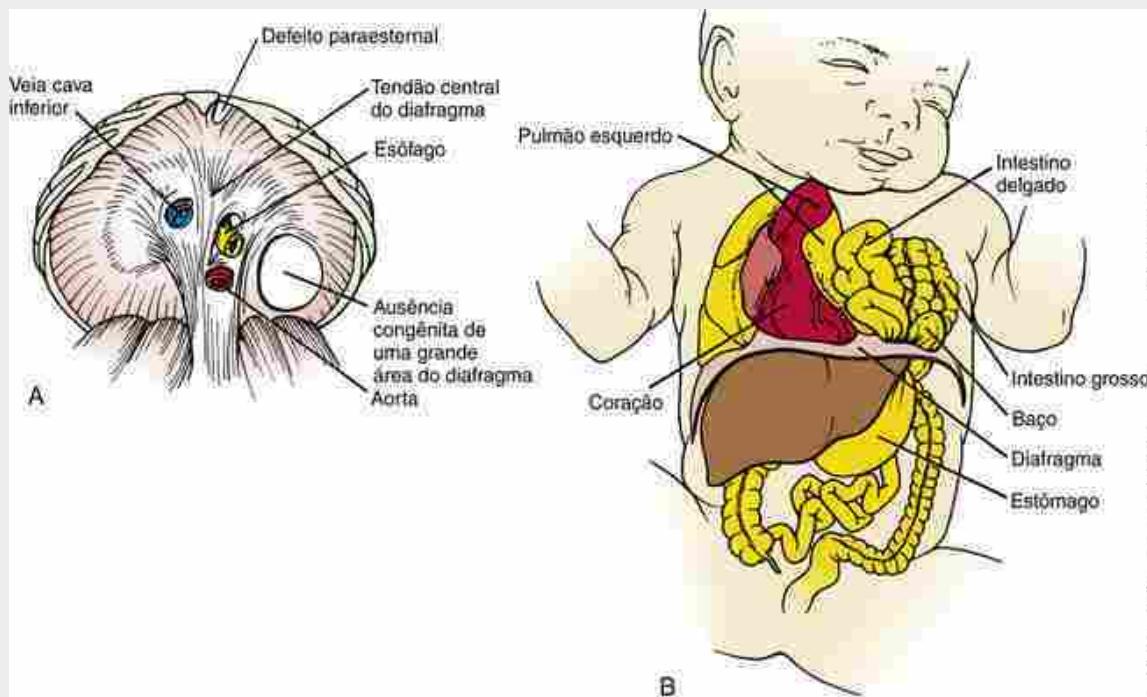


FIGURA 11-14 Hérnia diafragmática. Esta malformação muitas vezes ocorre por falha da membrana pleuropertitoneal esquerda em vedar por completo a cavidade pleural esquerda da cavidade peritoneal. *A*, Vista inferior. *B*, O conteúdo abdominal pode passar através do canal pericardioperitoneal patente, impedindo o desenvolvimento normal dos pulmões, os quais se tornam comprimidos.

Caso o desenvolvimento do tecido muscular do diafragma seja deficiente, a excessiva complacência do diafragma poderá permitir que o conteúdo abdominal subjacente se expanda ou **penetre** na cavidade pulmonar (**eventração**) (Fig. 11-15). Esse quadro também pode causar hipoplasia pulmonar e hipertensão, os quais podem ser fatais.



FIGURA 11-15 Eventração do diafragma. A falha das membranas pleuroperitoneais em se diferenciar normalmente durante a vida fetal pode permitir que os órgãos abdominais dilatem as regiões anormalmente finas do diafragma e penetrem na cavidade pleural.

Oligo-hidrâmnio e hipoplasia pulmonar

Conforme abordado anteriormente no capítulo, a hipoplasia pulmonar pode resultar de uma falha na morfogênese da ramificação durante o desenvolvimento dos pulmões e da árvore respiratória, e também por defeitos diafragmáticos, como acabamos de descrever. Outra causa clássica de hipoplasia pulmonar é o **oligo-hidrâmnio**, um distúrbio caracterizado pela quantidade insuficiente de líquido amniótico. As causas de oligo-hidrâmnio e a maneira como ele causa hipoplasia pulmonar são complexas. Durante a vida intrauterina, o pulmão funciona como uma glândula exócrina, produzindo um líquido que oferece uma contribuição substancial para o líquido amniótico. Além disso, assim que os rins começam a funcionar, depois de aproximadamente 16 semanas, a urina fetal passa a contribuir substancialmente para a formação do líquido amniótico. Consequentemente, a **agenesia renal bilateral** – o não desenvolvimento de ambos os rins (discutida no Cap. 15) – acarreta o oligo-hidrâmnio. Além disso, em um quadro denominado **ruptura prematura das membranas** (RPM), o âmnio se rompe prematuramente e ocorre a perda do líquido amniótico, causando oligo-hidrâmnio. Presumivelmente, o oligo-hidrâmnio – independentemente de sua causa – provoca hipoplasia pulmonar decorrente da perda excessiva de líquido dos pulmões fetais, ocasionando a diminuição da pressão do líquido no interior da árvore respiratória em maturação. Acredita-se que a compressão do tórax do feto pela parede uterina desempenhe um papel nesse quadro.

No Laboratório de Pesquisa

Hérnia diafragmática congênita

Pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares da formação do diafragma e como ocorre a falha nesse processo, resultando em hérnia diafragmática congênita (HDC). Entretanto, foi mostrado em um rastreamento de fetos de camundongos com mutações genéticas induzidas por ENU que a HDC resultou de uma mutação no gene *fog2* (*friend of Gata2*; *Gata2* é um fator de transcrição). Além disso, a hipoplasia pulmonar ocorreu ao início da gestação e *fog2* foi expresso em todo o mesênquima pulmonar durante estágios da morfogênese de ramificação, sugerindo um papel direto do *fog2* no desenvolvimento pulmonar. O rastreamento do DNA em pacientes com malformações diafragmáticas congênitas revelou mutações em *fog2*, demonstrando o papel desse gene no desenvolvimento do diafragma em camundongos e seres humanos.

Evidências adicionais de que *fog2* é essencial para a formação normal do diafragma são provenientes de estudos que demonstraram que *fog2* é um importante regulador de *Gata4* no coração em desenvolvimento, e que ambos os genes são coexpressos durante a embriogênese cardíaca. Camundongos homozigotos nulos para *Gata4* também apresentam HDC, sugerindo que a regulação anormal de *Gata4* por *fog2* possa ser importante para o desenvolvimento do diafragma. Além disso, *fog2* se liga ao domínio de ligação de ligantes do fator II de transcrição promotor “*upstream*” de ovalbumina de galinha (*Coup-tfII, chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II*) Foi mostrado que o Coup-tfII é necessário para que o *fog2* reprenda a transcrição de um *Gata4*. É importante observar que camundongos com mutações de Coup-TFII específicas de tecidos têm HDC e o Coup-TFII está localizado no cromossoma humano 15q26.2, uma região genômica que é deletada em alguns pacientes de HDC.

Embriologia na Prática

Massa pulmonar

Ultrassonografias realizadas durante a gestação revelam uma massa que preenche grande parte do hemitórax esquerdo do feto na 20^a semana de gestação. O restante do exame e o histórico da gestação são de pouca importância. Estudos cromossômicos de uma amniocentese anterior, realizada devido à idade avançada da mãe, foram normais.

A análise cuidadosa da ultrassonografia mostra o diafragma e conteúdo abdominal normais, o que depõe contra a presença de hérnia diafragmática congênita. As duas considerações restantes para uma massa intertorácica incluem sequestro broncopulmonar (SBP) e malformação adenomatoide cística congênita (MACC).

O exame de ultrassonografia com Doppler colorido demonstra a ausência de suprimento sanguíneo arterial sistêmico, o qual é sempre observado em casos de SBP. É feito o diagnóstico presuntivo de MACC.

Os pais são avisados de que os efeitos sobre o feto dependerão do tamanho da lesão. Lesões menores podem não causar qualquer efeito na gestação, mas massas maiores podem afetar o feto pela compressão do conteúdo torácico. É planejado um acompanhamento atento com ultrassonografias seriadas.

Infelizmente, essas ultrassonografias demonstram um crescimento progressivo da massa, causando deslocamento mediastinal e hipoplasia pulmonar resultante (Fig. 11-16A). A massa também se projeta sobre o coração, causando comprometimento cardiovascular e hidropsia fetal. A compressão do esôfago e a reduzida deglutição de líquido amniótico causam polidrâmnio. Na 30^a semana, a gravidez é espontaneamente perdida como resultado de insuficiência cardíaca fetal. A autópsia revela que o tórax está quase completamente preenchido com uma massa sólida, com compressão dos pulmões e do coração (Fig. 11-16B).

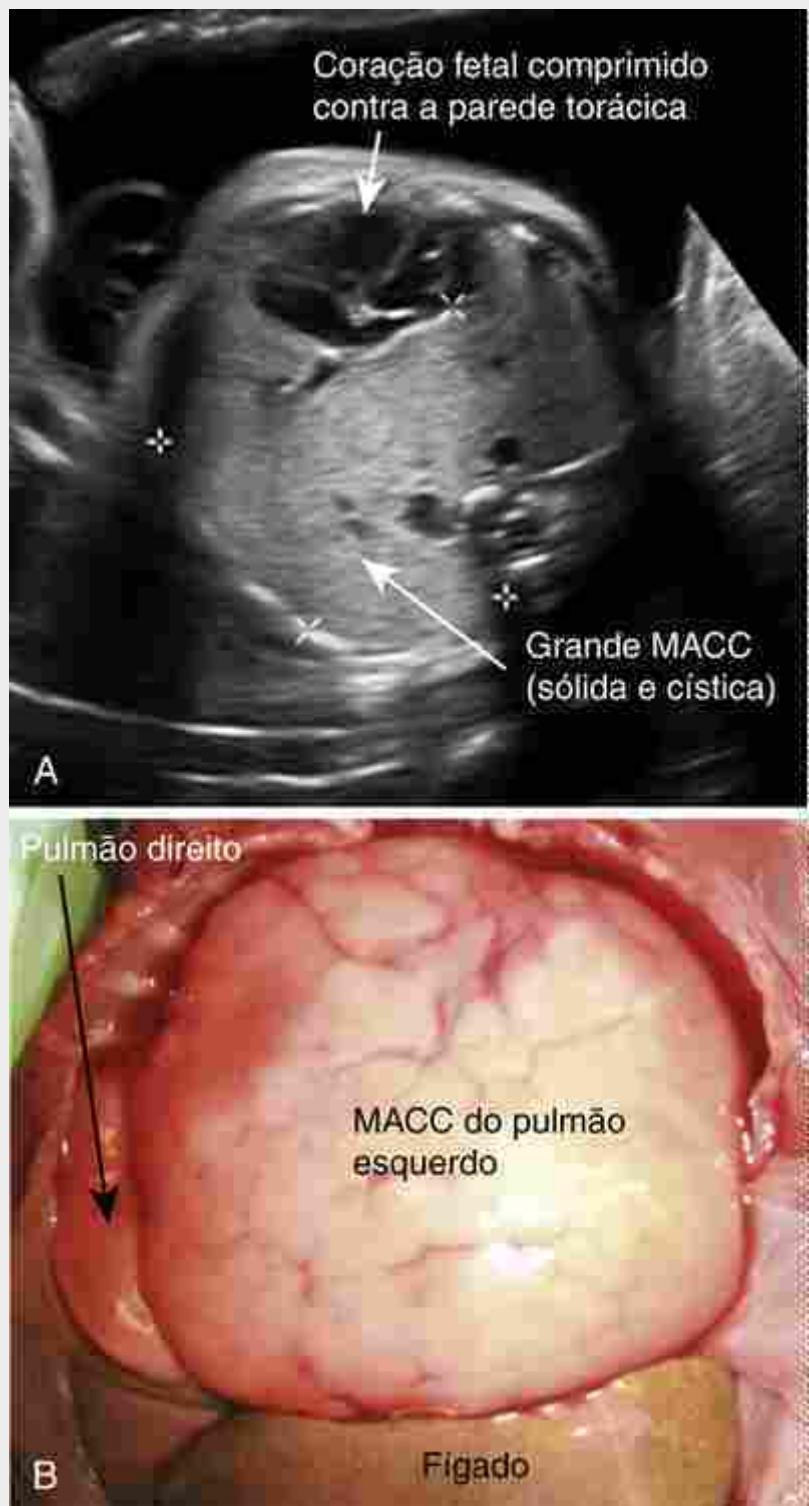


FIGURA 11-16 Malformação adenomatoide cística congênita (MACC). A, Ultrassonografia na 29^a semana. B, Foto da autópsia de feto natimorto mostrando massa aumentada no pulmão esquerdo após a remoção da parede torácica.

Como o nome sugere, a malformação adenomatoide cística congênita (MACC) consiste no crescimento proliferativo excessivo de parênquima pulmonar anormal que ocorre sem uma causa conhecida (*malformação adenomatoide* significa “tumor benigno”). A MACC se diferencia do SBP pela falta de suprimento arterial sistêmico. Tipicamente, o SBP é uma anomalia em formato de cunha, localizada no lado esquerdo, cercado por sua própria pleura visceral. Diversos subtipos de MACC (também denominada malformação congênita das vias aéreas pulmonares) foram designados com base no tamanho do cisto. O risco de transformação maligna indica ressecção cirúrgica nos bebês sobreviventes em muitos centros, independentemente do tipo.

Leituras sugeridas

- Ahlfeld, S. K., Conway, S. J. Aberrant signaling pathways of the lung mesenchyme and their contributions to the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2012; 94:3–15.
- De Langhe, S. P., Reynolds, S. D. Wnt signaling in lung organogenesis. *Organogenesis.* 2008; 4:100–108.
- Domyan, E. T., Sun, X. Patterning and plasticity in development of the respiratory lineage. *Dev Dyn.* 2011; 240:477–485.
- Holder, A. M., Klaassens, M., Tibboel, D., et al. Genetic factors in congenital diaphragmatic hernia. *Am J Hum Genet.* 2007; 80:825–845.
- Maeda, Y., Dave, V., Whitsett, J. A. Transcriptional control of lung morphogenesis. *Physiol Rev.* 2007; 87:219–244.
- Metzger, R. J., Klein, O. D., Martin, G. R., Krasnow, M. A. The branching programme of mouse lung development. *Nature.* 2008; 453:745–750.
- Morrisey, E. E., Hogan, B. L. Preparing for the first breath: genetic and cellular mechanisms in lung development. *Dev Cell.* 2010; 18:8–23.
- Ornitz, D. M., Yin, Y. Signaling networks regulating development of the lower respiratory tract. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012; 4:1–19.
- Warburton, D. Developmental biology: order in the lung. *Nature.* 2008; 453:733–735.

Desenvolvimento do Coração

Resumo

Em resposta a sinais indutivos e permissivos originários do endoderma, ectoderma e do mesoderma da linha média, os precursores cardíacos formam um primódio cardíaco no interior do mesoderma esplâncnico na extremidade cranial do disco embrionário denominado **crescente cardíaco** ou **primeiro campo cardíaco**. Em resposta a sinais do endoderma subjacente, uma subpopulação de células no interior do primeiro campo cardíaco forma um par de **tubos endocárdicos laterais** pelo processo de **vasculogênese**. O dobramento cefálico e lateral do embrião durante a 4^a semana ocasiona a fusão desses tubos ao longo da linha média na futura região torácica, onde eles formam um único **tubo cardíaco primário**. Esse tubo consiste em um único tubo endocárdico com o mesoderma adjacente diferenciando-se em cardiomiócitos.

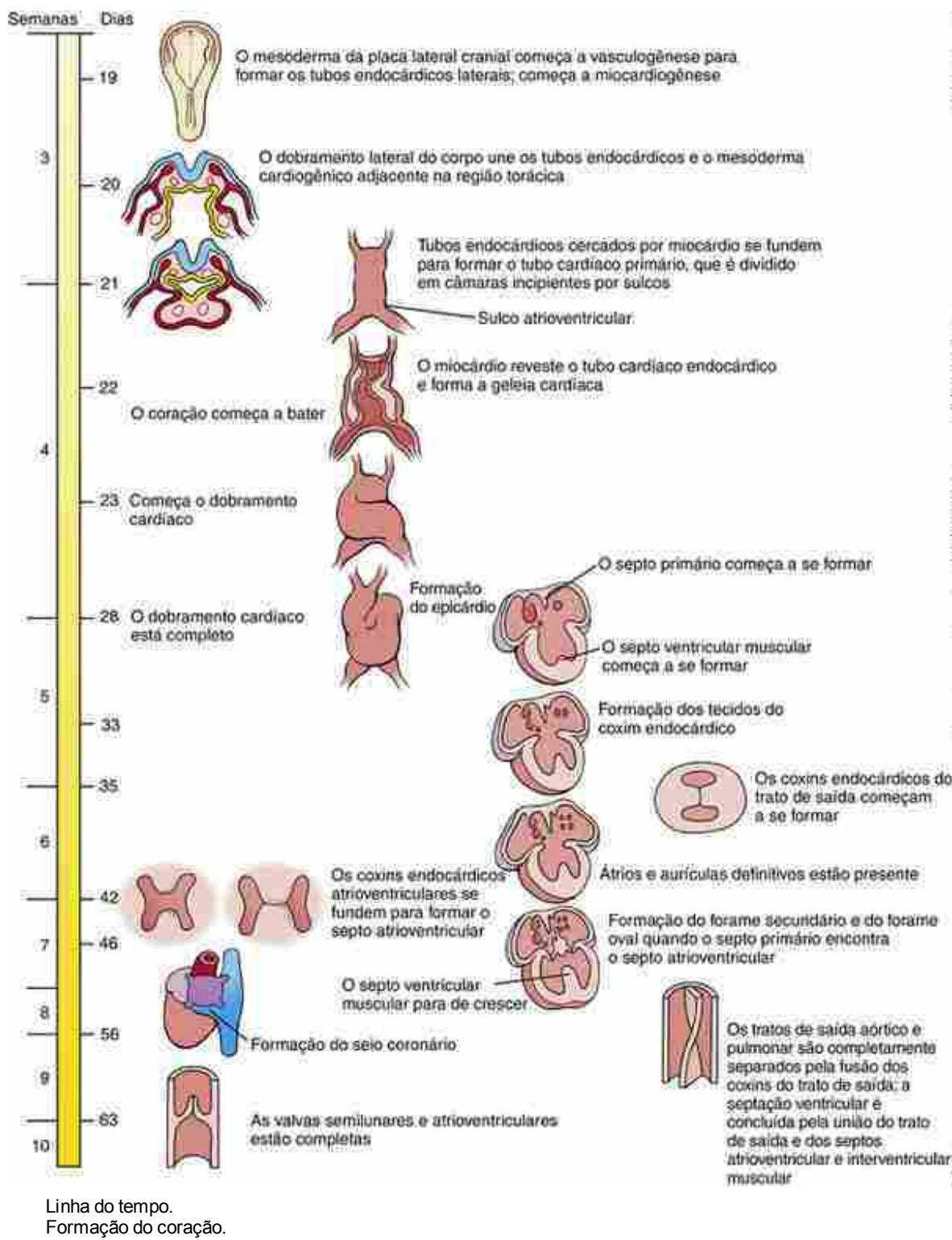
Os **batimentos cardíacos** são iniciados em torno do 21º dia e os batimentos contínuos são necessários para o desenvolvimento normal do coração. Entre a 4^a e a 8^a semana, o tubo cardíaco primário se submete a uma série de eventos, incluindo **dobramento, remodelação, realinhamento** e **septação**, finalmente ocasionando a transformação de um único tubo cardíaco em um coração com quatro câmaras e, portanto, fornecendo a base para a separação das circulações pulmonar e sistêmica ao nascimento.

Começando na extremidade de influxo, o tubo cardíaco primário inicialmente consiste nos cornos **esquerdo** e **direito do seio venoso**, no **átrio primitivo**, no **canal atrioventricular**, no **ventrículo primitivo esquerdo** e em uma região curta de fluxo de saída. O aumento do comprimento do tubo cardíaco e a curvatura e o dobramento cardíaco adequados são movidos pela adição de células precursoras cardíacas pelo **segundo campo cardíaco**. Na extremidade do fluxo de saída, as principais adições são o **ventrículo direito primitivo** e o **trato de saída** que se conecta com o **saco aórtico** no orifício arterial. À medida que o trato de saída se alonga, podem ser distinguidos componentes proximais (cone) e distais (tronco). A septação do trato de saída leva às vias de saída ventriculares separadas esquerda e direita e à formação da aorta ascendente e do tronco pulmonar. Na extremidade de influxo, o segundo campo cardíaco também contribui com o miocárdio para a parede do seio venoso, para o corpo do **átrio direito** e **esquerdo** e para os **septos atriais**.

O sangue venoso inicialmente entra nos cornos do seio através das **veias cardinais comuns**, que formam um par simétrico. Entretanto, conforme discutido no [Capítulo 13](#), as alterações no sistema venoso rapidamente deslocam todo o retorno venoso para a direita, de modo que todo o sangue do corpo e do umbigo entre no futuro átrio direito através das **veias cava superior** e **inferior** em desenvolvimento. O corno do seio esquerdo se torna o **seio coronário**, que coleta o sangue da circulação coronária. Um processo de intussuscepção incorpora o corno do seio direito e os óstios das **veias cava** à parede posterior do futuro átrio direito. Nesse processo, a **veia pulmonar**, desenvolvendo-se no interior do mesocárdio dorsal, se desloca para o futuro átrio esquerdo como resultado do desenvolvimento de uma **protuberância mesenquimal dorsal**. Em seguida, as paredes da veia pulmonar são parcialmente incorporadas à parede atrial, formando a maior parte da parede atrial dorsal esquerda. Na 5^a e na 6^a semanas, o septo atrial começa a se desenvolver. Esse é um processo de duas etapas. Ele começa com a formação do **septo primário ou septum primum (septo atrial primário)**, que é seguido pela formação do **septo secundário ou septum secundum (septo atrial secundário)**. A formação desse complexo septal atrial leva à separação dos átrios direito e esquerdo. Entretanto, os dois septos não se fundem até depois do nascimento, permitindo o desvio de sangue da direita para a esquerda durante a gestação. As **valvas atrioventriculares mitral (bicúspide)** e **tricúspide** se originam do tecido do coxim atrioventricular durante a 5^a e a 6^a semanas. Enquanto isso, o coração passa por uma remodelação, alinhando corretamente os futuros átrios e ventrículos uns com os outros e alinhando ambos os ventrículos com seus respectivos futuros vasos de saída. Durante a expansão dos ventrículos direito e esquerdo primitivos, forma-se um **septo ventricular muscular**, que separa parcialmente os ventrículos. Durante a 7^a e a 8^a semanas, o trato de saída do coração conclui o processo de septação e divisão. Durante esse processo, a remodelação do tecido do coxim do trato de saída distal (coxins truncais) resulta na formação das **valvas semilunares** da aorta e da artéria pulmonar. A fusão dos coxins do trato de saída proximal (coxins coronais) cria o septo de saída, resultando na separação das saídas dos ventrículos esquerdo e direito. A completa septação ventricular depende da fusão do septo do trato de saída (conotruncal), do septo ventricular

muscular e dos tecidos do coxim atrioventricular.

O miocárdio cardíaco se diferencia em miocárdio funcional e miocárdio do **sistema de condução**. O epicárdio cresce a partir do órgão **pró-epicárdico**, cobrindo o miocárdio. Isso contribui para a formação da vasculatura coronária, necessária para a oxigenação da parede miocárdica que está se tornando espessa e para a população de células miocárdicas.



Caso Clínico

Um menino nasce a termo de uma mãe primípara (primeira gestação) depois de uma gestação sem complicações.

O parto ocorre tranquilamente, com índice de Apgar 8/10 em 1 minuto e 9/10 em 5 minutos. Todos os parâmetros de crescimento (comprimento, peso e circunferência craniana) são normais, variando entre o 10º e o 25º percentil. O exame do neonato também é normal e o bebê é devolvido à mãe para iniciar a amamentação.

O menino inicialmente se alimenta bem, mas depois se torna sonolento e perde o interesse em se alimentar durante o dia. Vinte horas após o nascimento, ele apresenta baixa perfusão periférica, cianose e letargia. Um oxímetro de pulso mostra saturação de oxigênio em torno de 80% (o índice normal é maior ou igual a 90%), com **dificuldade respiratória** elevada. Paradoxalmente, a saturação de oxigênio no sangue piora depois da administração de oxigênio. O menino é transferido com urgência à unidade de terapia intensiva neonatal com choque cada vez mais grave. Ali, ele é intubado, são colocados cateteres intravasculares centrais e ele começa a receber **prostaglandinas**.

Uma radiografia torácica mostra **cardiomegalia** (aumento do coração) e vascularidade pulmonar elevada (indicativa de fluxo sanguíneo elevado). Um **ecocardiograma** mostra um ventrículo esquerdo muito pequeno, com um pequeno trato de saída aórtico, o que leva ao diagnóstico de **síndrome do coração esquerdo hipoplásico** (SCEH).

A SCEH é uma lesão dependente de desvio: a sobrevida desses pacientes depende da manutenção de um **ducto arterioso patente** (ou **ducto arterioso persistente**) (DAP) para levar sangue da artéria pulmonar para a aorta e para a circulação sistêmica. O oxigênio suplementar diminui a resistência ao fluxo de sangue pulmonar, fazendo com que o sangue circule para os pulmões, em vez de atravessar o ducto arterioso patente. Consequentemente, a administração de oxigênio suplementar, na realidade, diminui a saturação de oxigênio no sangue. A administração de prostaglandinas evita o fechamento fisiológico do ducto arterioso, mantendo a perfusão sistêmica até que a cirurgia possa ser realizada. A cirurgia de estágio inicial, denominada procedimento de Norwood, conecta o trato de saída ventricular direito à aorta, e um *shunt* (desvio) separado é usado para fornecer sangue aos pulmões. São realizadas cirurgias adicionais em torno do 6º mês e aos 2 ou 3 anos de idade. Ocionalmente, realiza-se um transplante cardíaco. A taxa de sobrevida de 5 anos para SCEH gira em torno de 70%.

Estabelecimento da linhagem cardíaca

O coração é o primeiro órgão a funcionar nos embriões humanos. Ele começa a bater no 21º dia e começa a bombear sangue até o 24º ou 25º dia. Grande parte do desenvolvimento cardíaco, incluindo remodelação e septação, ocorre enquanto o coração está bombeando sangue. Isso é necessário para fornecer nutrientes e oxigênio e para descartar resíduos durante o desenvolvimento embrionário e fetal, mas essa atividade mecânica e elétrica também desempenha uma importante função na morfogênese do coração. O coração embrionário inicialmente é identificável como um tubo único composto de miocárdio contrátil em torno de um tubo endocárdico interno (endotelial), com uma matriz extracelular interposta. O coração também é um órgão assimétrico cujo padrão esquerda-direita é estabelecido durante a gastrulação (a padronização esquerda-direita é abordada no [Cap. 3](#) e mais adiante neste capítulo).

As **células progenitoras cardíacas** derivam do mesoderma intraembrionário que emerge do terço cranial da linha primitiva durante o início da gastrulação. Essas células progenitoras saem da linha primitiva e migram, na direção craniolateral, para se situar em ambos os lados da linha primitiva ([Fig. 12-1A, B](#)). As células progenitoras cardíacas, finalmente, ficam localizadas no interior do mesoderma da placa lateral cranial em ambos os lados do embrião, estendendo-se e formando um arco cranial à dobra cefálica em desenvolvimento, formando o **crescente cardíaco** ([Fig. 12-1C](#)). As células do crescente cardíaco constituem o **primeiro campo cardíaco**. Acredita-se que a linhagem de células cardíacas seja especificada a partir das células mesodérmicas do interior do primeiro campo cardíaco. Conforme será discutido posteriormente, o primeiro campo cardíaco não é a única fonte de células cardiogênicas para o coração em desenvolvimento, já que, medialmente ao primeiro campo cardíaco, já existe uma população de células do **segundo campo cardíaco** ([Fig. 12-1C](#)).

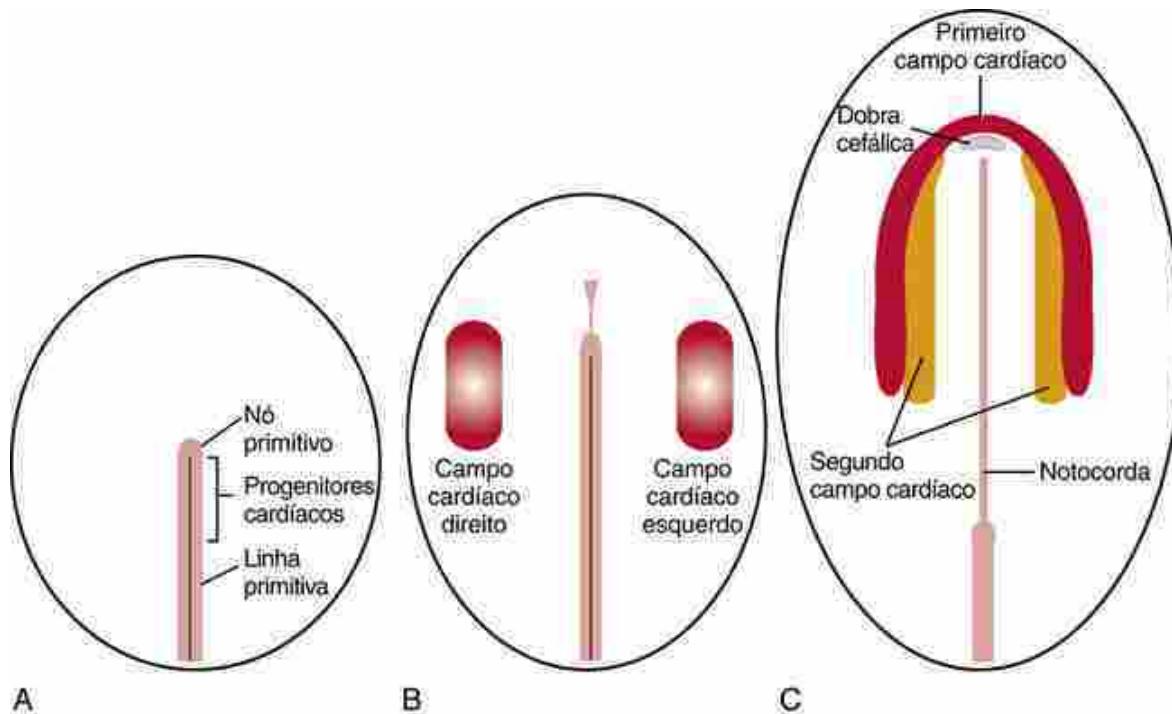


FIGURA 12-1 Formação do primeiro campo cardíaco, vista ventral. *A*, Localização dos progenitores cardiógenicos na linha primitiva inicial. *B*, Localização de precursores cardiógenicos (regiões vermelhas) no interior do mesoderma logo depois da gastrulação e durante a especificação inicial. *C*, Localização do primeiro campo cardíaco (vermelho) contendo células cardiógenicas especificadas. O arranjo em formato de crescente dos progenitores se deve ao seu padrão de migração, a sinais de indução cardiógenica local e ao desenvolvimento das dobras corporais. O segundo campo cardíaco se situa em posição medial e ligeiramente caudal com relação ao primeiro campo cardíaco (laranja).

No Laboratório de Pesquisa

Especificação das células progenitoras cardíacas

Ainda não se sabe até que grau as células progenitoras cardíacas no interior do epiblasto e a linha primitiva estão especificadas. A activina e Tgf β produzidas pelo hipoblasto da galinha induzem propriedades cardiógenicas em algumas das células do epiblasto superposto (Fig. 12-2A,B). Outros membros da superfamília do Tgf β , incluindo Vg1 e nodal, também desempenham um papel na indução de propriedades cardiógenicas no epiblasto. Durante a gastrulação, os precursores cardíacos residentes na linha primitiva não são comprometidos, mas esses progenitores se tornam especificados para se tornar mesoderma cardiógenico logo depois de migrarem para a placa lateral. Mesp1 (*mesoderm posterior 1*) e Mesp2 (*mesoderm posterior 2*), membros da família de fatores de transcrição HLH básicos, são expressos transitoriamente durante o estágio da linha primitiva. Ambos são necessários para a migração das células progenitoras cardíacas para a região cranial do embrião e ambos são implicados na especificação da linhagem cardiovascular inicial. É necessária a interação do mesoderma lateral cranial com o endoderma para essa especificação cardíaca. O endoderma secreta várias moléculas sinalizadoras — incluindo Bmp, Fgf, activina, fator de crescimento semelhante à insulina-2 (Igf-2) e Shh — que promovem a sobrevivência celular e a proliferação das células cardiógenicas. Um fator de crescimento particularmente importante é o Bmp2, que é essencial para estimular a expressão de fatores de transcrição cardiógenicos precoces, como Nkx2.5 (*Nkx2 transcription factor related, locus 5*) e Gata (proteínas que se ligam a uma sequência GATA do DNA) dentro do mesoderma lateral. No embrião de galinha, o Bmp2 pode induzir a expressão de marcadores de células miocárdicas em regiões ectópicas (ou seja, fora de sua posição adequada), ao passo que embriões de camundongos com ausência de Bmp2 não desenvolvem coração. Entretanto, a especificação cardíaca do mesoderma ainda ocorre nesses embriões, provavelmente como resultado da sobreposição de funções de outros membros da família do Bmp com o Bmp2.

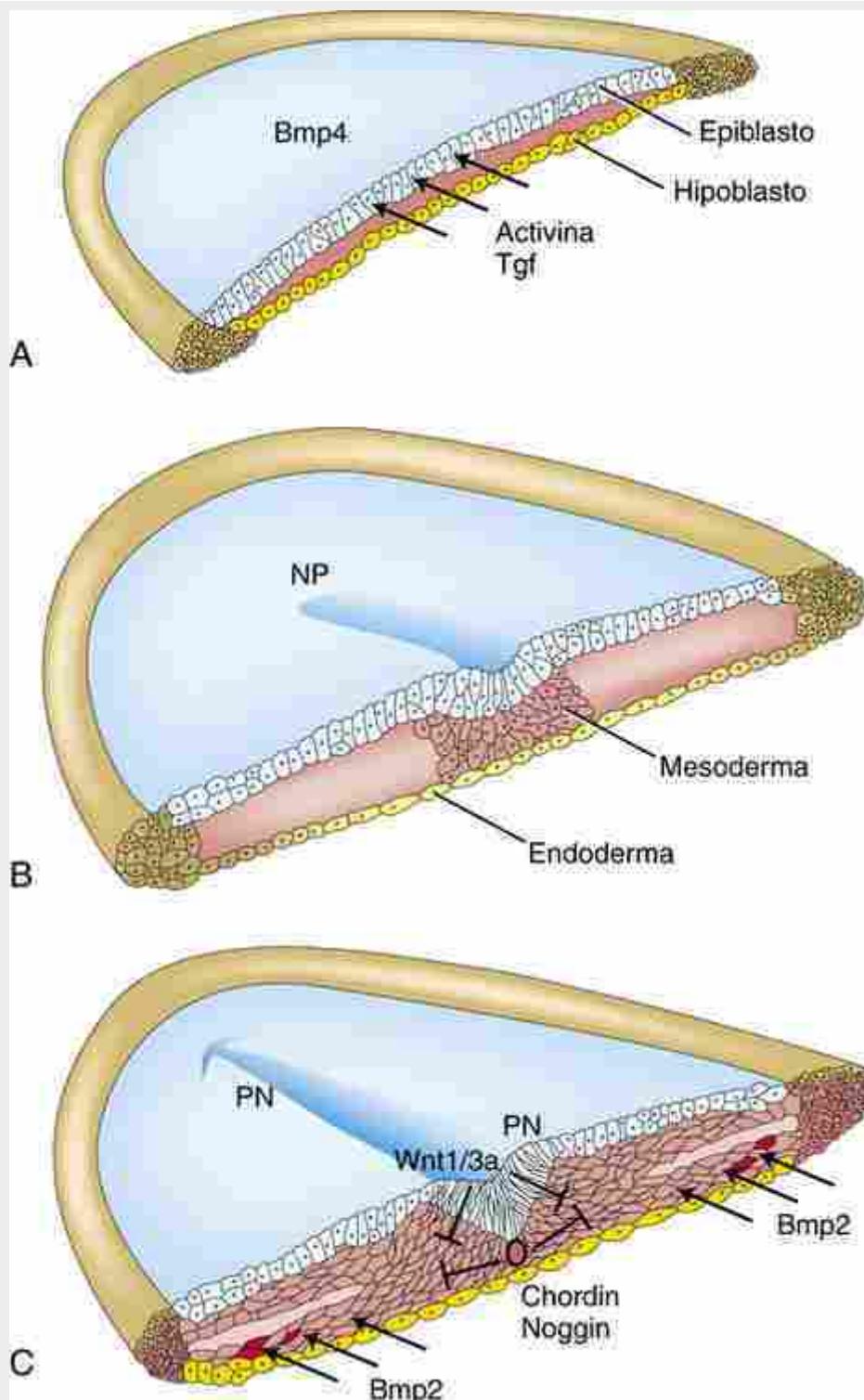


FIGURA 12-2 Indução do primeiro campo cardíaco. A, B, Antes e durante a gastrulação, Tgf β e activina liberadas pelo hipoblasto induzem o potencial cardiógenico em um subgrupo de células do epiblasto e em células mesodérmicas recém-formadas. C, Bmps, liberados do endoderma recém-formado, sinalizam a formação de uma linhagem cardíogenica do mesoderma (células vermelhas), mas sua influencia é limitada ao mesoderma lateral devido à liberação de chordin e noggin da notocorda e de Wnt1/3a do neuroectoderma em formação. PN, prega neural; NP, nó primitivo.

A sinalização de Bmp especifica a linhagem cardíogenica, mas seu efeito no mesoderma é limitado ao mesoderma lateral. Por quê? O motivo é que antagonistas e inibidores de Bmp são liberados dos tecidos da linha média. A notocorda sintetiza e libera *chordin* e *noggin*, duas proteínas que sequestram Bmps e impedem a ligação aos seus receptores (Fig. 12-2C). Se a atividade de *chordin* for inibida no mesoderma paraxial cranial, o mesoderma medial terá a capacidade de formar células cardíacas. Além disso, o ectoderma da placa neural em desenvolvimento libera Wnt1 e Wnt3a, que também antagonizam a sinalização de Bmp. Se a sinalização de Wnt for abolida em embriões de camundongos, serão gerados múltiplos corações. Portanto, devido aos efeitos de

antagonização de *chordin/noggin* e da sinalização de Wnt na sinalização de Bmp, a influência de Bmp no mesoderma é limitada às regiões laterais.

Mas por que a região cardiógenica é limitada à porção cranial do mesoderma lateral? Sabemos que o mesoderma da placa lateral caudal é capaz de responder a sinais de especificação cardíaca: se ele for enxertado na região cranial, será transformado em células cardiógenicas. Conforme discutido anteriormente, Wnt1/Wnt3a e *chordin/noggin* inibem os efeitos de Bmp no mesoderma. Entretanto, outros Wnts (p. ex., Wnt8) expressos no mesoderma cranial e caudal também inibem efeitos de Bmp no mesoderma. Sabendo-se que a sinalização de Bmp é necessária para a formação do mesoderma cardíaco, como pode o Bmp ainda exercer sua influência no mesoderma lateral cranial na presença desses Wnts, mas não na placa lateral caudal? A resposta é que outras moléculas secretadas pelo endoderma cranial antagonizam os efeitos negativos dos Wnts sobre a formação do coração estimulada por Bmp. Tais moléculas incluem as proteínas *secretadas* semelhantes ao *frizzled* (sFrps) que sequestram Wnts e *Dickkopfs* que se ligam e inibem correceptores de Wnt da classe Lrp (*low-density lipoprotein receptor-related protein*) (Fig. 12-3). Consequentemente, na ausência de sinalização de Wnt, o efeito de Bmp é promover a linhagem cardíaca na porção cranial do mesoderma lateral, ao passo que, quando há sinalização de Wnt, o Bmp inicia uma capacidade de formação de vasos sanguíneos na porção caudal do mesoderma da placa lateral. Contudo, recentes estudos sugerem que a sinalização canônica de Wnt tem efeitos bifásicos sobre a cardiógenese, dependendo do momento da ação, promovendo a especificação cardíaca durante a gastrulação, mas, posteriormente, impedindo-a. A sinalização não canônica de Wnt (Wnt5a e Wnt11) também promove cardiógenese.

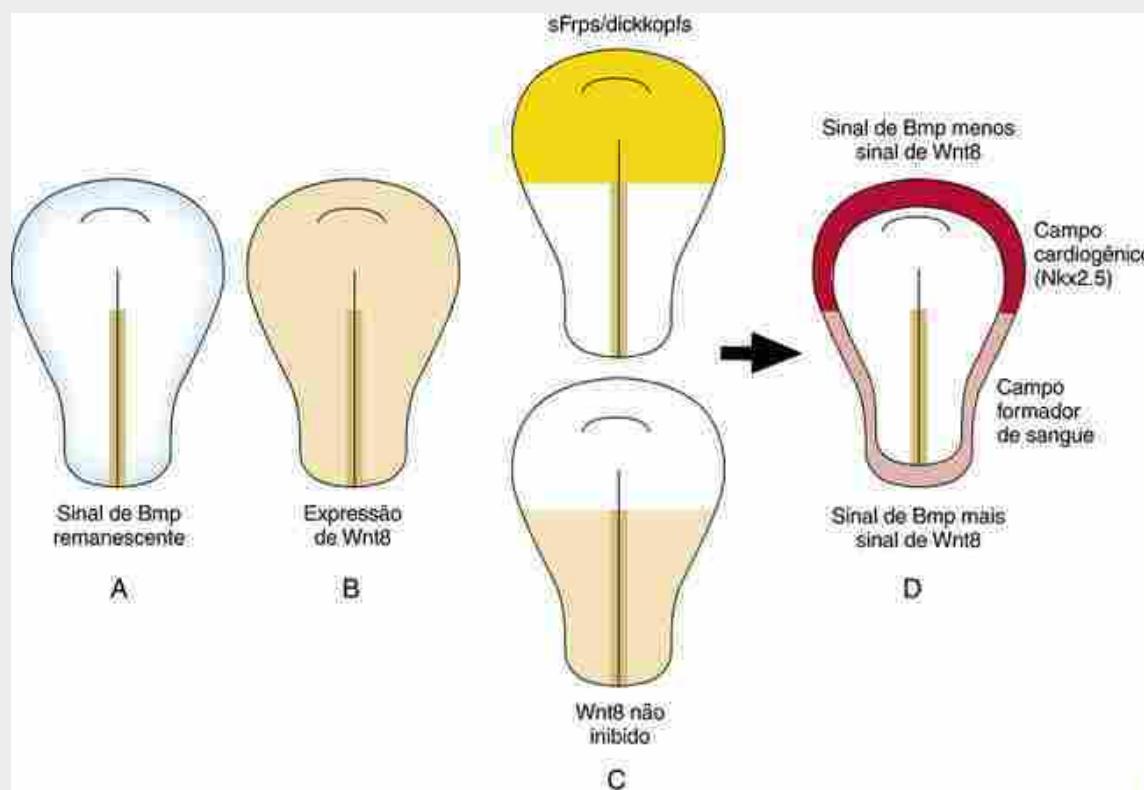


FIGURA 12-3 Especificação regional do mesoderma cardiógenico. A, Padrão de sinalização por Bmp no mesoderma permanecendo depois de ser responsável pela inibição de chordin/noggin e Wnt1/3a. B, Padrão da expressão de Wnt8 no mesoderma. C, Distribuição espacial de proteínas relacionadas ao frizzled secretadas (sFRPs) e expressão de dickkopf (ambos antagonistas de Wnt) no endoderma subjacente, e padrão remanescente da atividade de Wnt8 não inibido no mesoderma. D, Padrão de expressão do marcador cardiógenico Nkx2.5 como resultado da sinalização por Bmp na ausência de inibição de Wnt. Quando há sinalização de Bmp e Wnt8, os campos de formação de sangue são ativados.

Diversos fatores de transcrição cardíaca são ativados no interior do primeiro campo cardíaco. Os fatores de transcrição iniciais com expressão limitada na linhagem cardíaca incluem Nkx2.5, Tbx5 e membros da família Gata. O Nkx2.5 é expresso nas células progenitoras cardíacas logo após o início da gastrulação, sob a influência de Bmp derivado do endoderma. Alvos de Nkx2.5 a jusante incluem vários outros genes cardíacos, como Mef2c, miosina ventricular e Hand1. Um ortólogo humano do NKX2.5 foi mapeado no cromossoma 5q35.2, e mutações nesse gene estão associadas à cardiopatia congênita humana, incluindo defeitos do septo atrial, defeitos do septo ventricular e

defeitos no sistema de condução. Camundongos *knockout* para Nkx2.5 morrem no útero, mas ainda formam coração, embora sem marcadores ventriculares esquerdos, com dobramento incorreto e identidade craniocaudal imperfeita. Portanto, a expressão de Nkx2.5 não é responsável apenas pela determinação da linhagem das células cardíacas. Camundongos nulos para Gata4 têm menos cardiomiócitos. Camundongos sem Gata5 são normais, mas apresentam níveis elevados de Gata4, o que sugere um efeito compensatório para a perda de Gata5. Camundongos nulos para Gata5 que também não têm um dos genes Gata4 apresentam graves defeitos cardíacos, ao passo que camundongos com genes Gata5 normais sem um dos genes Gata4 são normais. Isso sugere que Gata4 e Gata5 agem em conjunto para direcionar a linhagem cardíaca inicial. O Nkx2.5 e os Gatas podem, mutuamente, reforçar a expressão cardíaca de um e de outro, pois cada um deles contém regiões promotoras para o outro.

Em resumo, o programa da especificação cardíaca inicial é bastante flexível, mas requer a existência de morfógenos específicos que forneçam um ambiente permissivo para a especificação da linhagem. Além disso, não foi identificado qualquer fator de transcrição ou molécula que seja unicamente responsável pela codificação da especificação e diferenciação miocárdica. Em vez disso, parece que é necessária uma combinação de fatores agindo em conjunto para especificar, de maneira estável, a linhagem das células cardíacas.

Formação do tubo cardíaco primário

Com a formação do celoma intraembrionário, o mesoderma da placa lateral é subdividido em camadas somática e esplâncnica; o primeiro campo cardíaco se forma no interior da subdivisão do mesoderma esplâncnico. Durante o processo de dobramento corporal (abordado no [Cap. 4](#)), a porção mais cranial do primeiro campo cardíaco é puxada ventral e caudalmente para se situar em posição ventral ao recém-formado endoderma do intestino anterior ([Fig. 12-4](#)). À medida que as dobras corporais laterais se movem medialmente, elas unem os lados direito e esquerdo do primeiro campo cardíaco e os dois braços do primeiro campo cardíaco se fundem na linha média, em posição caudal à dobra da cabeça e ventral ao intestino anterior ([Fig. 12-5A-D](#)). Essa fusão ocorre no local do portal intestinal anterior e avança no sentido cranial-caudal à medida que o tubo do intestino anterior se alonga. À medida que os dois braços do primeiro campo cardíaco se fundem, um par reconhecível de elementos vasculares, denominado **tubos endocárdicos**, se desenvolve no interior de cada braço do primeiro campo cardíaco ([Fig. 12-5B, C](#)). Esses vasos se formam no interior do primeiro campo cardíaco, provenientes de uma população progenitora aparentemente distinta de outros subtipos endoteliais por meio de mecanismos que ainda não são bem entendidos. As células dos tubos endocárdicos se juntam em um único tubo quando os braços do primeiro campo cardíaco se unem para constituir o tubo cardíaco primário ([Fig. 12-5C, D](#)). Se houver falha na fusão dos braços do campo cardíaco primário, serão formadas duas estruturas tubulares em vez de um único tubo cardíaco primário, ocasionando **cárdia bífida** (entretanto, ambos os tubos permanecem, se contraem e continuam a se submeter à cardiogênese, incluindo dobramento; o dobramento é discutido a seguir). O tubo cardíaco primário abriga progenitores dos átrios e do ventrículo esquerdo, e também do endocárdio. À medida que o processo de fusão prossegue, a proliferação celular no primeiro campo cardíaco continua a adicionar mais segmentos caudais ao coração, incluindo o canal atrioventricular, os átrios primitivos e uma porção do seio venoso (a ser abordado posteriormente neste capítulo). No fim da 3^a semana, o dobramento cefálico do corpo leva o tubo cardíaco em desenvolvimento para a região torácica ([Figs. 12-4 e 12-6](#); também discutido nos [Caps. 4 e 11](#)).

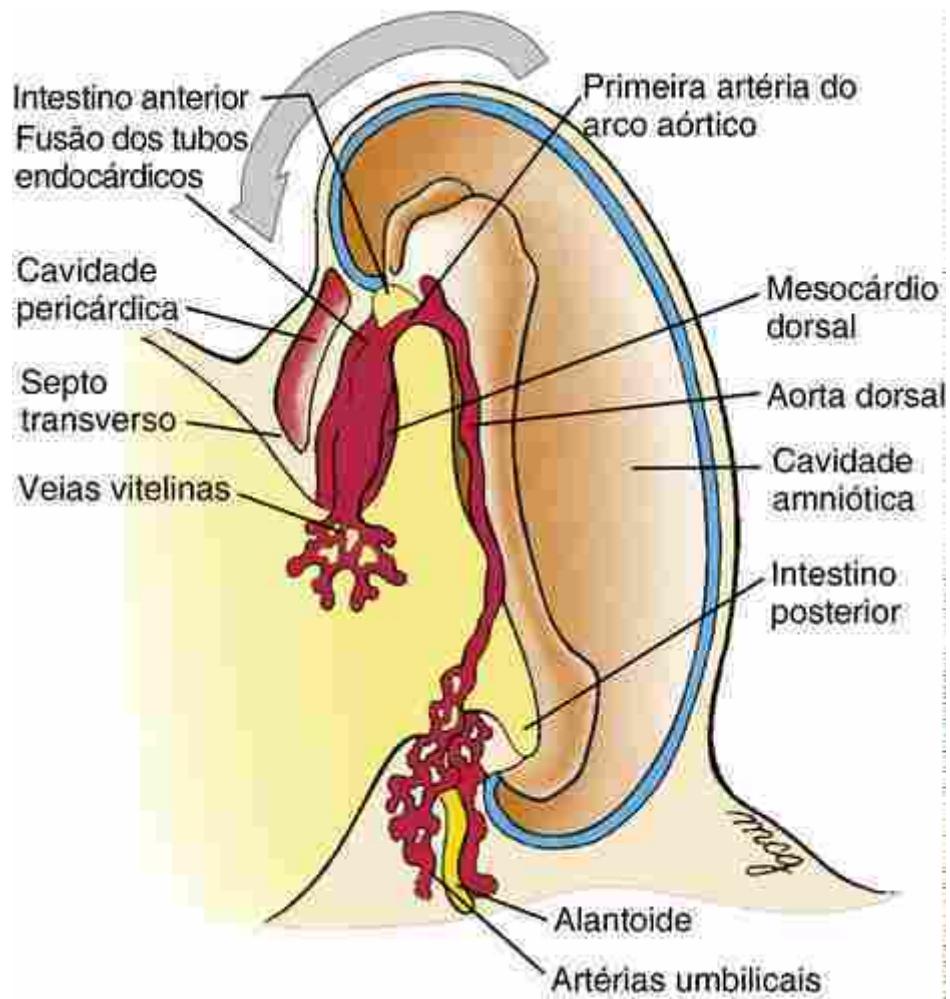


FIGURA 12-4 Formação da primeira artéria do arco aórtico e da aorta dorsal durante a 3^a semana. As aortas dorsais pareadas se desenvolvem no mesoderma dorsal em ambos os lados da notocorda e se conectam aos tubos endocárdicos que estão se fundindo enquanto prossegue o dobramento corporal. Quando a flexão e o crescimento da dobra da cabeça (*grande seta curva*) levam o tubo cardíaco para a região cervical e, em seguida, para a região torácica, as extremidades craniais das aortas dorsais são puxadas ventralmente até formarem uma alça dorsoventral, a primeira artéria do arco aórtico. Uma série de quatro artérias adicionais do arco aórtico se desenvolverá durante a 4^a e a 5^a semanas.

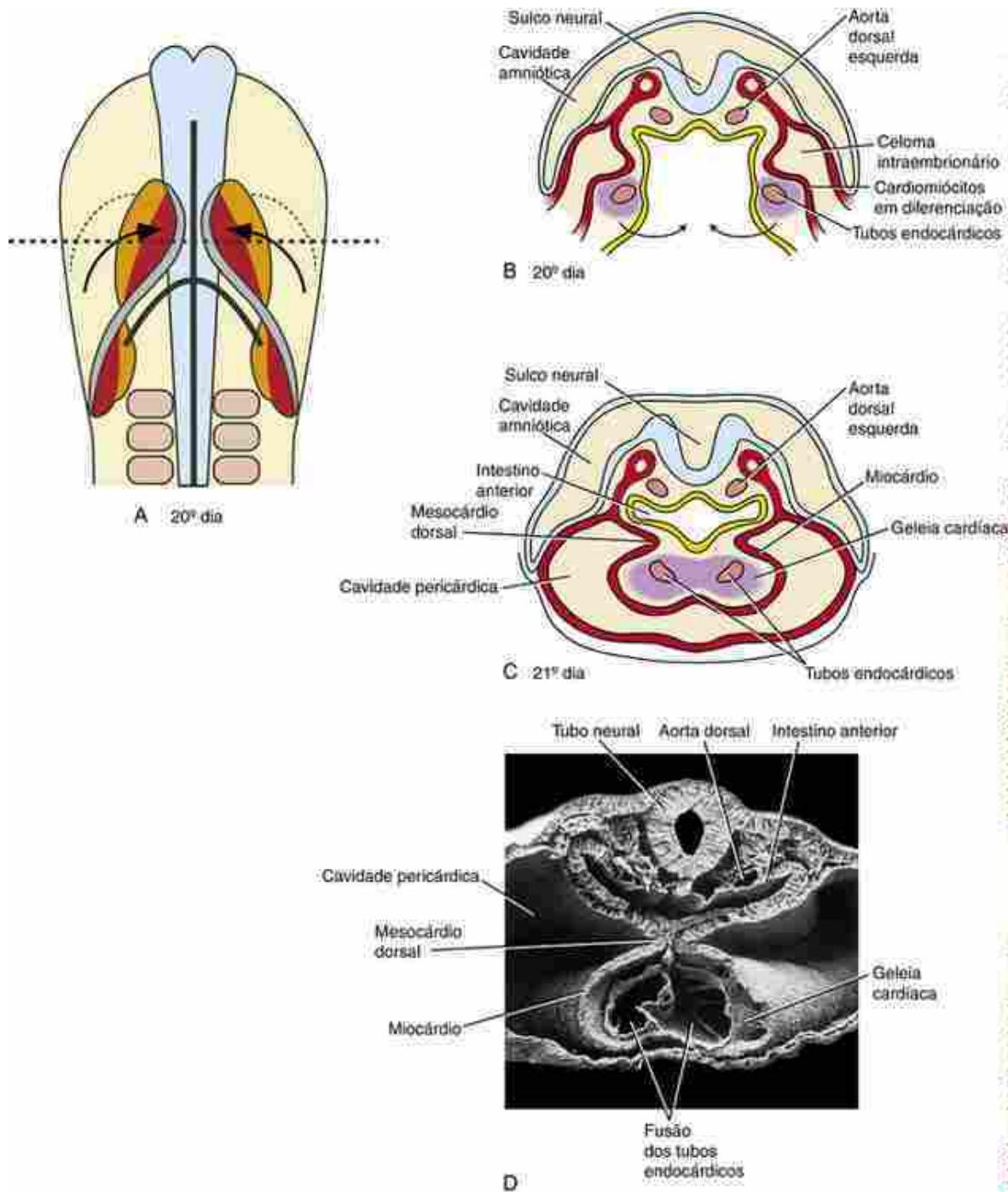


FIGURA 12-5 Formação do tubo cardíaco primário. Durante o processo de dobramento corporal na 3^a semana, a porção mais cranial do primeiro campo cardíaco é puxada ventral e caudalmente para se situar abaixo do intestino anterior recém-formado. *A*, Vista ventral; a linha tracejada horizontal indica o nível das seções ilustradas em *B* e *C*; a linha sólida curva indica o portal intestinal anterior (cranial) do intestino anterior em desenvolvimento; a linha sólida vertical indica a notocorda; vermelho, primeiro campo cardíaco; laranja, segundo campo cardíaco. À medida que as dobras corporais laterais (setas) se fundem na linha média em progressão craniocaudal, elas também unem os lados direito e esquerdo do primeiro campo cardíaco. *B, C*, Desenhos das seções transversais no nível indicado pela linha tracejada em *A*, com *C* em estágio mais avançado do que *B*. *D*, Micrografia eletrônica de varredura de uma seção transversal. Quando os dois braços do primeiro campo cardíaco se fundem, um par reconhecível de elementos vasculares, denominado tubos endocárdicos, se desenvolve no interior de cada braço do primeiro campo cardíaco. Esses tubos endocárdicos se fundem para formar o tubo cardíaco primário.

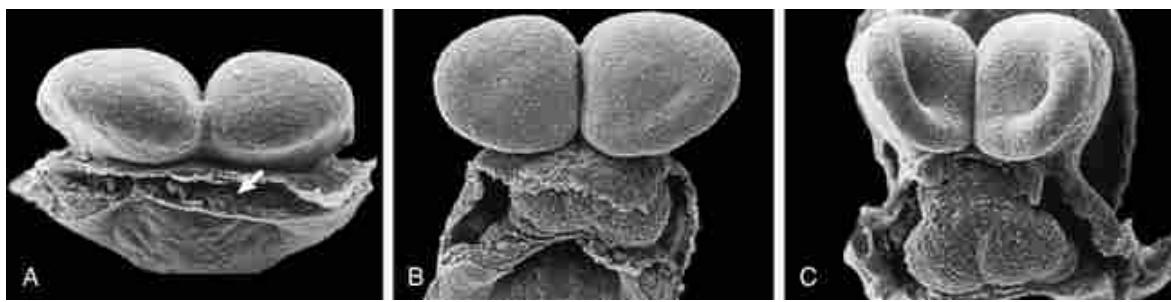


FIGURA 12-6 Micrografias eletrônicas de varredura de embriões de camundongo em desenvolvimento. A-C, O dobramento da cabeça desloca progressivamente os tubos endocárdicos em desenvolvimento de uma região inicialmente cranial à placa neural para a região torácica (seta em A, região cardiógenica).

Entre o 21º e o 22º dia, o tubo endocárdico primitivo é envolvido por uma massa de mesoderma esplâncnico que contém progenitores miocárdicos que se agregam em torno dos tubos endocárdicos fundidos para formar o **miocárdio**. Uma camada espessa de matriz extracelular acelular, a **geleia cardíaca**, é depositada principalmente pelo miocárdio em desenvolvimento, separando-o do tubo endocárdico (Fig. 12-7). O **epicárdio** (revestimento visceral da cavidade pericárdica que cobre o coração) é formado mais tarde por uma população de células mesodérmicas derivadas independentemente do mesoderma esplâncnico que migra para a superfície externa do miocárdio (a ser abordado posteriormente neste capítulo).

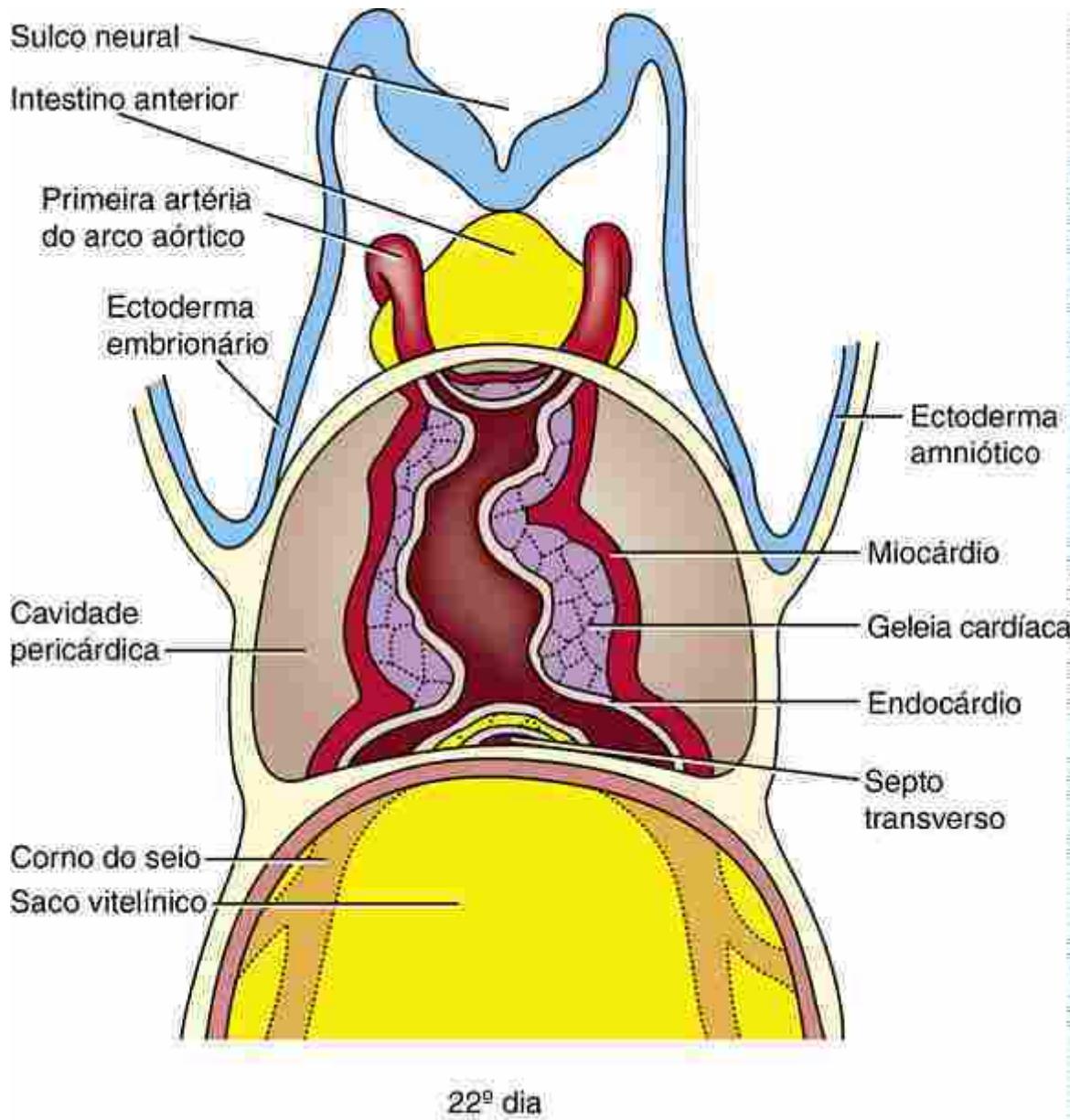


FIGURA 12-7 Composição das paredes do tubo cardíaco primário. Até o 22º dia, o endocárdio do tubo cardíaco primário é revestido por uma camada acelular de geleia cardíaca e uma camada de células miocárdicas. O miocárdio é oriundo de uma massa de mesoderma esplâncnico que envolve o tubo endocárdico. O miocárdio secreta a geleia cardíaca extracelular entre si mesmo e o endocárdio.

Uma série de constrições e expansões se desenvolve no tubo cardíaco primário (Fig. 12-8). Ao longo das próximas 5 semanas, à medida que o coração tubular se alonga, essas expansões irão contribuir para a formação das várias câmaras cardíacas. Começando na extremidade caudal (influxo), o **seio venoso** consiste nos **cornos dos seios** esquerdo e direito parcialmente confluentes, em que as veias cardinais comuns (assunto a ser abordado posteriormente neste capítulo) drenam. Em posição cranial ao seio venoso, a próxima câmara é o **átrio primitivo** (ou **comum**). Este, como resultado da formação subsequente do complexo septal atrial, eventualmente se divide em átrio direito e átrio esquerdo. Estão conectados em série com o átrio o **canal atrioventricular**, o **ventrículo primitivo esquerdo**, o **ventrículo primitivo direito** em desenvolvimento e o **trato de saída**. O ventrículo primitivo esquerdo é separado do ventrículo primitivo direito por uma **prega muscular primária** (anteriormente denominada **prega bulboventricular**) que contribui para a formação do **septo ventricular muscular**. Enquanto os átrios, o canal atrioventricular e o ventrículo esquerdo são amplamente derivados do primeiro campo cardíaco, o mesmo não ocorre com o ventrículo direito e com o trato de saída. Em vez disso, eles são provenientes de uma fonte adicional de células precursoras cardíacas, o **segundo campo cardíaco**. A via de saída forma a região de saída dos ventrículos esquerdo e direito. O trato de saída pode ser subdividido em **trato de saída proximal** (cone arterial) que, eventualmente, é incorporado nos ventrículos esquerdo e direito, e no **trato de saída distal** (tronco arterial), que se divide para formar a aorta ascendente e o tronco pulmonar. A extremidade cranial do trato de saída distal é conectada a uma expansão dilatada denominada

saco aórtico. O saco aórtico é contínuo com a artéria do primeiro arco aórtico e também será com as outras quatro artérias do arco aórtico quando elas se desenvolverem. As artérias do arco aórtico formam grandes artérias que transportam sangue para a cabeça e o tronco (a ser discutido no Cap. 13).

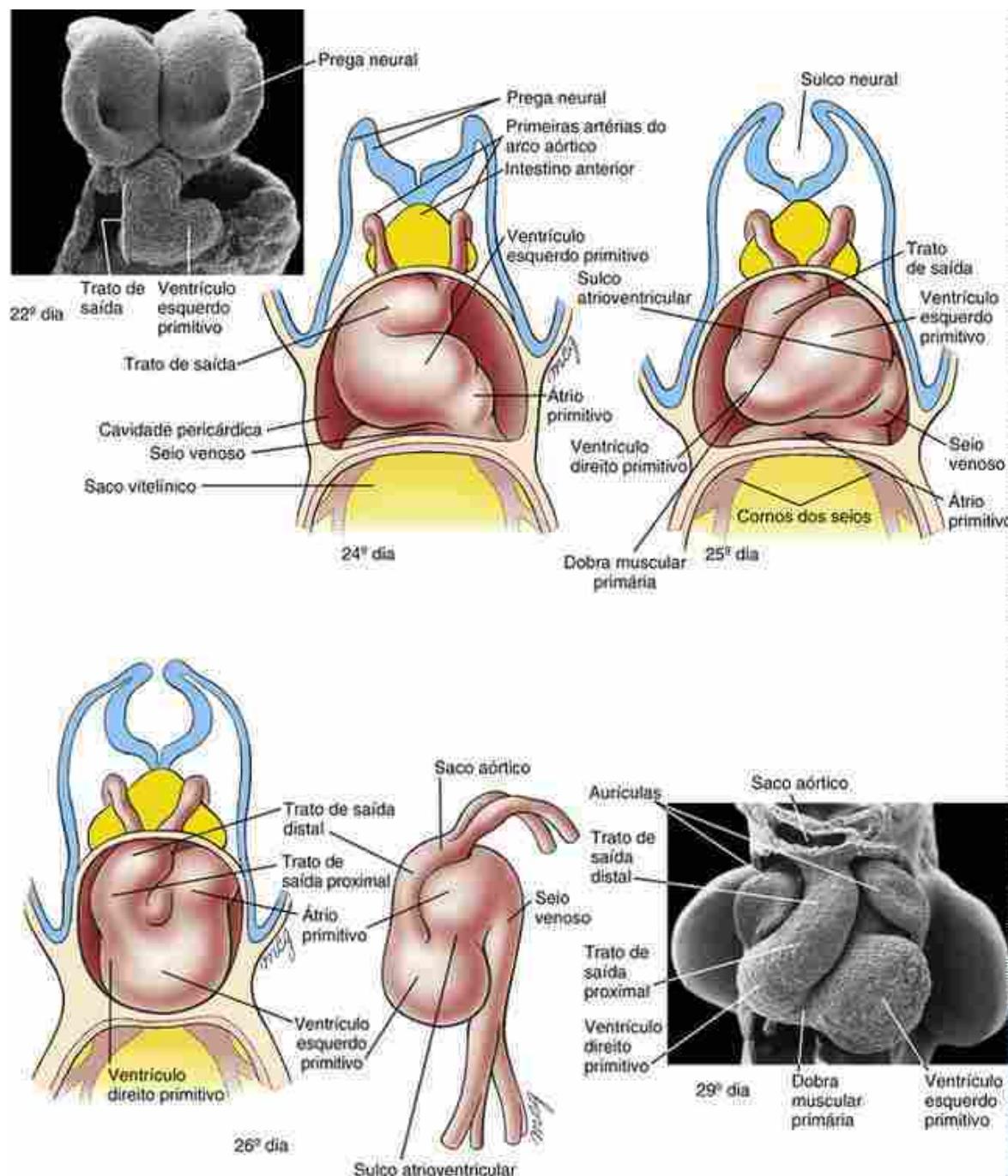


FIGURA 12-8 Regionalização do tubo cardíaco durante seu alongamento. À medida que o tubo cardíaco se alonga e se junta ao segmento de saída, o dobramento do tubo cardíaco reposiciona o trato de saída ventralmente e para a direita, desloca o ventrículo esquerdo primitivo para a esquerda e desloca o átrio primitivo dorsal e cranialmente. A adição de miocárdio na extremidade arterial forma o ventrículo direito e os futuros segmentos proximal e distal do trato de saída. O ventrículo esquerdo primitivo formará o ventrículo esquerdo definitivo e o átrio primitivo irá originar uma porção da parede atrial e as aurículas do coração. Durante esse processo, dobras e sulcos externos profundos distinguem cada vez mais cada segmento do tubo cardíaco.

O tubo cardíaco primário inicialmente é sustentado na cavidade pericárdica em desenvolvimento pelo **mesocárdio dorsal (mesentério dorsal do coração)** formado pelo mesoderma esplâncnico localizada abaixo do intestino anterior. Subsequentemente, esse mesocárdio dorsal se rompe ao longo de quase todo o comprimento do tubo cardíaco, com exceção da face mais caudal, onde um componente pequeno, mas importante, do mesocárdio dorsal permanece. Como

resultado, o coração fica suspenso na cavidade pericárdica por seus polos arterial e venoso em desenvolvimento, e a região do mesocárdio dorsal rompido torna-se o **seio transverso do pericárdio** no interior do saco pericárdico do coração definitivo (Fig. 12-9). Às vezes, são passadas ligaduras através desse espaço e em torno dos vasos em qualquer um dos polos para controlar o fluxo sanguíneo em crianças ou adultos submetidos à cirurgia.

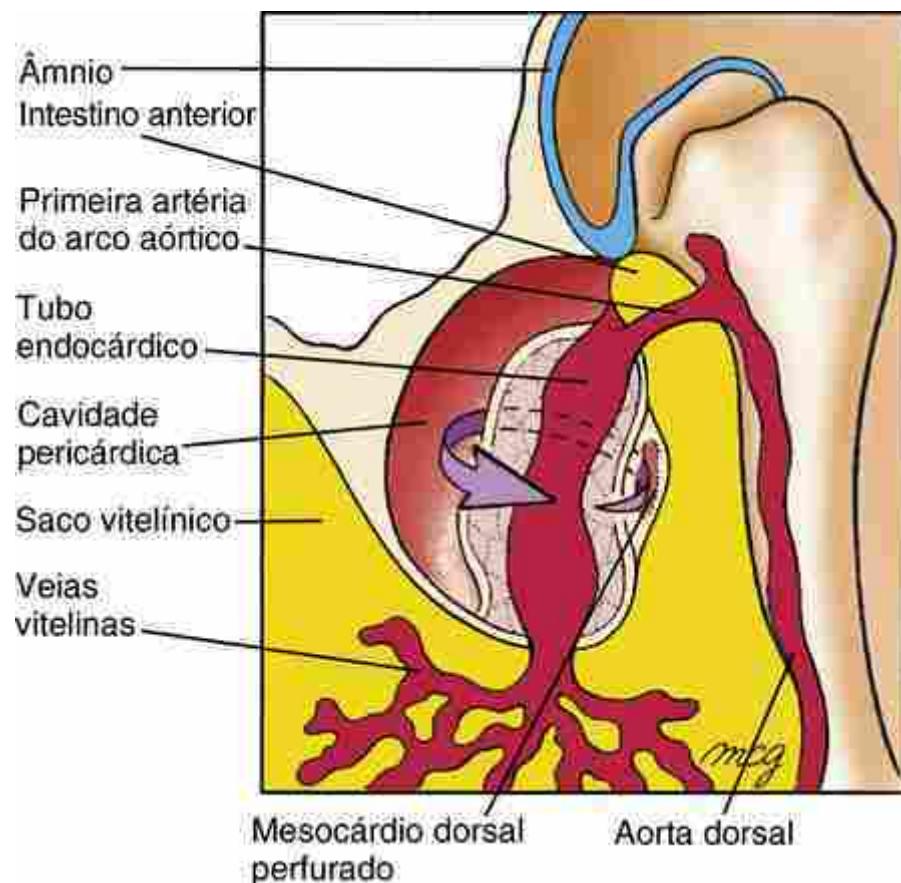


FIGURA 12-9 Formação do seio pericárdico transverso da cavidade pericárdica definitiva por ruptura do mesocárdio dorsal no início da 4^a semana. A seta atravessa o seio pericárdico transverso.

Conforme observado anteriormente, nem todas as células cardíacas encontradas no coração maduro são provenientes do primeiro campo cardíaco. Em vez disso, fontes adicionais de precursores cardiogênicos são recrutadas do mesoderma imediatamente adjacente e medial ao crescente cardíaco inicial (Fig. 12-10). Enquanto o tubo cardíaco primário continua a se expandir, ocorre o contínuo recrutamento de células progenitoras cardíacas de fora do primeiro campo cardíaco original, nos polos arterial (cranial) e venoso (caudal). A fonte dessas células é denominada **segundo campo cardíaco**. O tubo cardíaco primitivo se alonga em ambas as extremidades, particularmente na extremidade de saída (arterial), pela adição de progenitores cardíacos do mesoderma do segundo campo cardíaco. Estudos de rastreamento de linhagem sugerem que, nos mamíferos, os tratos de saída proximal e distal, o ventrículo direito e uma porção do polo venoso e dos átrios são originários do mesoderma do segundo campo cardíaco (Fig. 12-10D).

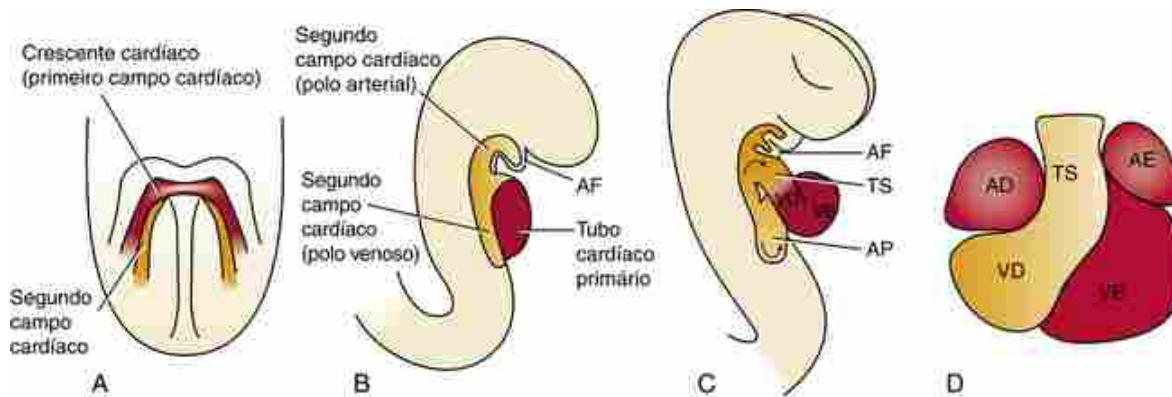


FIGURA 12-10 A segunda origem de progenitores cardiológicos para o coração, o segundo campo cardíaco (mostrado em laranja em A-D). A, Local do segundo campo cardíaco em relação ao primeiro campo cardíaco antes do dobramento corporal. O segundo campo cardíaco está localizado no mesoderma esplâncnico em posição medial e ligeiramente caudal ao primeiro campo cardíaco (primeiro campo cardíaco mostrado em vermelho). B, Depois da formação do tubo cardíaco primário, o segundo campo cardíaco fica localizado em posição dorsal ao mesocárdio dorsal e percorre o eixo craniocaudal. C, Com a ruptura do mesocárdio dorsal, o segundo campo cardíaco é dividido em um segmento caudal, responsável pela união ao polo venoso do coração e em um segmento cranial, responsável pelo alongamento do tubo cardíaco no polo arterial. D, Vista ventral do coração dobrado mostra as contribuições do primeiro e do segundo campos cardíacos (contribuições do segundo campo cardíaco para os átrios não são visíveis nesta vista). AE, átrio esquerdo; VE, ventrículo esquerdo; TS, trato de saída; AP, átrio primitivo; AF, arco faríngeo; AD, átrio direito; VD, ventrículo direito.

No Laboratório de Pesquisa

Função do segundo campo cardíaco na formação do segmento do trato de saída do coração

Células do primeiro e do segundo campos cardíacos podem surgir de um precursor comum estabelecido antes do estágio de crescente cardíaco (provavelmente durante o início da gastrulação). Estudos recentes sugerem que progenitores do segundo campo cardíaco se situam em posição medial e ligeiramente caudal ao primeiro campo cardíaco, no interior do mesoderma da placa lateral (Figs. 12-1 e 12-10). Assim como o primeiro campo cardíaco, o segundo campo cardíaco está sujeito às influências dos Bmps e Fgfs liberados pelo endoderma do intestino anterior (faríngeo) que ativam fatores de transcrição cardiológicos. Entretanto, a localização mais medial do segundo campo cardíaco, no estágio de crescente cardíaco, também posiciona essas células mais perto da influência negativa dos Wnts e de *chordin/noggin* oriundos da notocorda e da placa neural em desenvolvimento (Figs. 12-2 e 12-10). A manifestação da linhagem das células cardíacas no interior do segundo campo cardíaco provavelmente é suspensa até que o tubo cardíaco primário seja formado e a distância entre o segundo campo cardíaco e o tubo neural/notocorda na linha média seja aumentada. Portanto, as células do segundo campo cardíaco podem não representar uma linhagem cardiológica diferente da do primeiro campo cardíaco.

À medida que os dois braços do crescente cardíaco se movimentam para a linha média durante a fusão, as células do segundo campo cardíaco entram em contato com a superfície dorsal do tubo cardíaco primário (futura curvatura interna do coração) e se localizam nas extremidades cranial e caudal do mesocárdio dorsal em desenvolvimento (Fig. 12-10B,C). Depois que as células do segundo campo cardíaco ficam situadas ventralmente com relação ao intestino anterior, a expressão de Nkx2.5 e Gata4 aumenta no segundo campo cardíaco (Fig. 12-11). As células do segundo campo cardíaco situadas cranialmente com relação ao fluxo de saída arterial do tubo cardíaco e ventralmente com relação ao endoderma faríngeo em desenvolvimento assumem uma identidade ventricular *direita*, ao passo que as células mais caudais com relação ao fluxo de saída arterial contribuem para a formação da parede dos tratos de saída proximal e distal. As células situadas na extremidade de influxo do tubo cardíaco fornecem células miocárdicas para a parede dos átrios, para o septo atrial e para o seio venoso. A principal parte do alongamento do tubo cardíaco se origina de uma proliferação no interior do segundo campo cardíaco no polo arterial.

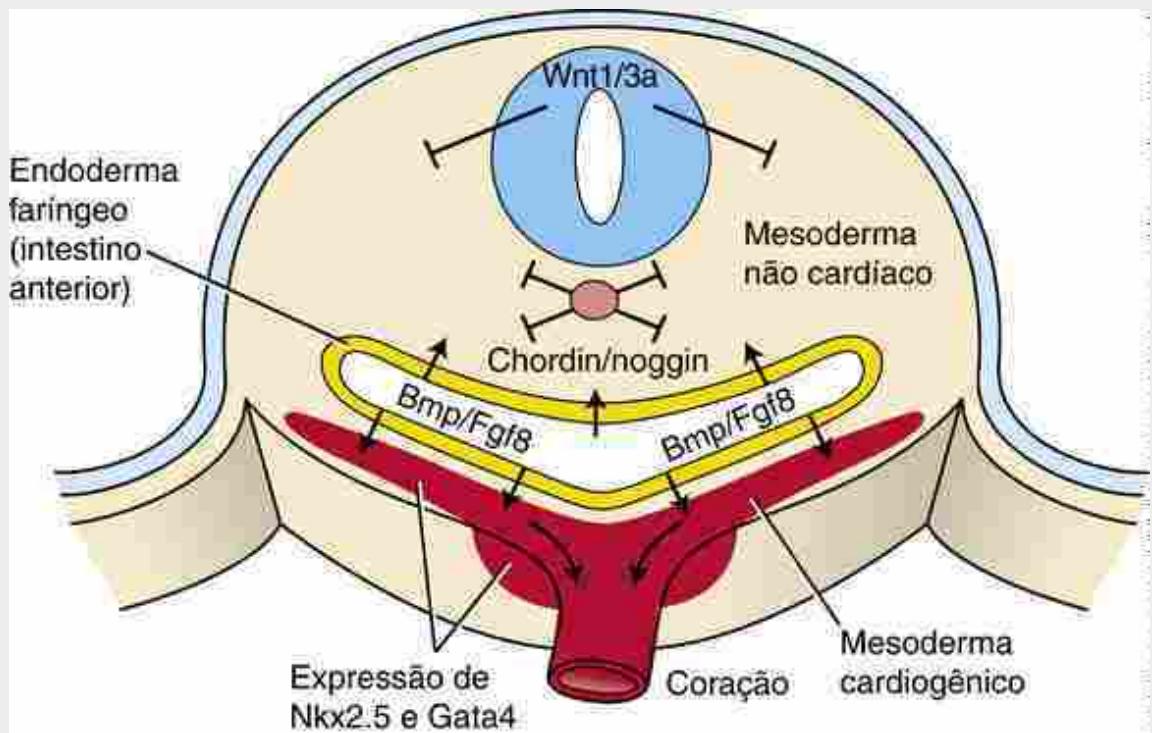


FIGURA 12-11 Papel dos fatores de crescimento no alongamento do tubo cardíaco pelo segundo campo cardíaco. A especificação dos precursores cardíacos no segundo campo cardíaco é semelhante à do primeiro campo cardíaco. O efeito de promoção cardiogênica de Bmp e Fgf8 liberado pelo endoderma no mesoderma esplâncnico não é mais antagonizado depois da formação do intestino anterior por Wnts e chordin/noggin liberados pelos tecidos da linha média. Como resultado, o mesoderma cardiogênico do segundo campo cardíaco começa a expressar marcadores cardíacos (p. ex., Nkx2.5 e Gata4), prolifera e estimula o alongamento do tubo cardíaco.

Mutações genéticas direcionadas ao primeiro e ao segundo campos cardíacos

Mutações em genes específicos revelam sensibilidades regionais do miocárdio que refletem a origem dos progenitores dos seus cardiomiócitos. Por exemplo, em camundongos com deficiência de Tbx5 (Tbx5 é um membro da família de transcrição T-box que é expresso no tubo cardíaco primário), o átrio é anormal e o ventrículo esquerdo é hipoplásico. Ainda assim, o ventrículo direito e o trato de saída parecem normais, sugerindo que essa mutação seja direcionada principalmente à proliferação e ao desenvolvimento de células do primeiro campo cardíaco. Isl1 é expresso no segundo campo cardíaco. Camundongos nulos para Isl1 tipicamente desenvolvem somente duas câmaras cardíacas: os átrios e o ventrículo esquerdo. Não há trato de saída, marcadores do ventrículo direito não são expressos e o miocárdio atrial posterior é hipoplásico. Fgf8 é expresso no ectoderma e no endoderma faríngeo próximos ao polo arterial do tubo cardíaco. A sinalização de Fgf8 adequada no interior do segundo campo cardíaco é necessária para a proliferação contínua das células craniais do segundo campo cardíaco no polo arterial. Hipomorfos de Fgf8 (um embrião com uma mutação que causa perda de função parcial, ou seja, a expressão de Fgf8 no hipomorfo é diminuída – *knocked down* –, mas não é eliminada por completo) morrem como resultado do desenvolvimento anormal do trato de saída. O Tbx1 (perdido na síndrome de deleção de 22q11.2), fator de transcrição expresso no segundo campo cardíaco, interage geneticamente com Fgf8. Novamente, a perda da expressão de Tbx1 no segundo campo cardíaco reduz o número de células miocárdicas no trato de saída e no ventrículo direito, enquanto a superexpressão forçada de Tbx1 no segundo campo cardíaco causa expansão do trato de saída. Por esses estudos, fica claro que, além do primeiro campo cardíaco, uma grande parte do tubo cardíaco definitivo surge do segundo campo cardíaco. Várias outras moléculas de sinalização e fatores de transcrição desempenham funções importantes na mediação da proliferação contínua ou na sobrevivência de células do segundo campo cardíaco, incluindo Shh, Wnts canônicos, Pdgf, ácido retinoico e receptores de ácido retinoico, Mef2c, Msx1, Msx2, Hand2, Tbx18, Shox2, Foxa2, Foxc1 e Foxc2. Quando o alongamento do tubo cardíaco está concluído, os estudos sugerem que as células mesodérmicas craniais do segundo campo cardíaco nos arcos faríngeos podem ativar um programa de músculo esquelético branquiomérico (discutido no Cap. 17). O alongamento do tubo cardíaco pelo segundo campo cardíaco desempenha um importante papel no dobramento e na septação adequados do coração.

Dobramento ou *looping* cardíaco

No 23º dia, o tubo cardíaco primário começa, simultaneamente, a se alongar e a se curvar em uma estrutura com formato de C, e a curvatura se estende na direção do lado direito. A formação dessa curvatura não tem a finalidade de simplesmente formar uma torção no tubo, com o lado direito do coração tubular tornando-se a curvatura externa e o lado esquerdo formando a curvatura interna. Em vez disso, parece que a superfície ventral do tubo cardíaco primário forma a curvatura externa direita do coração em formato de C, uma vez que essa superfície ventral é deslocada para a direita por forças de torção exercidas ao longo do eixo craniocaudal ([Fig. 12-12](#)). Com a ruptura do mesocárdio dorsal, uma grande parte do lado dorsal do tubo cardíaco primário linear fica situada na curvatura interna do coração em formato de C. À medida que o tubo cardíaco continua a se alongar nos polos arterial e venoso, ele assume uma configuração em formato de S. No processo, o ventrículo direito primitivo é deslocado caudalmente, ventralmente e para a direita; o ventrículo esquerdo primitivo é deslocado para a esquerda. O átrio primitivo adquire uma posição mais dorsal e cranial ([Fig. 12-13](#); também a [Fig. 12-8](#)). Até o 28º dia, o alongamento do tubo cardíaco está concluído, mas continua a haver remodelação adicional, de modo que o trato de saída fique situado entre os futuros átrios e o canal atrioventricular se alinhe com ambos os ventrículos ([Fig. 12-8](#)). O resultado final do dobramento cardíaco é conduzir as quatro futuras câmaras do futuro coração à relação espacial correta entre elas. O restante do desenvolvimento do coração consiste, principalmente, na remodelação dessas câmaras, no desenvolvimento dos septos e válvulas adequadas entre elas e na formação do epicárdio, da vasculatura coronária, da inervação cardíaca e do sistema de condução.

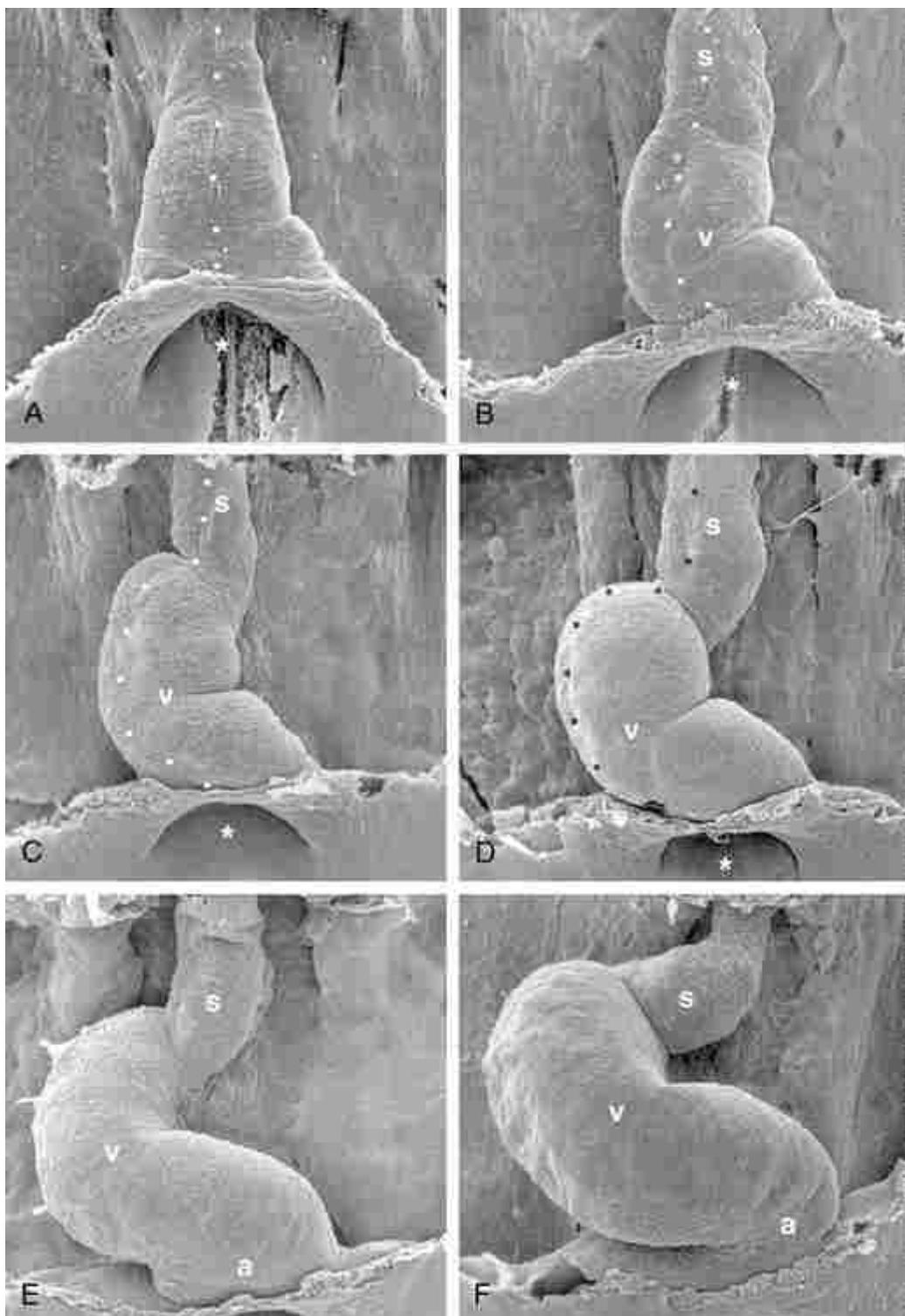


FIGURA 12-12 Micrografias eletrônicas de varredura mostrando o dobramento do tubo cardíaco do embrião da galinha em vistas ventrais (o endoderma foi removida). A, B, Mostram o tubo cardíaco primário pouco antes do dobramento evidente. A linha média ventral do tubo cardíaco primário é marcada pela *linha pontilhada*. C-F, O dobramento cardíaco é dirigido, em parte, pelo alongamento cardíaco proveniente do segundo campo cardíaco. O dobramento para a direita é acompanhado de torção, de modo que a superfície ventral original do tubo cardíaco primário se torna a curvatura externa do coração já dobrado. Essas forças ajudam a dirigir a formação da prega muscular primária. Várias regiões cardíacas são facilmente identificáveis durante esse processo, incluindo o átrio (a), o trato de saída (s) e o ventrículo primitivo esquerdo (v). Os asteriscos demarcam o portal intestinal anterior

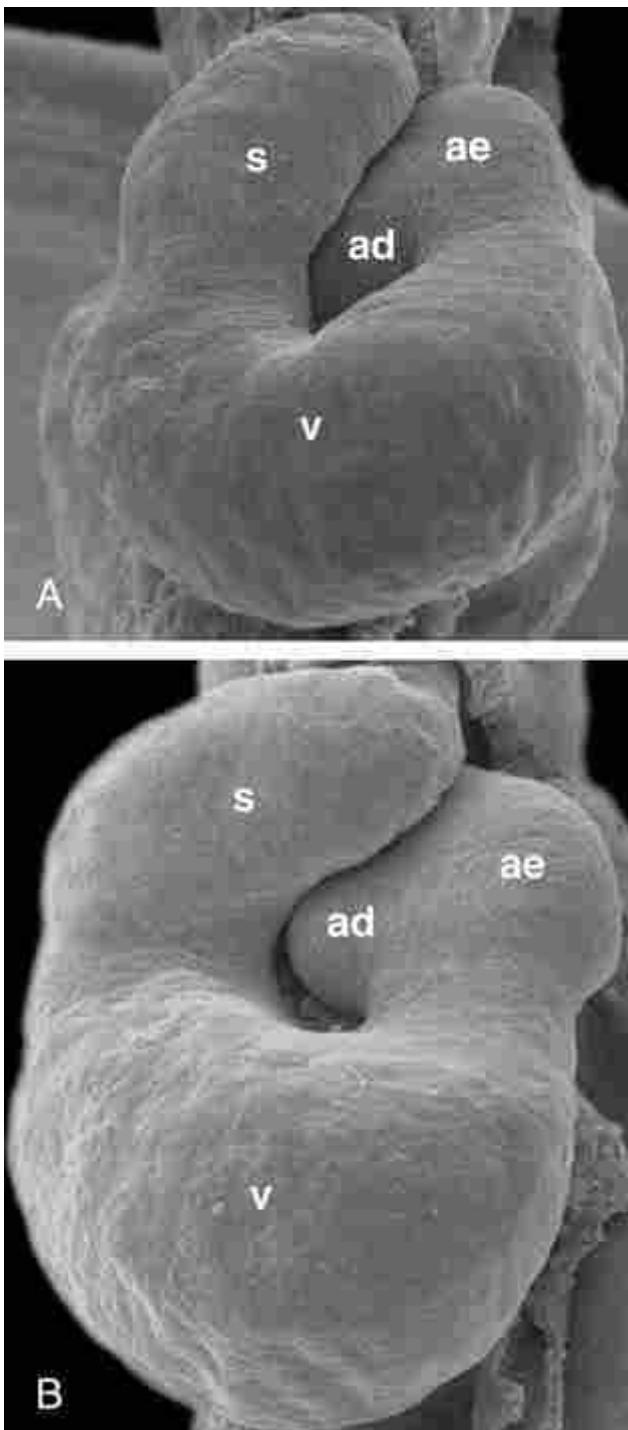


FIGURA 12-13 Micrografias eletrônicas de varredura mostrando estágios tardios do dobramento do tubo cardíaco do embrião da galinha. *A, B*, Posição e morfologia das regiões do coração em estágios progressivamente mais tardios do dobramento cardíaco. Vista ventral do trato de saída (s), ventrículo não septado (v), átrio direito não septado (ad) e átrio esquerdo (ae) mostrando suas posições anatômicas relativas perto do final do dobramento cardíaco. Os polos atrial e venoso agora são adjacentes um ao outro e o trato de saída está se movendo para a esquerda e em posição ventral aos átrios.

Na Clínica

Lateralidade no dobramento cardíaco

Conforme discutido no [Capítulo 3](#), a determinação anormal do eixo esquerdo-direito pode levar ao desenvolvimento de **heterotaxia** (com uma incidência estimada de 3 em cada 20.000 nascimentos). Esse termo, às vezes, é usado para descrever qualquer defeito atribuído à formação anormal do eixo esquerdo-direito, seja a inversão de alguns órgãos (*situs ambiguus parcial*) ou a inversão de todas as vísceras (*situs inversus totalis*). Em

relação ao coração, isso pode incluir o dobramento anormal, resultando em **inversão ventricular** (Fig. 12-14). O dobramento apropriado para a direita é um pré-requisito para a septação cardíaca adequada, da mesma maneira que ele é necessário para levar o ventrículo esquerdo primitivo para a esquerda, o ventrículo direito primitivo para a direita e a região do trato de saída para o meio. Como indivíduos com *situs inversus totalis* apresentam uma inversão na lateralidade de todos os órgãos, eles têm alguns poucos problemas. Por outro lado, a **síndrome de heterotaxia visceroatrial** em seres humanos (em que as vísceras abdominais e o polo atrial são orientados em lados opostos) está associada a defeitos estruturais, incluindo um átrio comum, o desalinhanamento do canal atrioventricular e do trato de saída e conexões vasculares anormais.

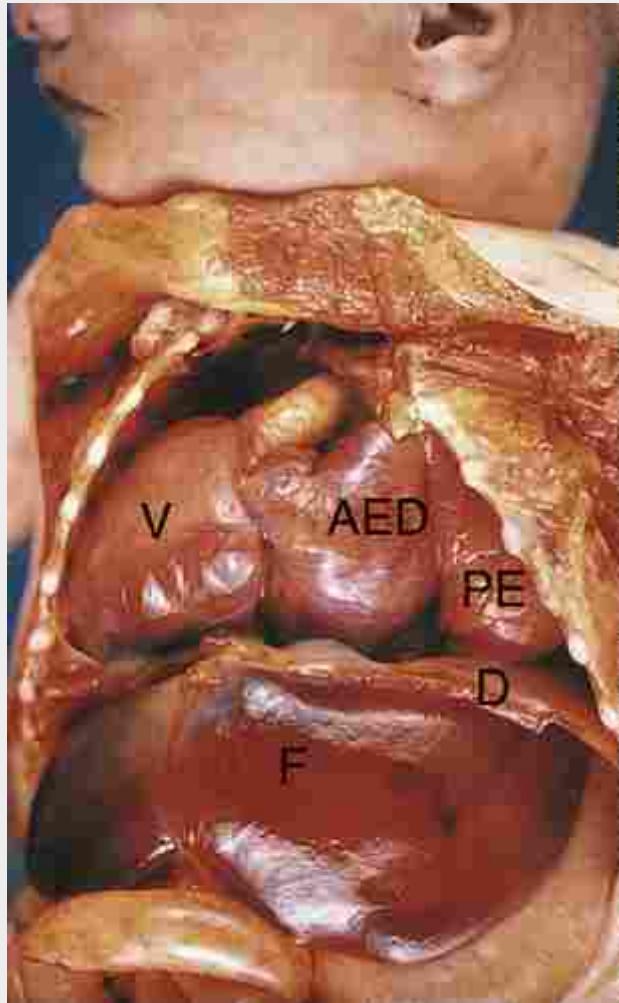


FIGURA 12-14 Criança com inversão ventricular, quadro em que o dobramento do tubo cardíaco é invertido com relação ao seu padrão esquerdo, produzindo um coração que tem seu ápice em posição inferior e para o lado direito (e não para o esquerdo). D, diafragma; AED, átrio esquerdo dilatado; F, fígado; PE, pulmão esquerdo; V, ventrículo.

Além do *situs inversus*, a indefinição da formação do eixo esquerdo-direito pode fazer com que os dois lados assumam a mesma identidade lateral, esquerda ou direita, denominada isomerismo. Por exemplo, na condição chamada isomerismo atrial direito, ambos os átrios apresentam morfologia atrial direita. De modo semelhante, no isomerismo pulmonar esquerdo, ambos os pulmões apresentam a anatomia lobar e hilar do pulmão esquerdo.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos que levam à curvatura e ao dobramento (*looping*) cardíaco

O dobramento cardíaco envolve dois processos principais: o estabelecimento da direcionalidade do dobramento e a execução das etapas biomecânicas que estimulam o próprio dobramento. A direcionalidade do dobramento reflete a assimetria esquerda-direita estabelecida mais cedo, na gastrulação (abordada no Cap. 3), que é superposta aos

mecanismos morfogênicos do dobramento cardíaco. De fato, a curvatura inicial do tubo cardíaco para o formato de C é a primeira evidência morfológica da assimetria embrionária esquerda-direita.

Os mecanismos exatos que estimulam a curvatura inicial e o dobramento contínuo do tubo cardíaco até o formato de S ainda não são claros, mesmo tendo sido feitos esforços consideráveis para a identificação das forças responsáveis pelo processo. Em uma época, foi sugerido que esses processos ocorrem simplesmente porque o tubo cardíaco, estando ancorado em ambas as extremidades, supera em comprimento a cavidade pericárdica primitiva e é forçado a se curvar e dobrar. Entretanto, corações retirados de animais experimentais e mantidos em cultura demonstram uma capacidade intrínseca de curvar, provavelmente em virtude de modificações ativas no formato das células causadas por forças da polimerização de actina. Todavia, os corações retirados não apresentam a torção para o lado direito, sugerindo que forças externas ao tubo cardíaco primário a estimulem. Manipulações experimentais em embriões de galinha sugerem que o crescimento assimétrico no interior dos átrios primitivos e da esplancnopleura ventral anexa proporciona as forças de torção que estimulam o deslocamento do coração para a direita, enquanto o mesocárdio dorsal restringe esse movimento no lado dorsal, resultando, portanto, na curva com formato de C. Outros modelos sugerem que os remanescentes do mesocárdio dorsal sofram encurtamento e forcem o tubo cardíaco a se curvar. No entanto, o tubo cardíaco primário apresenta sinais de curvatura antes da ruptura do mesocárdio dorsal. Alternativamente, antes da ruptura, o mesocárdio dorsal pode exercer uma tensão sobre a futura curvatura interna, proporcionando a força de estímulo biomecânica necessária para a curvatura. Finalmente, a proliferação celular e o crescimento assimétricos no interior do segundo campo cardíaco cranial também podem gerar forças de torção necessárias para a geração da curva em forma de C.

Formação dos vasos sanguíneos primitivos associados ao tubo endocárdico

Muitos dos principais vasos do embrião, incluindo as aortas dorsais pareadas, se desenvolvem ao mesmo tempo que o tubo endocárdico. Os vasos de entrada e saída do futuro coração têm conexões com o endocárdio do tubo cardíaco primário mesmo antes que este tubo seja deslocado para o interior do tórax. As **aortas dorsais** pareadas, que formam os vasos de saída primários do coração, se desenvolvem no mesênquima dorsal do disco embrionário em ambos os lados da notocorda. Quando a flexão e o crescimento da dobra da cabeça levam o tubo cardíaco para a região cervical e, em seguida, para a região torácica, as extremidades craneais das aortas dorsais são puxadas ventralmente até formarem uma alça dorsoventral, o **primeiro par de artérias do arco aórtico** (Figs. 12-4, 12-7, 12-8, 12-9 e 12-15). Uma série de quatro artérias adicionais do arco aórtico se desenvolve durante a 4^a e a 5^a semanas, juntamente com os arcos faríngeos mesenquimais (discutido nos Caps. 13 e 17). Além disso, a flexura craniocaudal facilita o dobramento cardíaco, ao aproximar os polos venoso (seio venoso) e arterial (trato de saída distal e saco aórtico) em um processo denominado **convergência**.

Seis vasos, três de cada lado (Fig. 12-15), inicialmente fornecem o fluxo de entrada para o coração. O sangue venoso do corpo do embrião entra no coração através de um par de troncos curtos, as **veias cardinais comuns**, que são formadas pela confluência das **veias cardinais posteriores** pareadas, que drenam o tronco, e as **veias cardinais anteriores**, que drenam a região da cabeça (Fig. 12-15). Um par de **veias vitelinas** drena o saco vitelino e um par de **veias umbilicais** fornece sangue oxigenado ao coração, vindo da placenta. O sistema venoso embrionário é discutido no Capítulo 13.

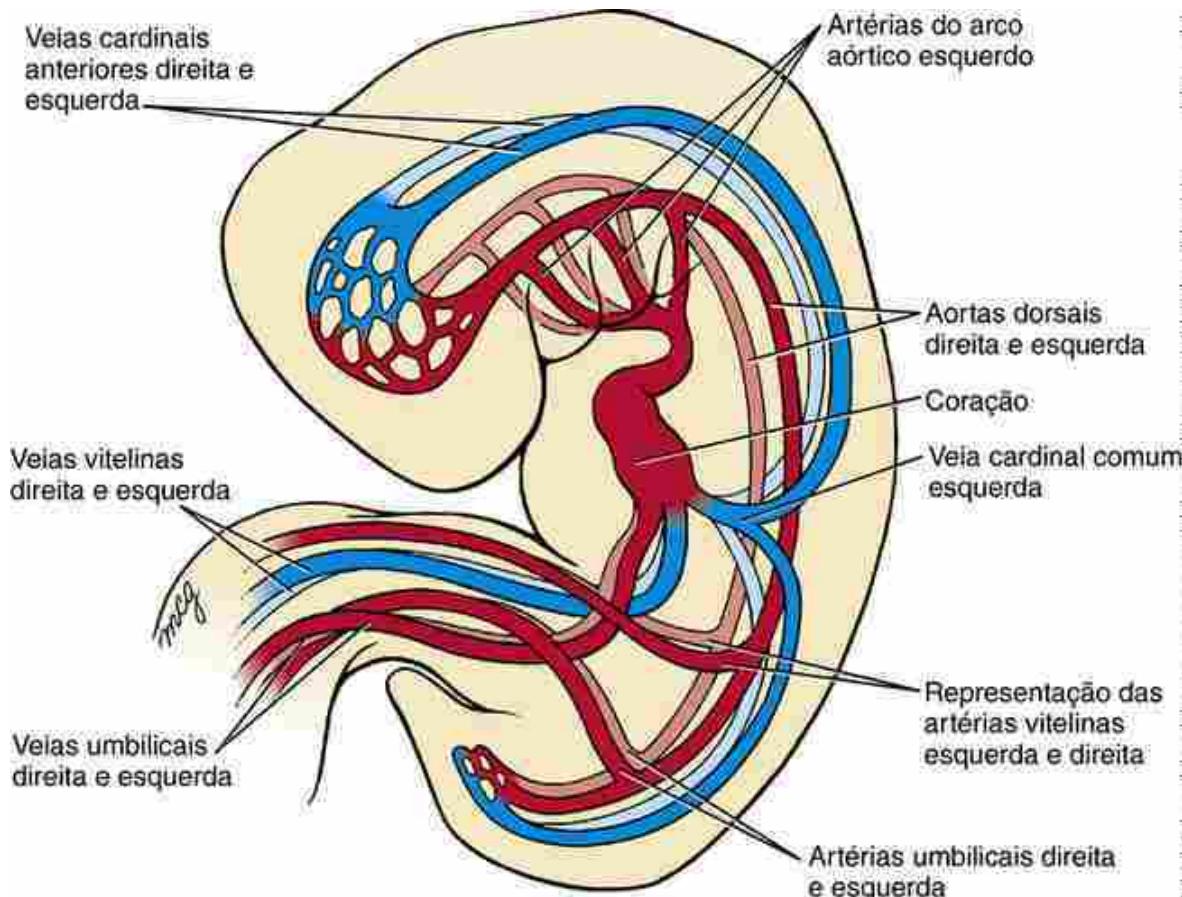


FIGURA 12-15 Representação esquemática do sistema vascular embrionário no meio da 4^a semana. O coração começou a bater e a circular sangue. O trato de saída agora está conectado aos três pares de artérias do arco aórtico e às aortas dorsais pareadas que循circulam sangue para a cabeça e o tronco. Três pares de veias — umbilicais, vitelinas e cardinais — fornecem sangue à extremidade de influxo do coração.

No Laboratório de Pesquisa

As sub-regiões do coração são especificadas no início do desenvolvimento

As câmaras do coração são distintas em termos de desenvolvimento, eletrofisiologia e farmacologia. Como essa regionalização se desenvolve no interior de um único tubo cardíaco? Estudos de mapeamento de destino mostram que as células progenitoras cardíacas do interior do epiblasto são topologicamente organizadas de modo que os progenitores do influxo cardíaco são localizados mais lateralmente, e os progenitores do fluxo de saída se situam mais medialmente. Por isso, durante o processo de gastrulação, essa orientação é convertida em uma topografia craniocaudal (arterial/venosa) até o estágio do crescente cardíaco. As células do interior do primeiro campo cardíaco ainda têm uma certa plasticidade com relação à especificação da câmara: se o tecido progenitor cardíaco caudal for substituído por cardiogênico cranial, serão gerados corações normais. Entretanto, logo depois o comprometimento em câmaras particulares se evidencia pela expressão de reguladores específicos da câmara.

A regionalização do coração provavelmente resulta da existência de pelo menos duas áreas cardíacas separadas no interior do primeiro campo cardíaco. Em camundongos, a análise clonal sugere que a região atrial se torna clonalmente distinta (ou seja, clones das células progenitoras tornam-se restritos a um único compartimento) antes do restante do coração. O Tbx5 foi vinculado à determinação da linhagem atrial. Inicialmente presente em todo o primeiro campo cardíaco, a expressão de Tbx5 se torna limitada ao seio venoso e aos átrios, com alguma expressão no ventrículo esquerdo (ou seja, derivados do primeiro campo cardíaco; Fig. 12-16). Camundongos *knockout* para Tbx5 apresentam grave hipoplasia dessas câmaras, ao passo que a expressão forçada de Tbx5 em todo o coração causa perda da expressão gênica específica dos ventrículos, essencialmente “atrializando” o coração. Foram identificadas mutações no TBX5 humano em famílias com **síndrome de Holt-Oram**, que inclui malformações nas câmaras cardíacas, defeitos do septo atrial e anomalias no sistema de condução. A Irx4, uma homeoproteína Iroquois, só é expressa na porção cranial do primeiro campo cardíaco (Fig. 12-16); posteriormente, ela fica restrita

às células ventriculares, onde estimula a expressão da cadeia pesada da miosina 1 ventricular (Mhc1v) e suprime a cadeia pesada da miosina 1 atrial (Mhc1a). Acredita-se que a Irx4 mantenha o fenótipo craniocaudal do coração pela supressão do comprometimento atrial, pois a perda da expressão da Irx4 em camundongos leva à expressão ectópica de marcadores atriais nos ventrículos. Quando o tubo cardíaco inicial começa a se alongar e têm início a curvatura e o dobramento cardíaco, ocorrem importantes alterações na expressão de diversos fatores de transcrição restritos à câmara/região, e a expressão de vários genes torna-se cada vez mais restrita às regiões atrial, atrioventricular, ventricular e do trato de saída. Por exemplo, Tbx20 codifica um fator de transcrição com características promotoras de câmaras cardíacas. Tbx20 regula negativamente Tbx2, um fator de transcrição normalmente expresso no miocárdio não pertencente às câmaras, como o da parede do canal atrioventricular e o do trato de saída, pelo sequestro da sinalização Smad mediada por receptor. Consequentemente, Tbx20 e Tbx2 trabalham em conjunto para separar o miocárdio das câmaras do miocárdio não pertencente às câmaras ao longo do tubo cardíaco.

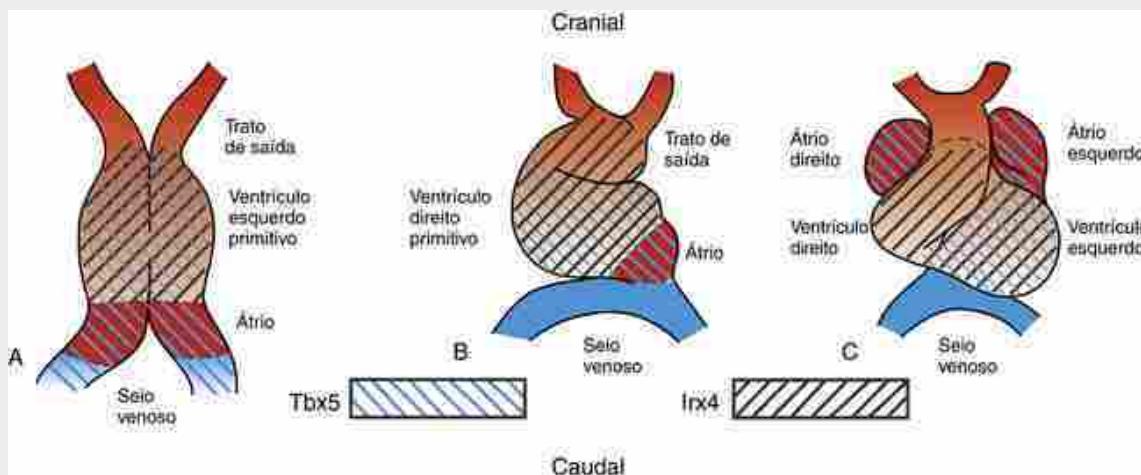


FIGURA 12-16 Representação esquemática dos padrões de expressão dos fatores de transcrição Tbx5 e Irx4 durante o início da especificação das câmaras cardíacas. A-C, Visão ventral nos três estágios do desenvolvimento do coração. Tbx5, vinculado ao fenótipo atrial, torna-se cada vez mais restrito aos átrios e ao seio venoso, ao passo que Irx4, fator de transcrição que dirige a expressão de Mhc1v e suprime a expressão de Mhc1a, torna-se cada vez mais restrito às células ventriculares. A espessura das linhas indica os níveis de expressão gênica, as mais espessas representando níveis mais elevados do que as linhas mais finas.

A expressão de diversas propriedades específicas das câmaras depende de muitas das mesmas influências de padronização craniocaudal que dirigem a regionalização do ectoderma neural e do mesoderma paraxial. A aplicação de ácido retinoico em excesso durante o início da cardiogênese de embriões de galinha causa “atrialização” ou “caudalização” do tubo cardíaco primitivo, conforme indicado pela expressão ubíqua de Tbx5 em todo o tubo cardíaco, ao passo que o tratamento com antagonistas do ácido retinoico causa “ventricularização”. A expressão gênica atrial nos camundongos é expandida de maneira similar com tratamentos com ácido retinoico no útero. Um mecanismo potencial para a sinalização retinoide localizada em embriões é a expressão restrita da retinaldeído-desidrogenase-2 (Raldh-2), uma enzima limitante na biossíntese do ácido retinoico. A expressão restrita da Raldh-2 na borda caudal do campo cardiogênico está correlacionada com o limite caudal da expressão gênica atrial em embriões de galinha e de camundongos. Embriões de camundongo com deficiência de Raldh-2 apresentam expressão de Tbx5 reduzida no campo cardíaco caudal, não desenvolvem átrios e morrem no útero. Estudos recentes corroboram a hipótese de que o ácido retinoico desempenha um papel essencial no estabelecimento do limite caudal do campo cardiogênico.

A remodelação coordenada do tubo cardíaco e da vasculatura primitiva produz as circulações sistêmica e pulmonar

No 22º dia, o sistema circulatório primitivo é bilateralmente simétrico: as veias cardinais direita e esquerda (comuns, anteriores e posteriores) drenam os dois lados do corpo e o sangue do coração é bombeado para os arcos aórticos direito e esquerdo e para as aortas dorsais. As aortas dorsais pareadas se fundem nos níveis axiais T4 a L4 durante a 4ª semana para formar uma única aorta dorsal na linha média. O sistema venoso é submetido a uma remodelação complicada (detalhada no Cap. 13), e como resultado todo o sangue do sistema venoso drena para o átrio direito

através das veias cavas superior e inferior recém-formadas.

O coração começa a bater no 21º dia, e do 24º ao 25º dia o sangue começa a circular por todo o embrião. O retorno venoso inicialmente entra nos cornos dos seios direito e esquerdo pelas veias cardinais comuns, veias umbilicais e veias vitelinas (Fig. 12-17).

Nas próximas semanas, o sistema venoso é remodelado de maneira que todo o sangue venoso sistêmico entra no corno do seio direito pelas **veias cavas superior e inferior** (Fig. 12-17). À medida que o fluxo de entrada venoso se desloca para a direita, o corno do seio esquerdo para de crescer e se transforma em um pequeno saco venoso na parede posterior do coração (Fig. 12-17). Essa estrutura origina o **seio coronário** e a pequena **veia oblíqua do átrio esquerdo**. O seio coronário receberá a maior parte do sangue proveniente da circulação coronária do coração.

À medida que o corno do seio direito e as veias cavas aumentam para acompanhar o rápido crescimento do restante do coração, o lado direito do seio venoso é gradualmente incorporado à parede caudal/dorsal direita do átrio em desenvolvimento, deslocando a metade original direita da parede atrial em desenvolvimento mais para a direita (Figs. 12-17 e 12-18). O crescimento diferencial do seio venoso direito também reposiciona os vestígios do corno do seio esquerdo (o futuro seio coronário) para a direita. A porção do átrio que consiste no seio venoso incorporado agora é denominada **sinus venarum**. O lado direito original do átrio primitivo pode ser diferenciado no coração adulto pela trabeculação pectinada (semelhante a um pente) da sua parede, que contrasta com a parede lisa do **sinus venarum**.

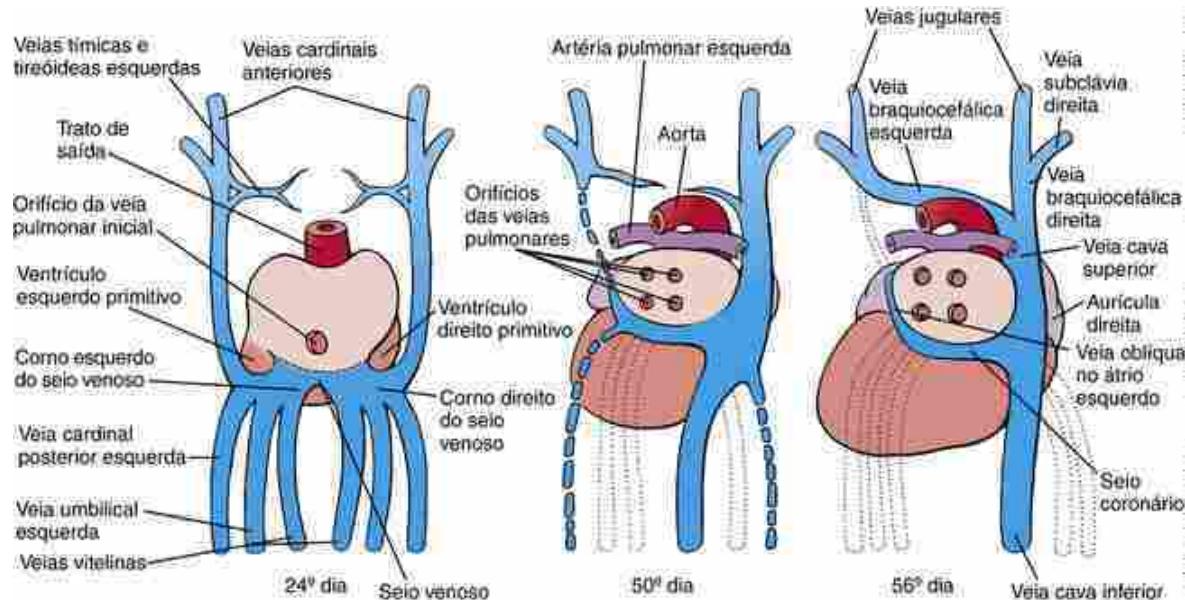


FIGURA 12-17 Remodelação da extremidade de influxo do coração entre a 4ª e a 8ª semana de maneira que o sangue sistêmico flui para o interior do futuro átrio direito. O corno do seio esquerdo é reduzido e puxado para o lado direito. Ele perde conexão com a veia cardinal anterior esquerda e se transforma no seio coronário, drenando sangue somente da parede do coração. A veia cardinal anterior esquerda se conecta à veia cardinal anterior direita por meio de uma anastomose de veias tímicas e tireóideas, que formam a veia braquiocefálica esquerda. Um remanescente da veia vitelina direita se torna o segmento terminal da veia cava inferior (discutido no Cap. 13).

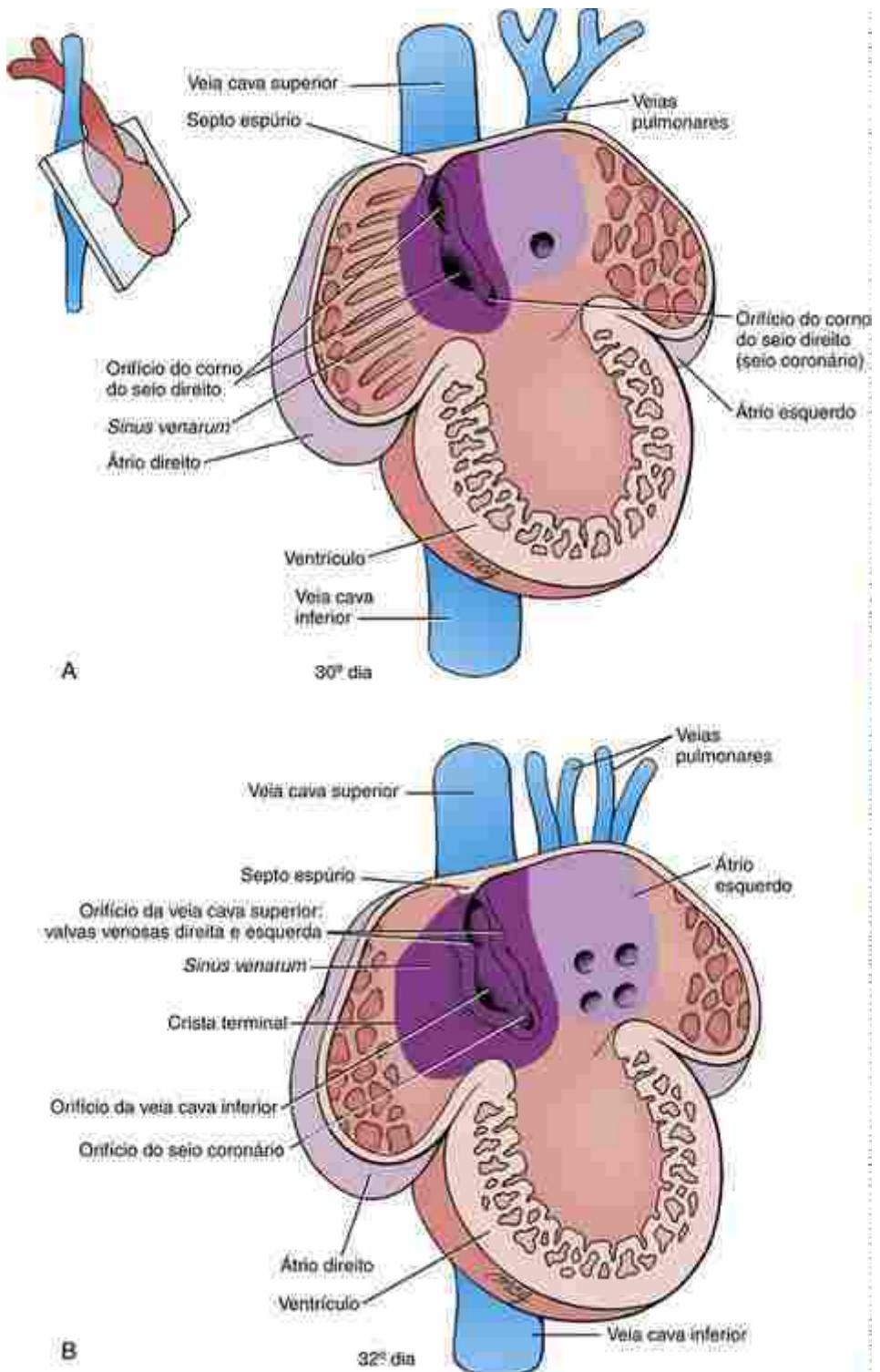


FIGURA 12-18 Diferenciação inicial do átrio primitivo. A, Durante a 5^a semana, o tecido atrial primitivo dos lados esquerdo e direito é deslocado ventral e lateralmente para formar a porção trabeculada dos átrios e aurículas do coração maduro. Do lado direito, o corno do seio direito é incorporado à parede dorsal do lado direito do átrio, formando o *sinus venarum*, de parede lisa. Enquanto isso, uma única veia pulmonar desenvolve-se no lado esquerdo do átrio primitivo, que se ramifica duas vezes para produzir duas veias pulmonares direitas e esquerdas. O *sinus venarum* continua a se expandir dentro da parede dorsal do futuro átrio direito. B, Diferenciação adicional do átrio. No final da 5^a semana, o sistema da veia pulmonar começa a sofrer intussuscepção para a parede dorsal esquerda do átrio primitivo. Os quatro primeiros ramos pulmonares são incorporados à parede dorsal do lado esquerdo do átrio primitivo, completando a formação da parte de parede lisa do futuro átrio esquerdo.

Por meio de um processo de **intussuscepção** (dobramento para dentro de uma camada externa) do seio venoso direito, as aberturas, ou **óstios**, das veias cava superior e inferior e dos futuros seios coronários são incorporadas à parede dorsal do átrio direito definitivo, onde formam os **orifícios das veias superior e inferior** e o **orifício do seio coronário**.

seio coronário (Fig. 12-18B). Quando isso ocorre, as **valvas venosas esquerda e direita** se desenvolvem em ambos os lados dos três óstios (Fig. 12-18B). Em posição cranial aos orifícios sinoatriais, as valvas esquerda e direita se unem para formar um septo transitório denominado **septo espúrio** que, juntamente com a valva venosa esquerda, torna-se parte do septo secundário (*septum secundum*), um dos septos que contribuem para a separação dos átrios direito e esquerdo definitivos (assunto discutido posteriormente neste capítulo). A valva venosa direita permanece e contribui para a formação da **crista terminal** (*crista terminalis*), da **valva da veia cava inferior** e das **valvas do seio coronário**. A incorporação do tecido do seio venoso à parede dorsal do átrio direito resulta na remodelação da câmara do átrio direito e na formação do **apêndice atrial direito** (a **aurícula direita**).

Nesse momento, a crista terminal separa o átrio direito trabeculado do *sinus venarum* de parede lisa (Fig. 12-18B). O **nó sinoatrial**, o marca-passo cardíaco, é um importante elemento do sistema de condução cardíaco e está localizado na junção da veia cava superior e da crista terminal. O impulso cardíaco produzido no nó sinoatrial atinge o **nó atrioventricular** por meio de diversas vias específicas.

Enquanto o átrio direito é remodelado durante a 4^a e a 5^a semana, o átrio esquerdo é submetido a um processo semelhante. Durante a 4^a semana, a **veia pulmonar** se origina como uma estrutura na linha média no **mesocárdio dorsal** caudal, que conecta os rudimentos do pulmão à parede dorsal do átrio comum em desenvolvimento. Da sua posição inicial na linha média, as veias pulmonares se deslocam para a esquerda (Figs. 12-17 e 12-18A) como resultado do crescimento assimétrico de uma projeção de células mesenquimais do segundo campo cardíaco denominada **protrusão mesenquimal dorsal** ou *spina vestibuli*. A veia pulmonar imediatamente se divide em ramos pulmonares direito e esquerdo, que se bifurcam novamente para produzir um total de quatro veias pulmonares. Essas veias, a seguir, crescem na direção dos pulmões, onde se submetem a anastomose com veias em desenvolvimento no interior do mesoderma que reveste os brotos brônquicos (assunto discutido no Cap. 11). Como resultado de intussuscepção, o sistema venoso pulmonar se abre para o átrio esquerdo inicialmente através de um único orifício e, depois, através de quatro orifícios, formando as veias pulmonares definitivas (Fig. 12-18A, B), onde formam a parede lisa do átrio esquerdo definitivo. O lado esquerdo trabeculado do átrio primitivo também é deslocado ventralmente e para a esquerda, onde forma um **apêndice atrial esquerdo** (a **aurícula esquerda**).

Septação do coração

O partitionamento estrutural e funcional do coração em quatro câmaras é realizado através do processo denominado **morfogênese valvulosseptal**, que engloba a septação (formação de estruturas septais) e a valvulogênese (formação de valvas). Ocorrem grandes eventos da septação cardíaca entre o 28º e o 37º dia de gestação. Dois processos básicos desempenham funções essenciais na geração dos septos. O crescimento e a remodelação diferencial são responsáveis principalmente pela geração dos septos muscular ventricular e atrial, mas esses processos, isoladamente, nunca executam a partição das câmaras cardíacas. Para isso, é necessário tecido do coxim derivado do endocárdio e das células da crista neural. Nas regiões atrioventricular e do trato de saída, enquanto o dobramento cardíaco continua, é secretada matriz extracelular entre o endocárdio e o miocárdio, principalmente pela camada miocárdica (Fig. 12-19A). Isso essencialmente faz com que a camada endocárdica se expanda para o interior do lúmen dessas duas regiões. Perto da conclusão do dobramento cardíaco, algumas células endocárdicas nas regiões atrioventricular e do trato de saída se submetem a uma **transição epitélio-mesenquimal** (EMT), produzindo mesênquima derivado do endocárdio que invade essa matriz extracelular, prolifera e se diferencia em tecido conjuntivo. Essas protuberâncias preenchidas com mesênquima (na região atrioventricular) e cristas (ao longo do trato de saída) frequentemente são denominadas **coxins** (Figs. 12-19B e 12-20). Depois da formação inicial dos coxins atrioventriculares derivados do endocárdio, **células mesenquimais derivadas do epicárdio** também preenchem os coxins atrioventriculares. Conforme será abordado posteriormente no capítulo, além de o tecido do coxim do trato de saída conter células derivadas do endocárdio, essas cristas também são invadidas pelas células da crista neural. Consequentemente, o tecido do coxim do trato de saída consiste em células mesenquimais derivadas do mesoderma (**coxim derivado do endocárdio**) e em células mesenquimais derivadas do ectoderma (**coxim derivado de células da crista neural**) (Fig. 12-19B). O desenvolvimento adequado dos tecidos dos coxins atrioventricular e do trato de saída é essencial para a conclusão da septação. Dois grandes coxins atrioventriculares se fundem e contribuem para a septação dos átrios e dos ventrículos para gerar a porção membranosa (ou fibrosa) dos septos ventricular e atrial e, em conjunto com os coxins laterais, estão envolvidos na formação das valvas atrioventriculares (Fig. 12-19B). Os coxins do trato de saída estão envolvidos na separação da aorta da artéria pulmonar, na septação ventricular e na formação das valvas semilunares.

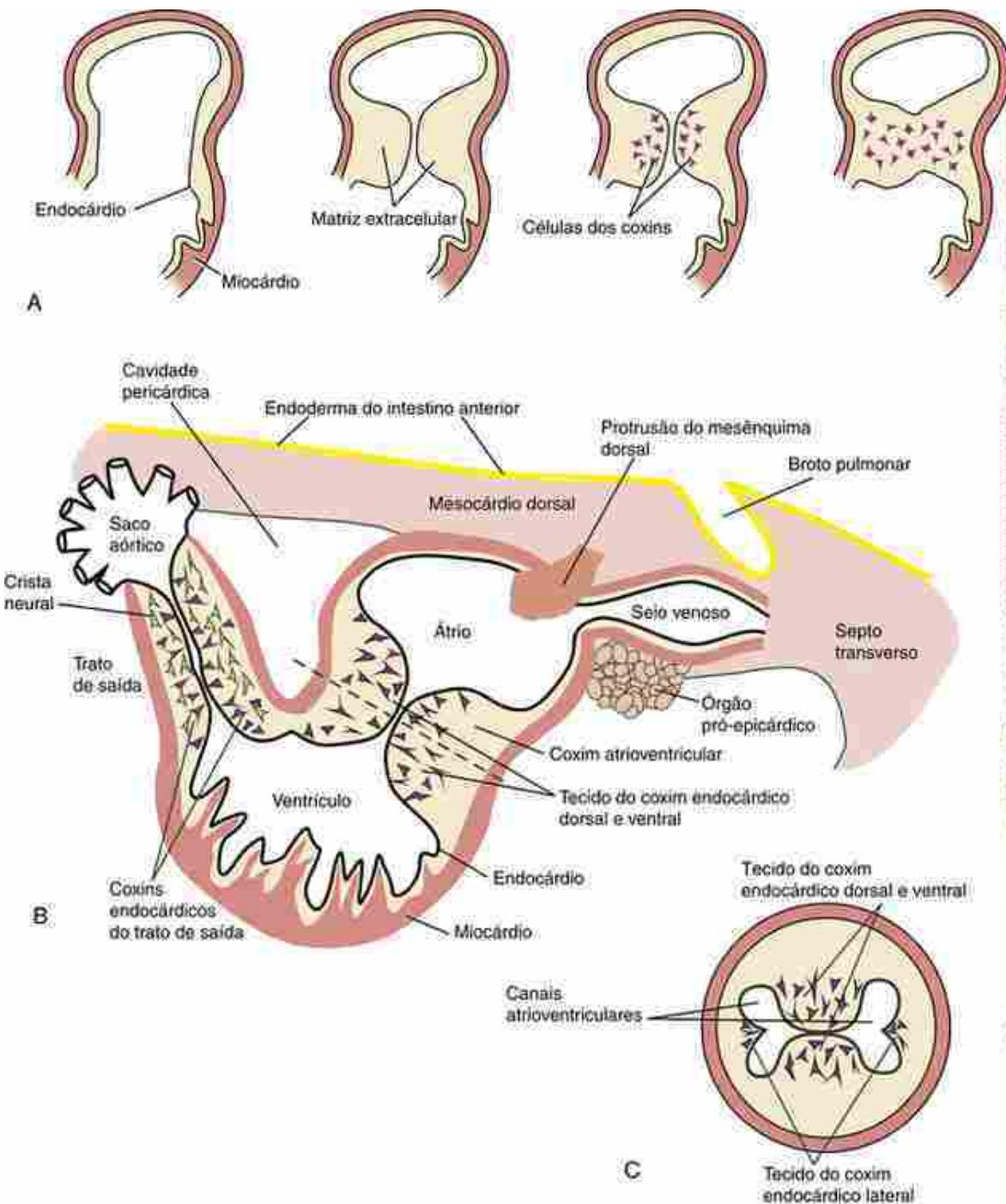


FIGURA 12-19 Formação do tecido dos coxins. **A**, Etapas na formação do tecido do coxim derivado do endocárdio. O miocárdio deposita uma matriz extracelular exclusiva entre si mesmo e o endocárdio em um estágio específico do desenvolvimento. Isso induz uma transição epitelio-mesenquimal do endocárdio, que resulta na geração de células do coxim endocárdico migratórias necessárias para a septação cardíaca. **B**, Locais de formação de tecido do coxim no coração. O tecido do coxim derivado do endocárdio se forma na região atrioventricular e na região do trato de saída (que também é preenchida com células da crista neural). A fusão dos tecidos do coxim em oposição forma os canais atrioventriculares, saídas de ambos os ventrículos, da aorta e do tronco pulmonar e as porções membranosas dos septos interatriais e interventriculares. A linha tracejada representa o nível da seção transversal ilustrada em **C** e mostra o tecido do coxim atrioventricular e os canais e o tecido do pequeno coxim lateral.

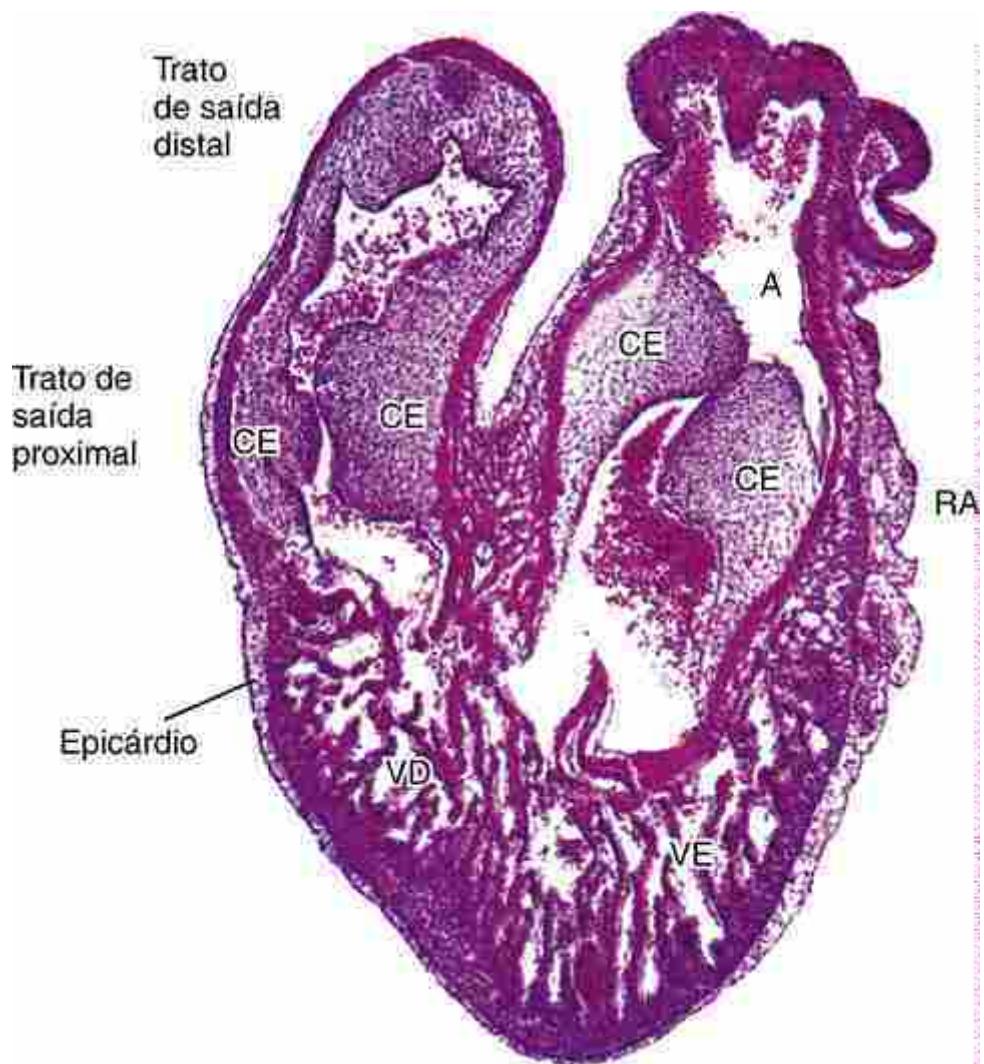


FIGURA 12-20 Fotomicrografia de uma seção sagital do coração de um embrião de galinha mostrando tecido do coxim endocárdico (CE) em torno do canal atrioventricular e no interior do trato de saída. A, átrio; RA, região atrioventricular; VD e VE, ventrículos direito e esquerdo, respectivamente.

No Laboratório de Pesquisa

Transição epitelio-mesenquimal durante a formação das células do coxim endocárdico

A transição epitelio-mesenquimal (EMT) do endocárdio pode ser separada em duas etapas principais: (1) ativação (sinalização) do evento, que inclui a indução e separação entre células em uma subpopulação de células endocárdicas, e (2) delaminação e invasão de células derivadas do endocárdio na matriz extracelular subjacente. Ao preencherem a matriz extracelular, essas células proliferam e se diferenciam em vários tipos de células de tecido conjuntivo.

O que dispara a EMT do endocárdio, e por que esse processo ocorre somente nas regiões atrioventricular e do trato de saída do coração? Ainda não se chegou a uma resposta clara a essa pergunta fundamental. Os primeiros estudos com embriões de galinha e modelos tridimensionais de cultura de tecidos demonstram que somente o miocárdio atrioventricular e do trato de saída é competente para induzir a EMT do endocárdio e que somente o endocárdio atrioventricular e do trato de saída tem capacidade de responder. O(s) fator(es) de indução é(são) liberado(s) na matriz extracelular pelo miocárdio, mas a natureza exata desse sinal ainda é obscura. Uma possibilidade é um agregado de vários componentes denominado complexo ES (solúvel em EDTA). A expressão desse complexo no coração é restrita às regiões atrioventricular e do trato de saída, e anticorpos direcionados contra esse complexo bloqueiam a EMT.

Um dos primeiros sinais de ativação endocárdica é a hipertrofia de um subgrupo de células endocárdicas (neste caso, o retículo endoplasmático granuloso aumenta e o aparelho de Golgi se torna mais prevalente). Logo, isso é seguido por sinais morfológicos da separação célula-célula em um subgrupo de células endocárdicas e

acompanhado pela diminuição na expressão de moléculas de adesão célula-célula, incluindo N-Cam (molécula de adesão celular neural), VE-caderina (caderina vascular endotelial) e Pe-Cam-1 (molécula de adesão célula endotelial-plaqueta-1). Se a expressão dessas moléculas de adesão célula-célula não sofrer diminuição, não ocorrerá EMT.

A EMT endocárdica repete muitas das mesmas etapas que a EMT responsável pela gastrulação e pela formação das células da crista neural (abordadas nos [Caps. 3](#) e [4](#), respectivamente). Em embriões de galinha, a expressão de snail2 (um fator de transcrição tipo *zinc finger*) é suprarregulada nas células endocárdicas antes da EMT e durante o início da migração de células do coxim, e o bloqueio da expressão de Snail2 impede a EMT do endocárdio em cultura de tecidos. Notch1 e vários de seus ligantes (discutidos no [Cap. 5](#)) são expressos no endocárdio do camundongo na ocasião do início da EMT e camundongos nulos para notch1 exibem EMT deficiente e desenvolvem tecido do coxim endocárdico hipoplásico. Essa EMT deficiente se correlaciona com a expressão reduzida de snail e com a falha na diminuição da expressão de VE-caderina. Quando ativadas, as células endocárdicas começam a estender filopódios para a matriz extracelular e a suprarregular a expressão de marcadores de células invasivas (p. ex., metaloproteinases de matriz, serina proteases, hialuronato sintetases, quinases associadas a rho). Isso logo é seguido pela transformação desse subgrupo endocárdico em células mesenquimais que migram e invadem a matriz extracelular entre o endocárdio e o miocárdio.

Existem diversos fatores de crescimento, receptores do fator de crescimento e fatores de transcrição cuja expressão é necessária para a fase inicial da EMT. Membros da família Tgf β desempenham importantes funções no início da EMT endocárdica. O bloqueio da expressão de Tgf β 2 ou a neutralização de sua atividade por meio de anticorpos no embrião de galinha inibe tanto a separação célula-célula quanto as etapas invasivas que levam à EMT, enquanto o bloqueio de Tgf β 3 inibe a EMT somente depois da ocorrência da etapa de separação célula-célula. Uma importante função das Tgf β s na EMT é corroborada por mutantes de camundongos *knockout* para Tgf β , que apresentam defeitos na valva atrioventricular, defeitos na valva semilunar e defeitos no septo atrial. Pelo menos cinco Bmps diferentes (outro membro da família Tgf β) também são expressos pelo miocárdio atrioventricular e do trato de saída. Nos camundongos, Bmp2 e Bmp4 são expressos no miocárdio abaixo do endocárdio atrioventricular e do trato de saída. Usando o modelo de cultura de tecido de galinha, a diminuição da expressão de Bmp2 reduz significativamente a migração de células do coxim endocárdio; nas culturas de endocárdio atrioventricular de camundongos, o Bmp2 pode substituir o miocárdio. Esses estudos mostram que o Bmp2 expresso pelo miocárdio tem efeitos autócrinos e parácrinos, suprarregulando a expressão de Tgf β 2 no miocárdio e no endocárdio, o que resulta na indução de EMT endocárdica.

Tanto o fator de crescimento Vegf quanto a família do fator de transcrição Nfatc (fator nuclear de células T ativadas isoforma c) têm papéis importantes na EMT endocárdica e no desenvolvimento valvar subsequente. A atividade de sinalização de Vegf é dose-dependente e é dinamicamente controlada em uma estreita janela espacial e de desenvolvimento durante o desenvolvimento dos coxins e das valvas. Em camundongos, no início da EMT, a expressão de Vegf ocorre no endocárdio e no miocárdio. Se a sinalização de Vegf for muito elevada ou muito baixa, não ocorrerá EMT. Isoformas específicas de Nfatc (c2, c3 e c4) expressas no miocárdio são responsáveis pela redução da sinalização de Vegf para níveis necessários para o início da EMT. Quando iniciada, a expressão miocárdica de Vegf começa a aumentar, e acredita-se que esse aumento desempenhe uma função na finalização da EMT endocárdica. A sinalização de Vegf e a atividade da isoforma de Nfatc1 no endocárdio também são necessárias para a remodelação valvar subsequente. Portanto, a sinalização espaço-temporal de Vegf e a atividade transcrecional de Nfatc adequadas são necessárias para a EMT e para a diferenciação valvar e, caso elas sejam atípicas, ocorrerá o desenvolvimento anormal do coração.

Vários outros fatores de crescimento e receptores de fatores de crescimento, incluindo Egfs, Fgfs e efrinas, estão implicados ou demonstram desempenhar importantes funções na sinalização da EMT endocárdica. Diversos outros fatores de transcrição também são importantes para a formação correta dos coxins e para o desenvolvimento das valvas, e muitos deles estão implicados nas EMTs e no desenvolvimento de tecido mesenquimal em outros locais do embrião, incluindo Msx1 e Msx2, Prx1 e Prx2, Id e Sox4.

Efeitos da hiperglicemia e da hipóxia na formação do tecido dos coxins

Neonatos de mães diabéticas apresentam um risco quase três vezes mais elevado de apresentarem malformações congênitas do coração. Como o risco pode ser reduzido por um rigoroso controle glicêmico materno, a hiperglicemia parece ser o agente teratogênico. Em camundongos, condições hiperglicêmicas inibem a EMT necessária para o desenvolvimento dos coxins. A hiperglicemia inibe a liberação de Vegf do miocárdio, causando retenção de Pe-Cam-1 nas células endocárdicas. Conforme mencionado anteriormente, a formação do coxim endocárdico exige níveis adequados de sinalização de Vegf e a renovação de moléculas de adesão célula-célula antes da EMT. Os efeitos da hiperglicemia na EMT do endocárdio em camundongos são mimetizados bloqueando a biodisponibilidade de Vegf endógeno, e isso é revertido pela reposição de níveis adequados de Vegf. A hipóxia

aumenta a liberação de Vegf e, da mesma forma, inibe a formação do coxim endocárdico. Consequentemente, os efeitos negativos da hiperglicemia e da hipóxia na EMT do endocárdio provavelmente se devem à não manutenção da sinalização de Vegf adequada.

Septação dos átrios e divisão do canal atrioventricular

Uma etapa necessária para a separação das circulações sistêmica e pulmonar consiste na separação parcial dos átrios definitivos e na divisão do canal atrioventricular comum em canais direito e esquerdo. O septo atrial maduro é formado pela fusão de dois septos musculares parciais embrionários: o **septo primário (*septum primum*)** e o **septo secundário (*septum secundum*)**. Ambos os septos possuem aberturas que permitem a passagem (*shunting*) da direita para a esquerda de sangue durante a gestação. Essa passagem é necessária para o desenvolvimento e expansão normais do átrio esquerdo e do ventrículo esquerdo, e permite que o sangue oxigenado do cordão umbilical não entre no sistema pulmonar em desenvolvimento, mas entre na circulação sistêmica.

Em torno do 26º dia, durante a remodelação atrial, o teto do átrio desenvolve uma depressão ao longo da linha média no local abaixo do trato de saída superposto. No 28º dia, essa depressão vai se tornando mais funda e forma uma projeção miocárdica em forma de crescente, denominada septo primário, que se estende para o interior do átrio desde a parede craniodorsal à medida que a câmara atrial primitiva se expande (Fig. 12-21A). Na borda dianteira do septo primário encontra-se uma crista preenchida com mesênquima, denominada **cobertura mesenquimal dorsal**, que, similarmente aos coxins atrioventriculares e do trato de saída, contém mesênquima originário do endocárdio (Fig. 12-21A-C). Enquanto isso, no polo venoso, células provenientes do segundo campo cardíaco se projetam para o interior do átrio, usando o mesocárdio dorsal como porta de entrada (Fig. 12-19B). Essa população de células, conhecida como **protrusão mesenquimal dorsal** (ou *spina vestibuli*), é contínua com a cobertura mesenquimal dorsal no septo primário e no coxim atrioventricular dorsal (Figs. 12-21A e 12-22A).

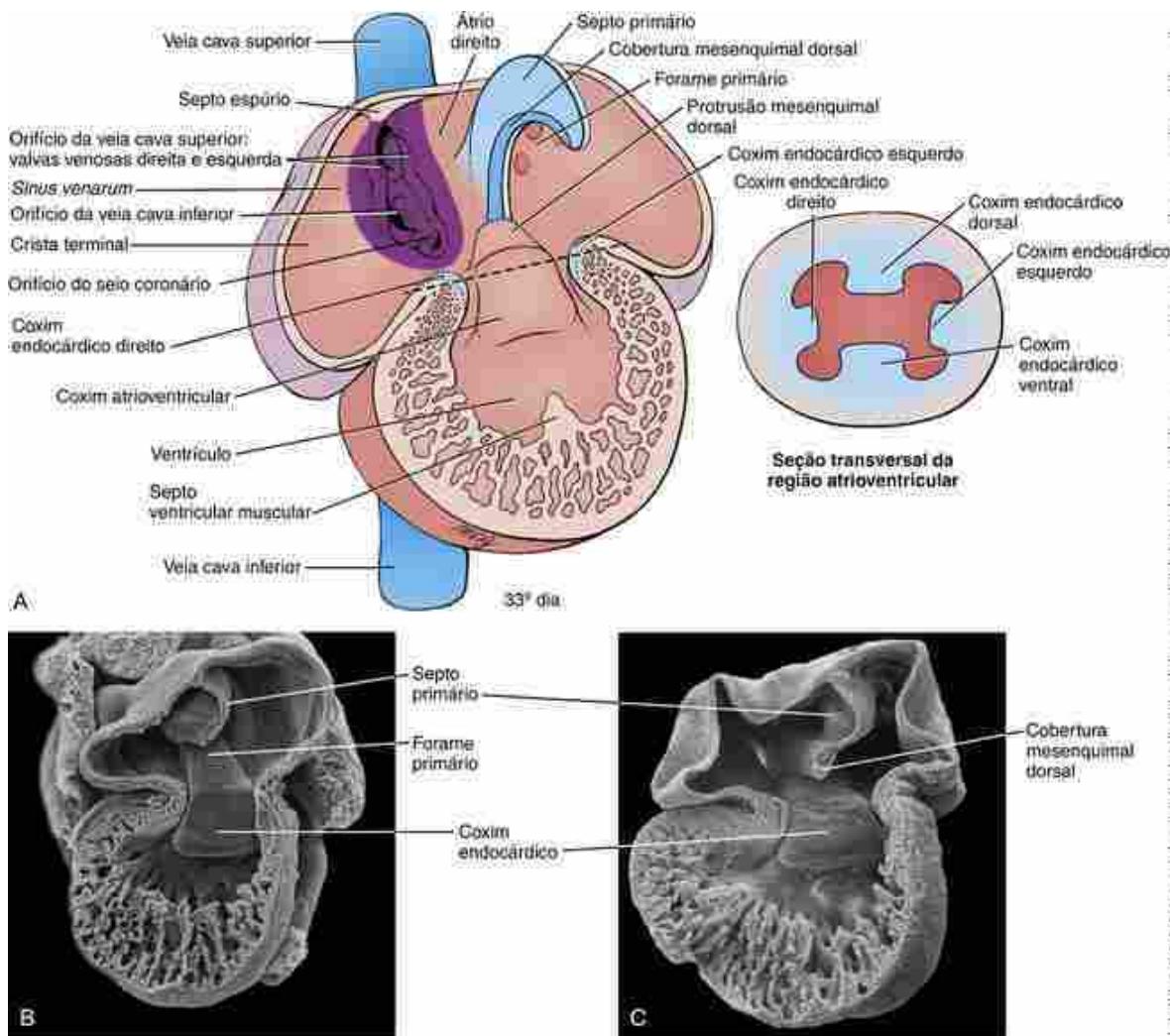


FIGURA 12-21 Septação inicial dos átrios. A, O septo primário e a projeção mesenquimal dorsal se formam no teto dorsal da câmara atrial durante a 5^a semana e crescem em conjunto na direção do canal atrioventricular. Uma crista de células mesenquimais derivadas do endocárdio, denominada cobertura mesenquimal dorsal, se desenvolve ao longo da borda do septo primário. Simultaneamente, o canal atrioventricular é dividido em orifícios atrioventriculares direito e esquerdo pelos coxins endocárdicos dorsal e ventral em desenvolvimento. A linha tracejada representa o nível da seção transversal através da região do canal atrioventricular. B, C, Micrografias eletrônicas e varredura mostram o forame primário e o septo primário em desenvolvimento e sua cobertura mesenquimal dorsal.

À medida que o septo primário se alonga por crescimento diferencial, os coxins atrioventriculares dorsal e ventral se fundem para formar o **septo atrioventricular** (ou **septo intermediário** – *septum intermedium*), dividindo, portanto, o orifício atrioventricular comum em **canais atrioventriculares direito e esquerdo** separados (Fig. 12-22A). A cobertura mesenquimal dorsal, a projeção mesenquimal dorsal e o septo atrioventricular se fundem, a seguir, para formar o **complexo mesenquimal atrioventricular**, preenchendo a conexão interatrial remanescente (**forame primário** ou **óstio primário** – *foramen primum* ou *ostium primum*) (Figs. 12-21, 12-22A e 12-23). À medida que o complexo mesenquimal atrioventricular fecha o forame primário, a morte celular programada na região dorsal do septo primário cria pequenas perfurações que se juntam para formar um novo forame, o **forame secundário** (ou **óstio secundário** – *foramen secundum* ou *ostium secundum*) (Fig. 12-22A,B). Consequentemente, um novo canal para a passagem da direita para a esquerda entre as câmaras atriais se abre antes que o antigo se feche.

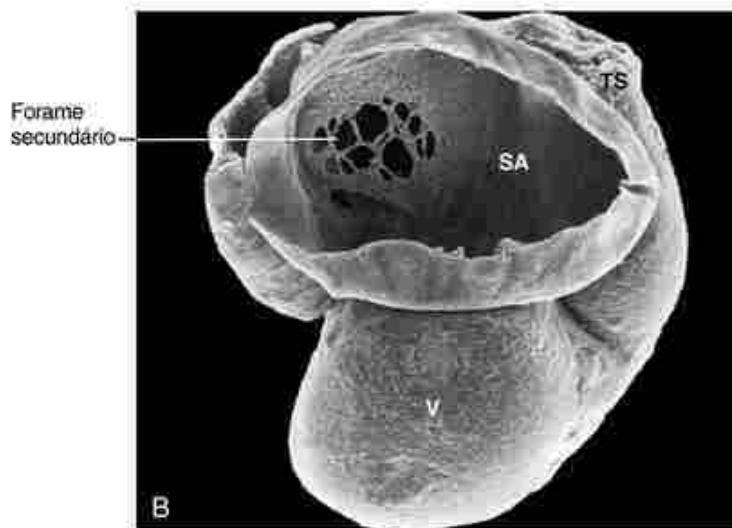
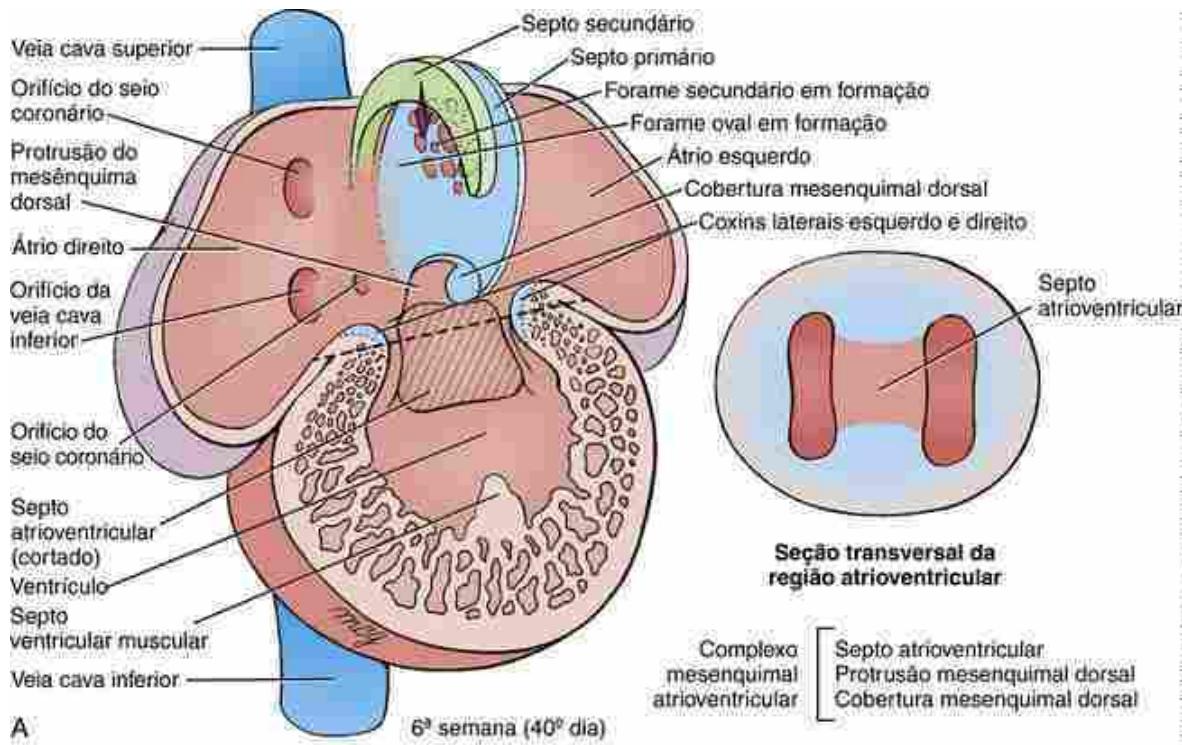


FIGURA 12-22 Septação adicional dos átrios. A, Durante a 6^a semana, o espesso septo secundário cresce a partir do teto do átrio direito, e o septo primário, sua cobertura mesenquimal dorsal e a projeção mesenquimal dorsal se fundem com o coxim atrioventricular para preencher o orânculo primário. Entretanto, antes que o orânculo primário seja obliterado, o orânculo secundário se forma pela junção de pequenas rupturas no septo primário. A linha tracejada representa o nível da seção transversal através da região do canal atrioventricular. B, Micrografia eletrônica de varredura mostrando o desenvolvimento do orânculo secundário. SA, septo atrial; TS, trato de saída; V, ventrículo.

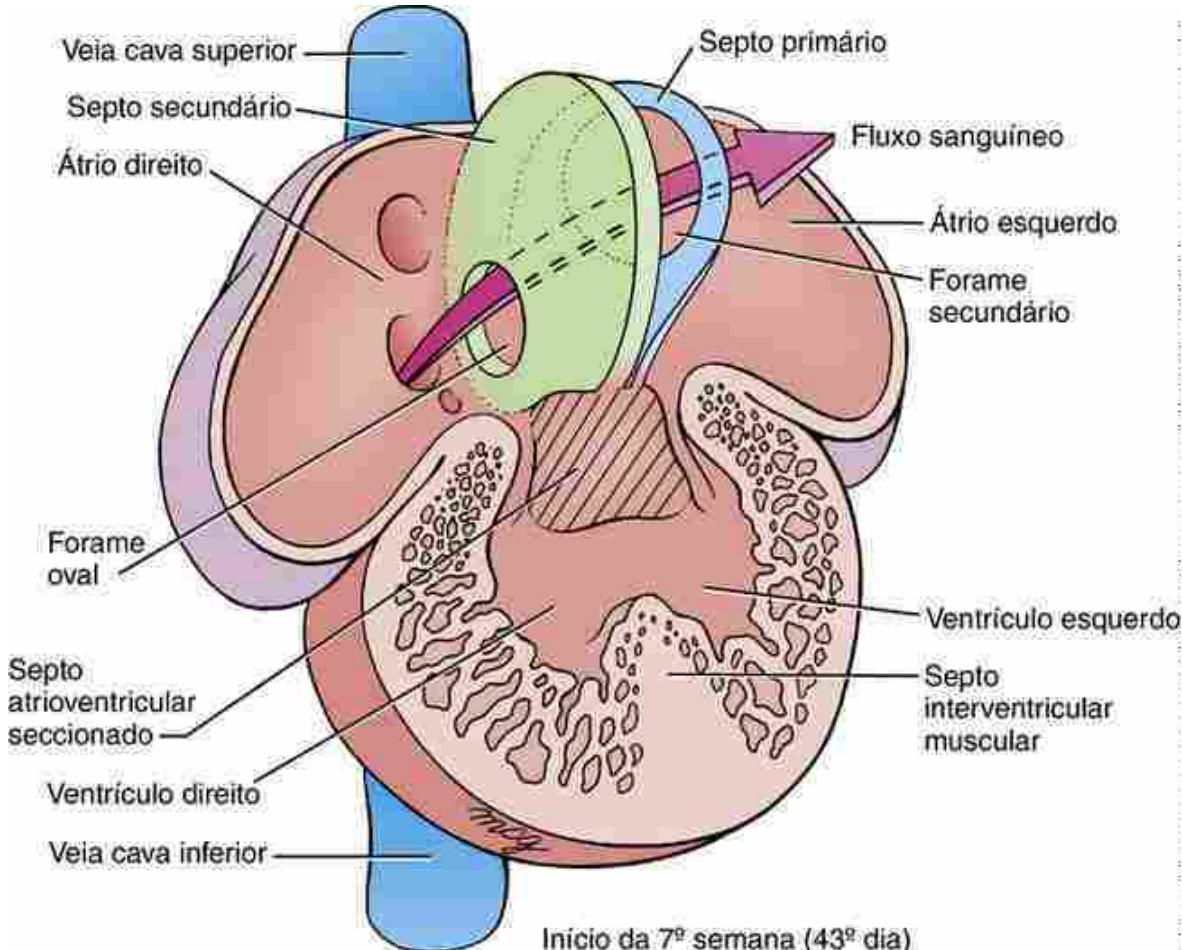


FIGURA 12-23 Septação definitiva dos átrios fetais. O septo secundário não fecha por completo, deixando uma abertura denominada forame oval. Durante as vidas embrionária e fetal, grande parte do sangue que entra no átrio direito passa para o átrio esquerdo através do forame oval e do forame secundário.

Durante o alongamento do septo primário, uma nova crista de tecido em forma de crescente se forma no teto do átrio direito, adjacente e à direita do septo primário (Fig. 12-22A). Esse **septo secundário (septum secundum)** é espesso e musculoso, ao contrário do fino septo primário. A borda do septo secundário cresce na direção craniocaudal e dorsoventral, mas para antes de atingir o complexo mesenquimal atrioventricular, deixando uma abertura denominada **forame oval** próximo ao assoalho do átrio direito (Figs. 12-22A e 12-23). Portanto, em todo o resto do desenvolvimento fetal o sangue passa do átrio direito para o esquerdo e atravessa as duas aberturas escalonadas. Esse arranjo permite que o sangue flua do átrio direito para o esquerdo, mas não no sentido contrário, pois o fino septo primário se fecha contra o rígido septo secundário, bloqueando efetivamente o retorno do fluxo sanguíneo para o átrio direito. Essa passagem se fecha ao nascimento, pois a súbita dilatação da vasculatura pulmonar combinada com a interrupção do fluxo umbilical inverte a diferença de pressão entre os átrios e empurra o septo primário flexível contra o septo secundário mais rígido, mesmo durante a diástole atrial (consulte “Alterações Dramáticas Ocorrem no Sistema Circulatório no Nascimento”, no Cap. 13).

Realinhamento das câmaras primitivas

Mesmo depois que o dobramento cardíaco está quase finalizado, o canal atrioventricular fornece uma via direta somente entre o átrio primitivo e o ventrículo esquerdo primitivo (Fig. 12-24A). Além disso, a extremidade proximal do ventrículo direito primitivo, mas não do ventrículo esquerdo primitivo, inicialmente é contínua com o trato de saída, que irá gerar os vasos de saída aórticos e pulmonares. O dobramento do tubo cardíaco, a expansão das câmaras e o realinhamento devem acontecer adequadamente para que ocorra o alinhamento do canal atrioventricular em desenvolvimento com o átrio direito e o ventrículo direito, e para que seja fornecido ao ventrículo esquerdo um caminho direto para o trato de saída. Esse processo é ilustrado na Figura 12-24.

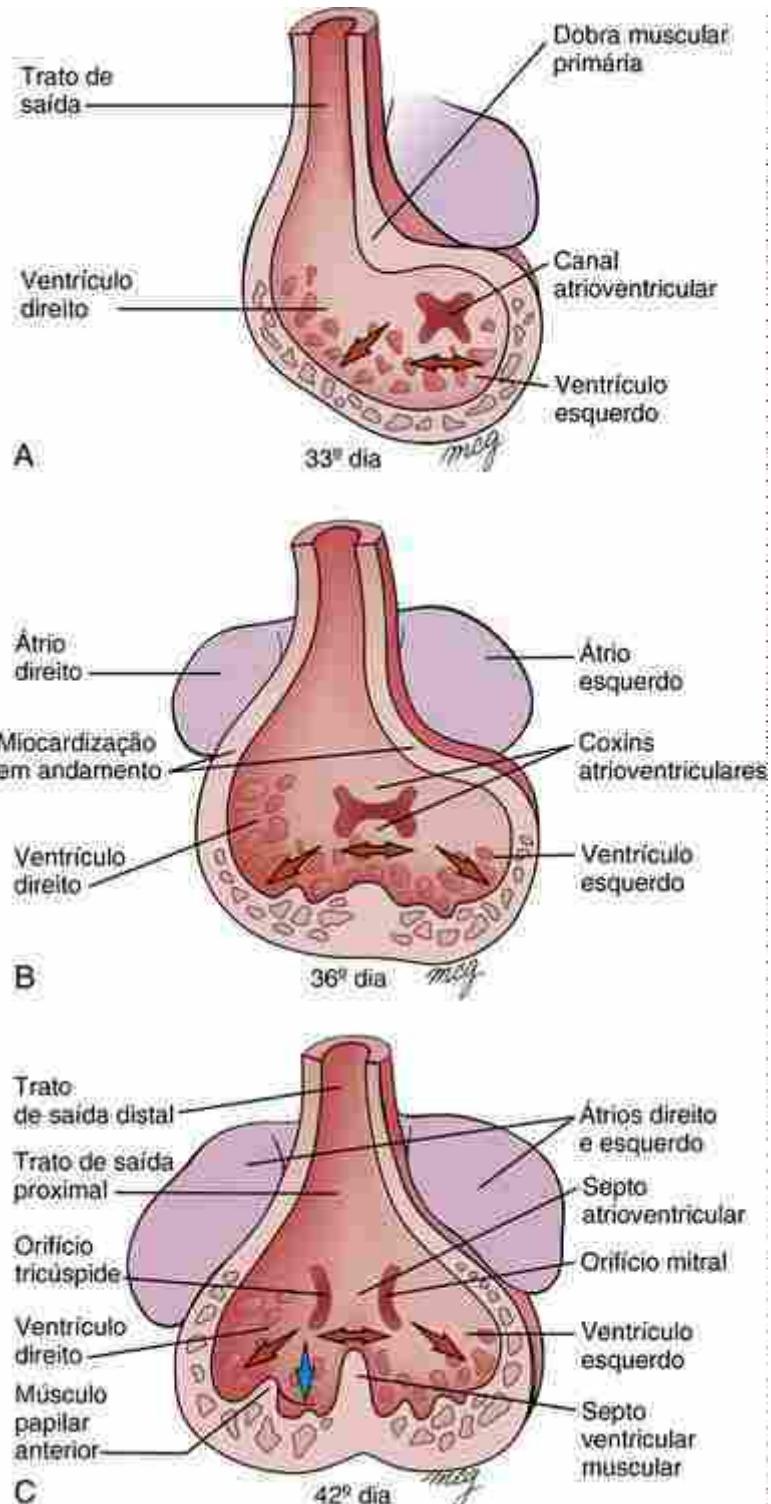


FIGURA 12-24 A-C, Realinhamento do coração. À medida que o septo atrioventricular se forma durante a 5^a e a 6^a semanas, o coração é remodelado para alinhar o canal atrioventricular esquerdo em desenvolvimento com o átrio e o ventrículo esquerdo, e o canal atrioventricular direito com o átrio e o ventrículo direito. As setas vermelhas indicam a direção do realinhamento do canal atrioventricular e do trato de saída e a formação do septo interventricular muscular. A seta azul em C indica a formação de uma fenda crescente que é escavada no septo ventricular muscular; ela é responsável, em parte, pelo repositionamento do orifício tricúspide para a direita, além da formação da faixa moderadora.

No início, o canal atrioventricular se situa principalmente entre o átrio primitivo e o ventrículo esquerdo primitivo. O mecanismo pelo qual os canais atrioventriculares direito e esquerdo se alinham com os futuros ventrículos direito e esquerdo ainda não foi esclarecido. Entretanto, essa mudança pode ser feita pela remodelação ativa da **prega muscular primária**. Por baixo da porção direita (tricúspide) do canal atrioventricular, forma-se uma pequena fenda no miocárdio do **septo ventricular muscular**. Essa fenda se expande para formar um trato de entrada adequado para o ventrículo direito, possibilitando que o orifício tricúspide se posicione acima do ventrículo direito ([Fig. 12-24C](#)). Ao mesmo

tempo, a parte esquerda do trato de saída comum se torna mais associada ao ventrículo esquerdo. Enquanto isso, os coxins atrioventriculares dorsal e ventral estão crescendo e, quando o canal atrioventricular comum se divide em canais direito e esquerdo, estes ficam corretamente alinhados aos seus respectivos átrios e ventrículos ([Fig. 12-24C](#)).

Quando os canais atrioventriculares, os ventrículos e o trato de saída cardíaca estiverem todos corretamente alinhados, estará pronto o palco para as fases remanescentes da morfogênese do coração: a conclusão da septação atrial, a septação dos ventrículos, a septação do trato de saída em aorta ascendente e tronco pulmonar e o desenvolvimento das valvas cardíacas, da vasculatura coronária e do sistema de condução.

Início da septação dos ventrículos

No final da 4^a semana, o **septo ventricular muscular**, situado entre as futuras câmaras ventriculares direita e esquerda, começa a se tornar uma estrutura mais proeminente durante o processo de expansão dos ventrículos ([Fig. 12-25](#); também a [Fig. 12-24](#)). Embora o septo ventricular muscular continue a se desenvolver, o fechamento do **forame interventricular (forame ventricular primário)** não ocorre até a 8^a semana de desenvolvimento. Se a fusão do septo ventricular muscular com o complexo mesenquimal atrioventricular ocorresse mais cedo, o ventrículo esquerdo seria fechado do trato de saída ventricular.

Ao mesmo tempo que o septo ventricular muscular está se formando, o miocárdio começa a se espessar e são desenvolvidas as cristas ou **trabéculas** miocárdicas na parede interna de ambos os ventrículos. A trabeculação tem início aproximadamente na 4^a semana de desenvolvimento, com projeções ou cristas formando-se inicialmente na curvatura externa do coração. Essas cristas trabeculares se transformam em lâminas trabeculares fenestradas, enquanto cardiomiócitos externos adjacentes ao epicárdio rapidamente proliferaram, formando uma camada externa compacta de miocárdio ([Figs. 12-25](#) e [12-26](#)).

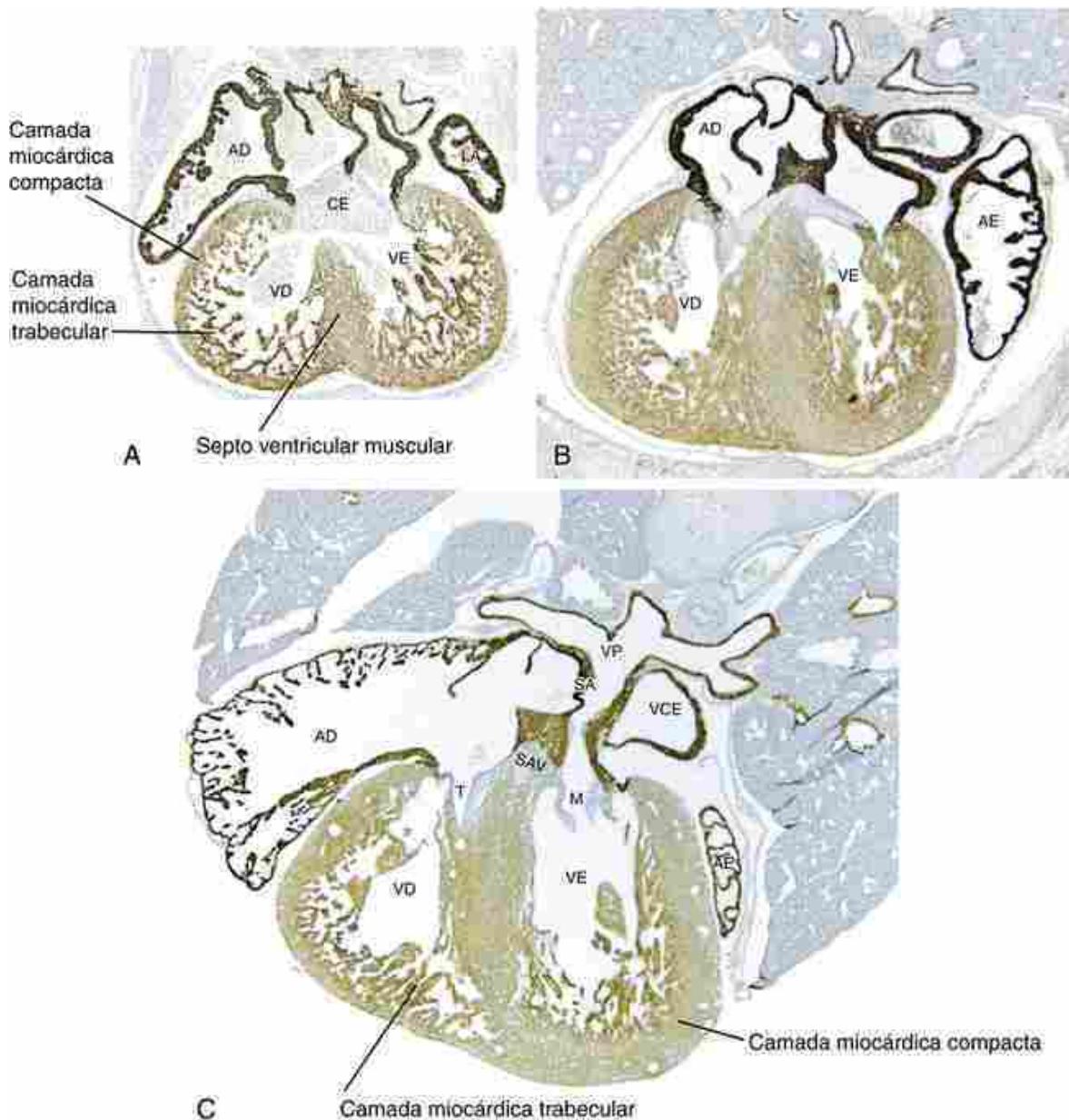


FIGURA 12-25 Fotomicrografias mostrando o desenvolvimento da valva atrioventricular, do septo ventricular muscular e das camadas trabecular e compacta do miocárdio no embrião de camundongo em desenvolvimento. A-C, Amostras de tecido foram imunomarcadas com um anticorpo que reconhece uma forma atrial da cadeia leve de miosina expressa nos átrios e ventrículo nesse estágio do desenvolvimento. SA, septo atrial; SAV, septo atrioventricular; CE, tecidos do coxim endocárdico; VCE, veia coronária esquerda; M e T, valvas mitral e tricúspide em desenvolvimento, respectivamente; VP, veia pulmonar; AD e AE, átrios direito e esquerdo, respectivamente; VD e VE, ventrículos direito e esquerdo, respectivamente; SV, septo ventricular muscular.

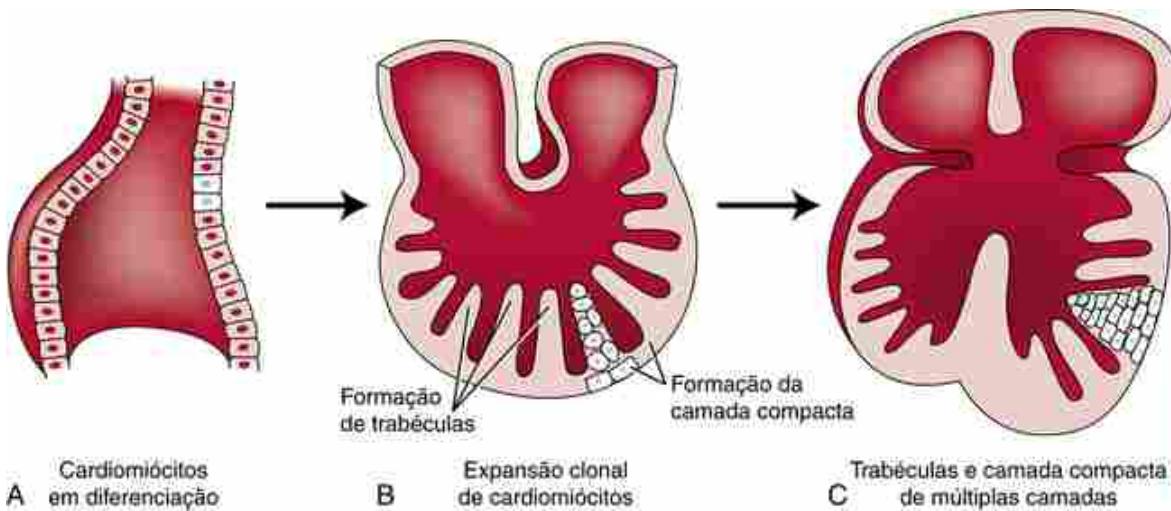


FIGURA 12-26 Formação das trabéculas cardíacas. A-C, As trabéculas miocárdicas se desenvolvem por expansão clonal de cardiomiócitos dentro da parede do miocárdio e são, subsequentemente, remodeladas à medida que o coração aumenta de tamanho. A expansão clonal da camada compacta em um miocárdio de múltiplas camadas exige interações tecido-tecido com o epicárdio em desenvolvimento.

Na parede direita do septo ventricular muscular desenvolve-se uma trabécula proeminente, denominada **trabécula septomarginal (faixa moderadora)**. Devido à expansão da entrada da câmara ventricular direita, a trabécula septomarginal cruza a parede lateral direita, estendendo-se na direção do músculo papilar anterior da valva tricúspide em desenvolvimento (Fig. 12-24C). A expansão da entrada da câmara ventricular direita aciona a formação de uma grande parte da câmara ventricular cardíaca madura. Se a expansão dessa área for insuficiente, a porção tricúspide que está em desenvolvimento no canal atrioventricular poderá permanecer associada ao forame ventricular primário, causando atresia tricúspide e outras anomalias valvares.

No Laboratório de Pesquisa

O miocárdio desenvolve duas camadas

Conforme mencionado anteriormente, a parede do miocárdio desenvolve duas camadas básicas: uma **camada trabecular** interna de miocárdio e uma **camada compacta** externa de miocárdio. A camada trabecular contribui para a contração cardíaca e aumenta a área de superfície interna, facilitando, assim, a troca nutricional e gasosa durante o desenvolvimento da vasculatura coronária. As trabéculas crescem pela expansão clonal das células miocárdicas, levando à formação dessas invaginações miocárdicas (Figs. 12-25 e 12-26). Em camundongos, os receptores de Egf ErbB2 e ErbB3 (expressos no miocárdio) e um de seus ligantes, a neuregulina (expressa no endocárdio), são necessários para o desenvolvimento trabecular e também para a sobrevivência gestacional. Em humanos, a produção excessiva de trabéculas à custa da camada miocárdica compacta causa a **não compactação ventricular isolada**, quadro que pode causar insuficiência cardíaca súbita. A formação da camada externa compacta de miocárdio necessita de uma interação com o epicárdio em desenvolvimento. Uma camada compacta de miocárdio fina pode ser resultante de deficiências na interação entre células derivadas do epicárdio e a parede miocárdica externa. Por exemplo, em camundongos nulos para o receptor do ácido retinoico RXR α , a proliferação das células miocárdicas na camada compacta é falha e os camundongos morrem precocemente no útero. Receptores do ácido retinoico são expressos nas células epicárdicas; em resposta ao ácido retinoico, o epicárdio libera Fgfs que estimulam a proliferação das células miocárdicas. Quando não há sinalização de ácido retinoico, os cardiomiócitos se diferenciam prematuramente e sofrem hipertrofia em vez de proliferarem primeiro. Esses camundongos apresentam cardiomiopatia dilatada ao nascimento.

Desenvolvimento das valvas atrioventriculares

As valvas atrioventriculares começam a se formar entre a 5^a e a 8^a semana. Esses **folhetos valvares** são firmemente enraizados em tecido conjuntivo (o **ânulo fibroso**) adjacente aos canais atrioventriculares direito e esquerdo e acredita-se que eles surjam da proliferação e diferenciação dos tecidos do coxim endocárdico adjacente. O processo de formação das valvas maduras ainda não está completamente esclarecido. Estudos morfológicos e de rastreamento de linhagem em diversos modelos animais mostram que a maior parte das células dos folhetos provém do tecido do coxim

endocárdico, com alguma contribuição das células oriundas do epicárdio (Fig. 12-27A, B). Os folhetos são liberados da parede miocárdica por remodelação e erosão da parede miocárdica ventricular. Isso leva à formação de bolsas ventriculares abaixo dos primórdios da valva, deixando finos cordões celulares que formam as **cordas tendíneas** e pequenos acúmulos de miocárdio denominados **músculos papilares** (Fig. 12-27B, C). Os folhetos das valvas são projetados de modo a se dobrarem para trás para permitir que o sangue entre nos ventrículos dos átrios durante a diástole, mas se fecham para evitar o fluxo inverso quando os ventrículos se contraem durante a sístole. A valva atrioventricular esquerda apresenta apenas os folhetos anteriores e o posterior e é denominada **valva mitral (bicúspide)**. A valva atrioventricular direita geralmente (mas nem sempre) desenvolve uma terceira **cúspide septal** pequena durante o 3º mês; portanto, ela é denominada **valva tricúspide** (Fig. 12-27C).

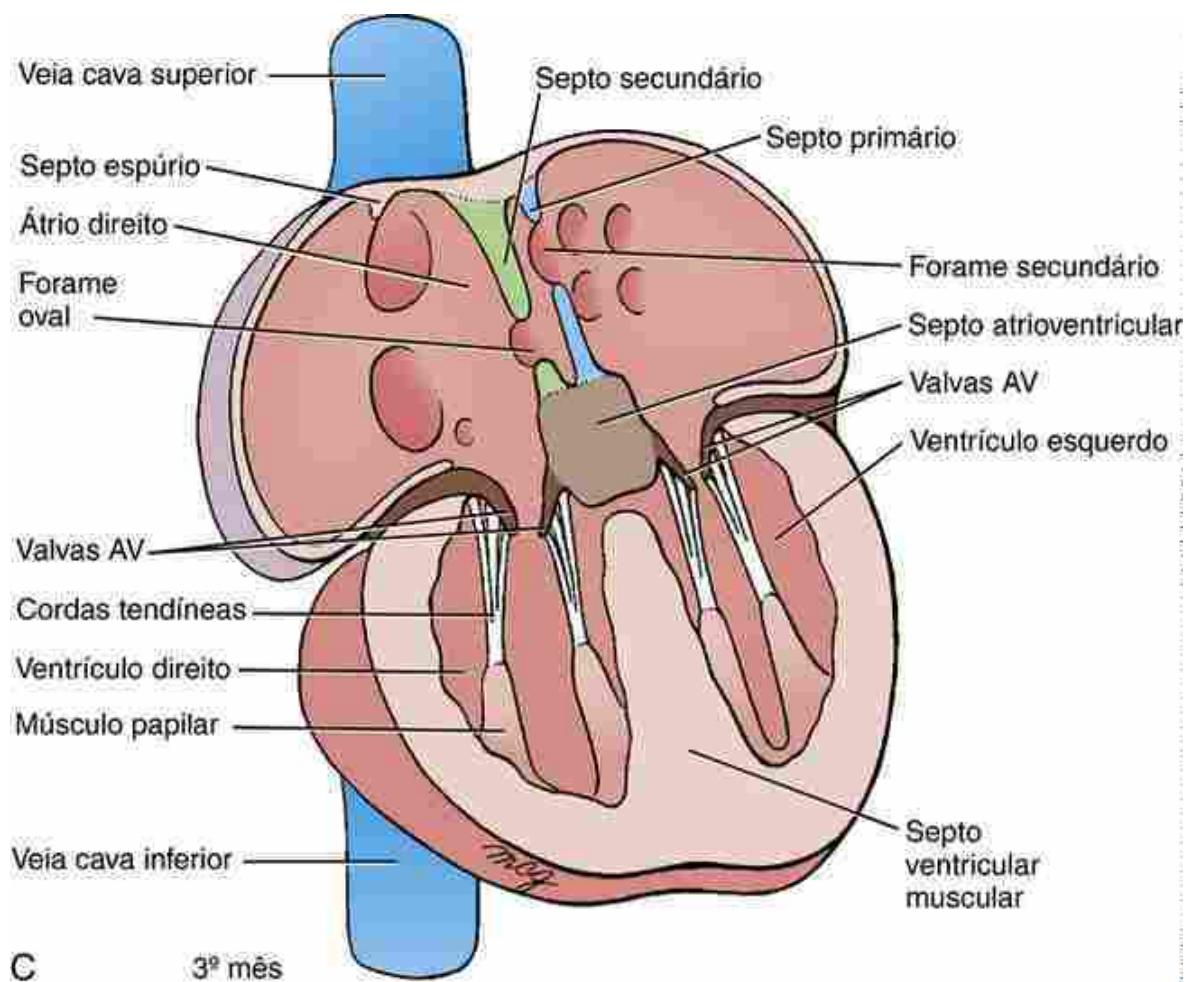
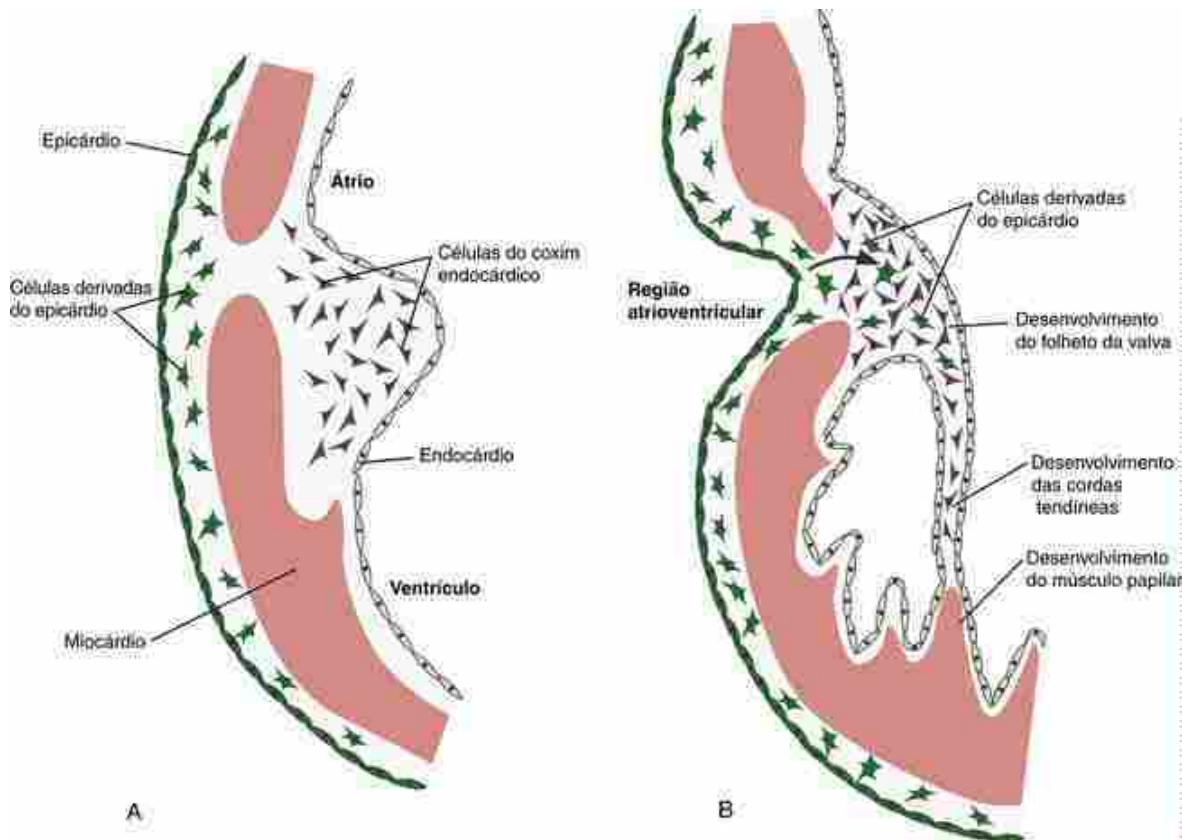


FIGURA 12-27 Desenvolvimento das valvas atrioventriculares. **A, B**, Porção da parede do ventrículo

direito em dois estágios do desenvolvimento da valva atrioventricular. As estruturas que compõem as valvas atrioventriculares, incluindo os músculos papilares, as cordas tendíneas e as cúspides, são esculpidas a partir das paredes musculares dos ventrículos. Os folhetos das valvas são provenientes do tecido do coxim endocárdico, com alguma contribuição das células oriundas do epicárdio ao longo da margem da região atrioventricular. A seta em *B* indica a direção da migração dessas células.*C*, A valva tricúspide definitiva no interior do ventrículo direito não é completamente formada até o desenvolvimento de uma cúspide septal no 3º mês.

Septação da via de saída e conclusão da septação ventricular

Quando o septo ventricular muscular para de crescer, os dois ventrículos ainda se comunicam um com o outro através do forame interventricular (Fig. 12-28A-C). A separação do trato de saída e dos ventrículos deve ser coordenada com o realinhamento do trato de saída em relação aos ventrículos para que o coração funcione corretamente. Não é surpresa que uma grande proporção das malformações cardíacas resulte de erros deste processo complexo (discutido mais adiante neste capítulo).

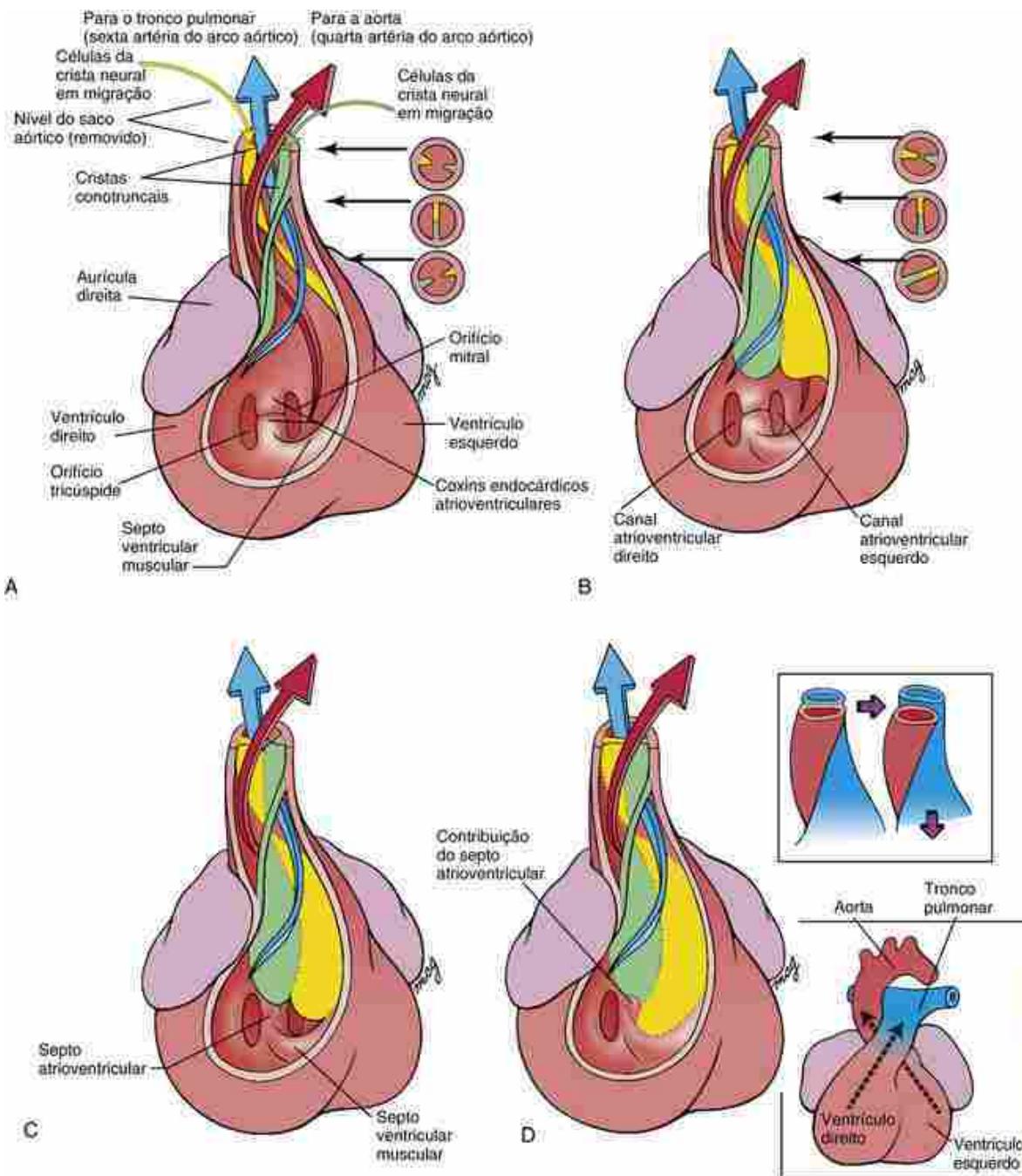


FIGURA 12-28 Septação do trato de saída e conclusão da separação ventricular. Vista oblíqua à direita. A parede craniolateral do ventrículo direito foi removida para mostrar o interior da câmara ventricular direita e os futuros tratos de saída de ambos os ventrículos. **A, B.** Começando na 5^a semana, as cristas conotruncais crescem a partir das paredes do trato de saída comum. Essas intumescências são preenchidas por células do coxim derivadas do endocárdio e das células da crista neural e se desenvolvem em uma configuração espiralada. Elas se fundem entre si em uma direção cranial-caudal, formando o septo cronotrunca, que separa os tratos de saída aórtico e pulmonar. As estruturas circulares à direita do trato de saída em desenvolvimento ilustram desenhos de seções transversais em três níveis proximodistais. **C, D.** Até a 9^a semana, a extremidade caudal do septo conotrunca terá atingido o nível da porção muscular do septo ventricular e o septo atrioventricular. Nesse ponto, ele se funde com esses outros para completar o septo ventricular.

A divisão do trato de saída cardíaco é complexa e ainda não foi totalmente entendida. O trato de saída cardíaco é dividido pela formação de um par de **coxins do trato de saída derivados do endocárdio** que se desenvolve no trato de saída em alongamento à medida que miocárdio derivado do segundo campo cardíaco é acrescentado. Esses coxins endocárdicos podem ser diferenciados em partes proximais (conais) e distais (truncais). Os coxins proximais se fundem para formar o septo de saída e a parede da porção do cone de ambos os ventrículos. O septo proximal do trato de saída (septo conal) torna-se muscularizado por um processo denominado **miocardialização**, enquanto as células do coxim são substituídas por células miocárdicas que invadem esta área. Em camundongos com trissomia do cromossoma 16

(modelo para **síndrome de Down** em seres humanos) essa miocardialização falha, aumentando a incidência de malformações septais relacionadas ao trato de saída, que são comuns em pacientes com síndrome de Down.

O processo de rotação do trato de saída e do tecido do coxim é necessário para o alinhamento adequado da aorta e do tronco pulmonar com seus respectivos ventrículos. Foi proposto que esse realinhamento se desenvolve pela adição assimétrica de miocárdio derivado do segundo campo cardíaco na extremidade arterial, resultando na rotação anterior do orifício e do tronco pulmonar à frente da aorta, com o orifício aórtico permanecendo em justaposição ao canal AV esquerdo. Como consequência, os tratos de saída ventriculares esquerdo e direito e, por fim, a aorta e o tronco pulmonar, são torcidos um em torno do outro em um arranjo helicoidal (Fig. 12-28D) — um arranjo que ainda é óbvio no adulto. Além do septo do trato de saída, uma projeção de tecido mesenquimal se desenvolve entre os vasos do quarto e do sexto arcos aórticos (separando os futuros circuitos sistêmico e pulmonar) no teto do saco aórtico. Essa projeção condensada de tecido mesenquimal derivado da crista neural forma o **septo aorticopulmonar** (Fig. 12-29), que se estende na direção dos coxins do trato de saída em desenvolvimento e se funde a eles. A fusão subsequente dos coxins pareados do trato de saída prossegue proximalmente (no sentido contrário ao fluxo sanguíneo), separando em primeiro lugar a parte distal e, depois, a porção proximal do trato de saída.

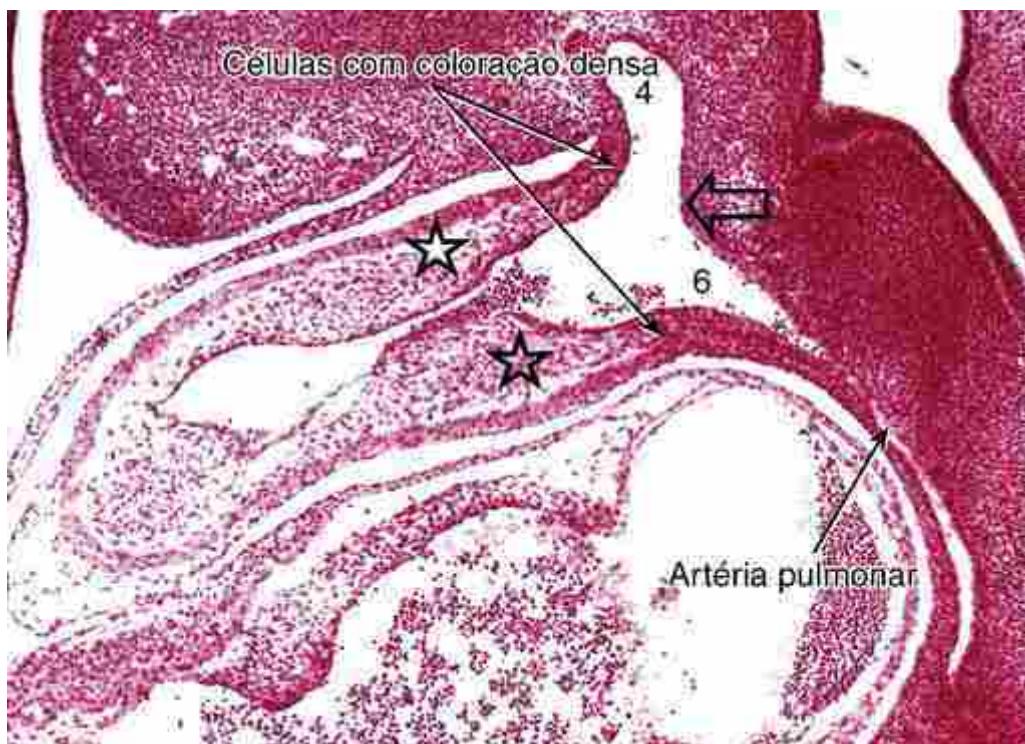


FIGURA 12-29 Divisão do trato de saída no embrião humano. O septo aorticopulmonar em desenvolvimento (indicado pela seta vazada) se desenvolve entre o quarto (4) e o sexto (6) vasos do arco aórtico no teto do saco aórtico e se estende na direção dos coxins do trato de saída que estão se fundindo (estrelas). As células com coloração densa incluem células da crista neural em migração.

A separação dos ventrículos direito e esquerdo é concluída quando o septo ventricular muscular se funde com o septo do trato de saída e com o lado ventricular do septo atrioventricular. O desenvolvimento dessa parte **membranosa** do **septo ventricular** normalmente ocorre entre a 5^a e a 8^a semana. Uma falha na fusão completa acarreta um defeito no septo ventricular (consulte, mais adiante, o quadro “Na Clínica” intitulado “Malformações Cardíacas Comuns: Defeitos do Septo Ventricular”).

Desenvolvimento das valvas semilunares

Durante a formação do septo do trato de saída, dois coxins menores adicionais se formam em quadrantes opostos do trato de saída distal, denominados **coxins intercalados** (Fig. 12-30). Os dois principais coxins do trato de saída, juntamente com os coxins laterais intercalados, são escavados para formar cavidades na origem das futuras aorta ascendente e artéria pulmonar. Essas cavidades e o tecido interposto constituem os primórdios das **valvas semilunares** e dos **seios semilunares**. Recentes estudos em camundongos mostram que os folhetos das valvas semilunares têm origem principalmente do coxim derivado do endocárdio, com alguma contribuição de células da crista neural e, possivelmente, de células epicárdicas. O desenvolvimento das valvas semilunares é concluído até a 9^a semana nos seres

humanos.

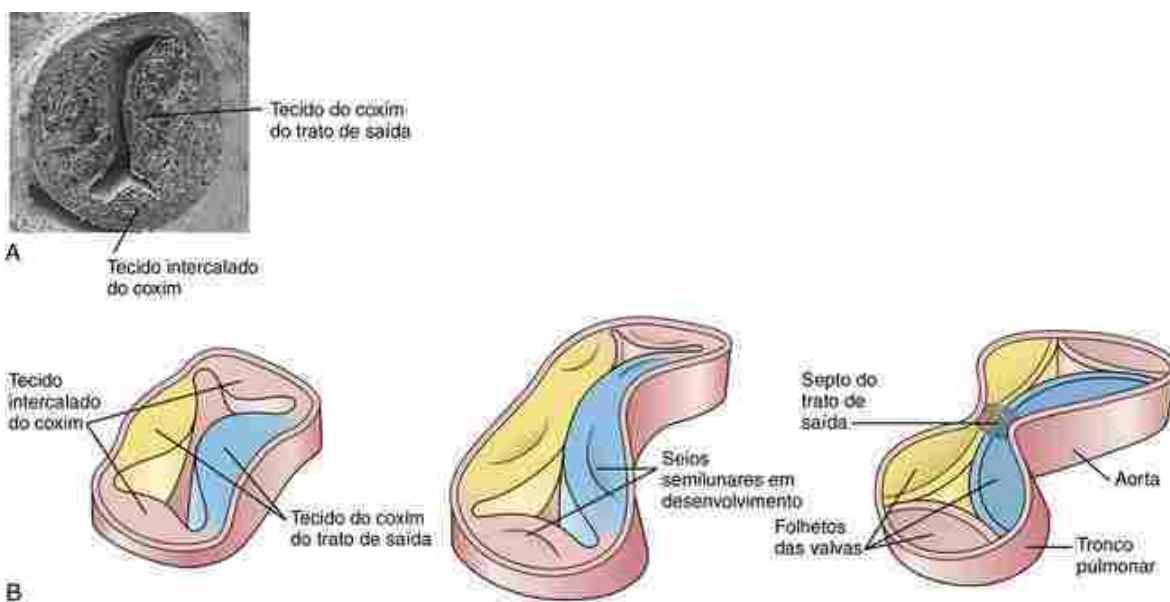


FIGURA 12-30 Formação das valvas semilunares. A, B, Durante a formação do septo do trato de saída, dois tecidos do coxim menores e mais curtos intercalados se formam nos quadrantes opostos. No local dos óstios aórtico e pulmonar, esse novo tecido do coxim é escavado e remodelado dentro da parede de cada novo vaso para formar três cavidades. Essas cavidades e o tecido interposto são subsequentemente remodelados para formar os seios valvares e as valvas semilunares.

No Laboratório de Pesquisa

Contribuição das células da crista neural para a septação do trato de saída

A importância das células da crista neural na septação do coração foi inicialmente mostrada em estudos de ablação realizados em embriões de galinha há cerca de trinta anos. Se as progenitoras das células da crista neural cardíaca forem removidas dos embriões antes que as células da crista neural comecem a migrar, o dobramento cardíaco será anormal e a septação do trato de saída será incompleta. A ablação das células da crista neural cardíaca causa a persistência do tronco arterioso, estenose da tricúspide, defeitos do septo ventricular, transposição das grandes artérias, ventrículo direito com dupla via de saída e tetralogia de Fallot (consulte o quadro “Na Clínica” a seguir, com o título “Malformações Cardíacas Comuns: Tetralogia de Fallot”). Além disso, muitas malformações estruturais cardiovasculares congênitas envolvem anomalias da linhagem da crista neural cardíaca. Evidências adicionais quanto ao papel das células da crista neural no desenvolvimento do coração são encontradas na frequente associação dessas anomalias cardíacas a defeitos no desenvolvimento de estruturas dos arcos faríngeos – através dos quais as células da crista neural cardíaca normalmente migram. Malformações congênitas em seres humanos que envolvem o trato de saída e os arcos faríngeos incluem a **síndrome CHARGE** (coloboma do olho, malformações cardíacas, atresia das coanas, retardo no crescimento e no desenvolvimento, anomalias genitais e urinárias, anomalias da orelha e perda auditiva), **síndrome alcoólica fetal** e **síndrome da deleção de 22q11.2** (também conhecida como **síndrome de DiGeorge** ou **síndrome velocardiofacial**; essas síndromes serão abordadas posteriormente no Cap. 17).

As células da crista neural que contribuem para a via de saída e para o septo aorticopulmonar são originárias de um determinado nível do futuro rombencéfalo e, muitas vezes, são denominadas **células da crista neural cardíaca** (Fig. 12-31). Tanto estudos de rastreamento de células usando quimeras galinha-codorna quanto camundongos transgênicos com gene repórter (ambas as abordagens experimentais são discutidas no Cap. 5) revelaram que não só as células da crista neural invadem os coxins endocárdicos do trato de saída, mas um subgrupo invade e se localiza em posição adjacente ao septo ventricular e ao canal atrioventricular, algumas delas também penetrando o trato de entrada venosa. Além disso, as evidências sugerem que, depois de certo tempo, essas células da crista neural sofrem apoptose. Sua função nessas regiões é obscura, mas pode estar relacionada com a remodelação necessária para realinhar o canal atrioventricular e com os processos de miocardialização na região do trato de saída proximal e na região de influxo. Além de contribuir para o tecido conjuntivo e para a musculatura lisa do

trato de saída distal, para o septo aorticopulmonar e para a parede da aorta e o tronco pulmonar, as células da crista neural dão origem aos neurônios parassimpáticos pós-ganglionares do coração (gânglios cardíacos).

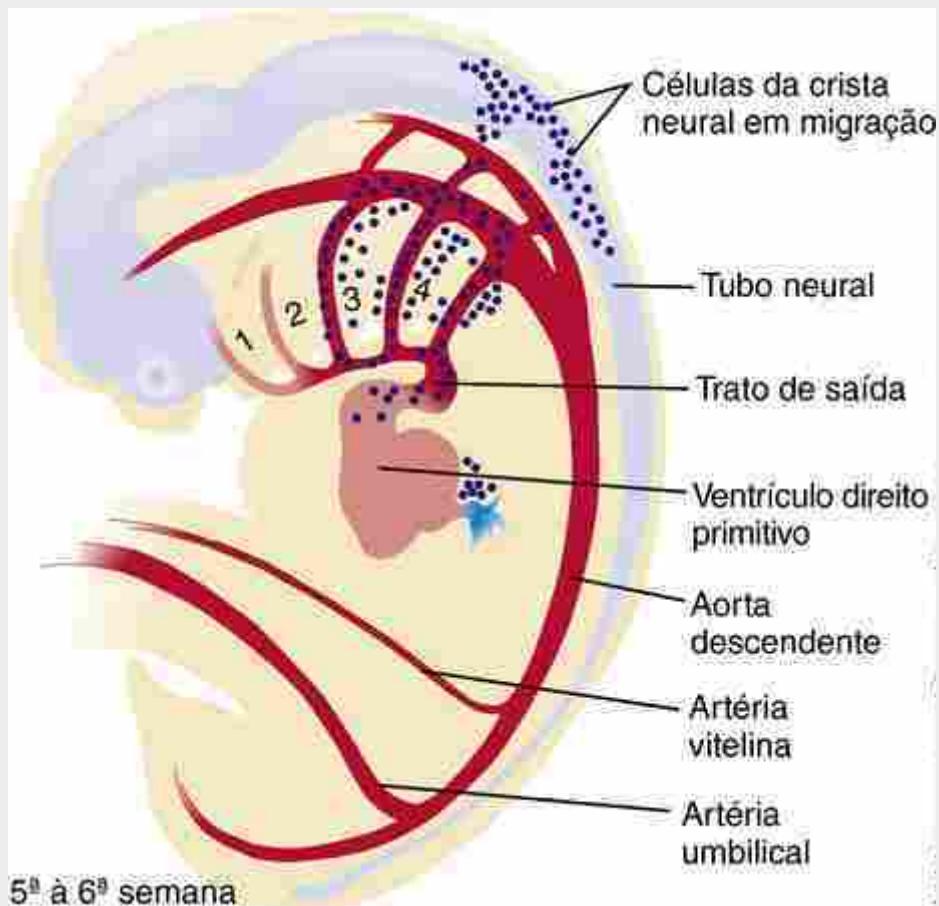


FIGURA 12-31 Origem e rota de migração das células da crista neural cardíaca. As células da crista neural migram do rombencéfalo através dos arcos faríngeos 3, 4 e 6, invadem o trato de saída e contribuem com células mesenquimais para o septo do trato de saída. Algumas células da crista neural também entram na região de influxo venoso.

Como mencionado anteriormente, a perda de células mesenquimais derivadas de células da crista neural no trato de saída causa, diretamente, malformações cardiovasculares. A perda de mesênquima derivado de células da crista neural no coração pode ser proveniente de falha na formação, migração ou proliferação da crista neural. Perturbações na formação, migração e diferenciação de células da crista neural resultam em hipoplasia da crista neural e em um número inadequado de células mesenquimais derivadas da crista neural que atingem o coração. Foi mostrado que vários genes desempenham papéis importantes na manutenção do número e migração adequados das células da crista neural cardíaca. Camundongos *Splotch*, caracterizados por uma mutação de Pax3, apresentam um número reduzido de células da crista neural que alcançam os arcos faríngeos e entram no trato de saída. O fenótipo desses camundongos se assemelha ao dos embriões em que as células da crista neural são removidas, incluindo tronco arterioso persistente e defeitos no septo ventricular. Essas malformações cardíacas, mas não as malformações axiais associadas aos camundongos *Splotch*, são resgatadas com o uso de promotores e *enhancers* que dirigem a expressão inicial de Pax3 específica na célula da crista neural em camundongos *Splotch* transgênicos.

Animais duplo *knockouts* para o receptor do ácido retinoico (p. ex., RAR α 1 e todos os RAR β 1-3) apresentam defeitos intrínsecos do miocárdio, mas também exibem anomalias do desenvolvimento cardíaco similares às produzidas pela remoção das células da crista neural. Estudos de rastreamento de linhagem de células da crista neural em camundongos com deficiência de RAR α 1/RAR β sugerem que as próprias células da crista neural não respondem diretamente ao ácido retinoico, mas, em vez disso, que os efeitos sobre as células da crista neural cardíaca são indiretos. Outras moléculas importantes para o direcionamento ou ativação da migração das células da crista neural cardíaca são as semaforinas, uma família de moléculas secretadas importantes para a orientação dos axônios, bem como para a orientação da migração das células da crista neural. Sema3C e seus receptores, complexos de plexinas e neuropilinas são importantes no direcionamento das células da crista neural para os arcos

farígeos e para o trato de saída, pois camundongos sem Sema3C e neuropilina apresentam tronco arterioso persistente e grandes malformações vasculares.

As endotelinas e suas enzimas conversoras e receptores também desempenham importantes funções no desenvolvimento da crista neural cardíaca. O *knockout* de receptores de endotelina ou de suas enzimas conversoras em camundongos causa diversos defeitos relacionados às células da crista neural, incluindo defeitos do septo ventricular, defeitos semelhantes à síndrome de DiGeorge, anomalias no arco faríngeo (discutidas no [Cap. 13](#)) e defeitos no sistema nervoso entérico (discutidos no [Cap. 14](#)), o que pode ser uma consequência de hipoplasia da crista neural e não um defeito na migração da crista neural. Em camundongos *knockout* para o receptor de Tgf β tipo II, especificamente nas células da crista neural, ocorrem defeitos cardiovasculares similares aos observados na síndrome de DiGeorge. Nesse caso, a migração das células da crista neural para o trato de saída parece normal. Entretanto, sua diferenciação subsequente em células da musculatura lisa e em tecido conjuntivo é falha, resultando em tronco arterioso persistente e em defeitos do septo ventricular.

Algumas malformações cardíacas podem estar relacionadas com interações entre o segundo campo cardíaco e células da crista neural

Segundo comentado anteriormente, se as células da crista neural cardíaca forem removidas de animais experimentais antes da sua migração, ocorrerão vários defeitos septais e do trato de saída. No entanto, esses embriões exibem outros sinais de desenvolvimento cardíaco anormal, incluindo defeitos no dobramento cardíaco e defeitos precoces de contratilidade, bem antes do estágio em que as células da crista neural começam a invadir o coração. Conforme mencionado anteriormente, mutações pontuais em Tbx1 causam defeitos cardíacos, como tronco arterioso persistente e tetralogia de Fallot. Tbx1 é expresso no endoderma e no mesoderma do segundo campo cardíaco no polo arterial e a deficiência de Tbx1 leva a níveis diminuídos de Fgf8 nessa região. Recentes estudos em embriões de galinha e camundongo sugerem que níveis específicos de Fgf8 são necessários para a proliferação celular adequada do segundo campo cardíaco. A remoção das células da crista neural aumenta os níveis de Fgf8 no segundo campo cardíaco, resultando em defeitos do trato de saída que podem ser resgatados pela adição de anticorpos bloqueadores de Fgf8 em embriões de galinha. A sinalização por notch também tem um papel essencial, pois a perda de sinalização notch resulta na migração anormal da crista neural, altera a sinalização de Fgf8 no segundo campo cardíaco e causa defeitos no trato de saída e nos grandes vasos. Portanto, parece que as células da crista neural são necessárias para a manutenção de níveis específicos de Fgf8 no segundo campo cardíaco — níveis necessários para o alongamento adequado do trato de saída, para o dobramento cardíaco e para o realinhamento. As células da crista neural também podem regular a expressão de vários outros genes no segundo campo cardíaco, incluindo goosecoid, Dlx2 e Dlx3 e Hand2. Portanto, o desenvolvimento anormal das células da crista neural pode causar um desenvolvimento aberrante do coração por outros meios além da perda de células do coxim derivadas de células da crista neural no coração.

Desenvolvimento do marca-passo e do sistema de condução

O coração é um dos poucos órgãos que tem de funcionar tão logo se forma. As ondas rítmicas de despolarização elétrica (potenciais de ação) que acionam as contrações do miocárdio surgem espontaneamente no próprio músculo cardíaco e são transmitidas de uma célula para outra. O estímulo neural simpático e parassimpático que surge mais tarde no desenvolvimento do coração modifica o ritmo cardíaco, mas não inicia a contração. Cardiomiócitos removidos do tubo cardíaco primário e mantidos em cultura de tecidos começarão a bater em uníssono se se tornarem conectados uns aos outros, e estudos com corantes sensíveis à voltagem indicam que os cardiomiócitos podem começar a produzir atividade elétrica mesmo antes da fusão dos dois tubos endocárdicos iniciais.

A regulação dos níveis de cálcio e o acoplamento excitação-contração são essenciais para o primeiro batimento cardíaco. Em embriões de camundongo sem o trocador de sódio-cálcio Ncx1, o tubo cardíaco primário não apresenta batimento e os embriões são inviáveis. Em um coração maduro com funcionamento normal, o batimento é iniciado no **nó sinoatrial (SA)** (**o marca-passo**), que tem uma frequência de despolarização espontânea mais elevada do que o resto do miocárdio. Além disso, a despolarização se dissemina do nó SA para o resto do coração ao longo de **vias de condução** especializadas que controlam a temporização da contração de várias regiões do miocárdio, assegurando que as câmaras se contraiam eficientemente e na sequência correta.

No tubo cardíaco primário, os cardiomiócitos começam a se contrair de forma assíncrona. A atividade do marca-passo começa em uma região transitória do nó SA esquerdo que é reposicionada para um nó SA direito, encontrado na linha limítrofe da entrada da veia cardinal comum direita. Essas células, derivadas da parte posterior do segundo campo cardíaco, por fim se diferenciam para formar o componente contrátil do marca-passo do nó SA oval situado na transição da veia cava superior e do átrio direito.

Logo depois do desenvolvimento do nó SA, as células do interior da junção atrioventricular adjacente ao coxim

endocárdico começam a formar um segundo marca-passo, o **nó atrioventricular (AV)**, que regula a condução dos impulsos provenientes do átrio para os ventrículos e coordena a contração dos dois ventrículos. A principal via de condução entre o nó SA e o nó AV percorre a crista terminal, embora ainda haja controvérsias acerca de quais vias internodais realmente existem. O desenvolvimento do nó AV é acompanhado pela formação de um feixe de células condutoras especializadas, o **feixe de His**, que envia um ramo (ramo esquerdo do deixe) ao longo da superfície do lado esquerdo do septo ventricular e outro ramo (ramo direito) ao longo da superfície direita do septo ventricular e para a faixa moderadora. Essa via condutora deve ser cuidadosamente evitada durante o reparo de defeitos do septo ventricular. Ramos das **fibras de Purkinje** que se espalham a partir dos ramos dos feixes direito e esquerdo, a seguir, fornecem o sinal de despolarização ao resto do miocárdio ventricular.

A ontogenia detalhada do sistema de condução cardíaca é obscura. Entretanto, a maior parte da via de condução surge do mesoderma cardiógeno e dos cardiomiócitos. As células miocárdicas do sistema condutor, em princípio, são contráteis, mas se diferenciam em células especializadas para a geração e condução dos potenciais de ação responsáveis pela mediação da contração rítmica e ondulatória do coração. A expressão de Tbx2 e Tbx3, importante para a padronização do miocárdio fora das câmaras (p. ex., miocárdio do canal atrioventricular e da via de saída), é necessária para o desenvolvimento adequado do sistema de condução (Fig. 12-32). A expressão subsequente da sinalização de endotelina e neuregulina do endocárdio e do endotélio coronário superpostos desempenha um importante papel na mediação da diferenciação das células que constituem o sistema de condução central e o de Purkinje. Os níveis da expressão de Nkx2.5 aumentam durante o desenvolvimento do sistema de condução e medeiam a expressão de proteínas de junção comunicante essenciais para o acoplamento de cardiomiócitos especializados. Camundongos haploinsuficientes para Nkx2.5 apresentam grave hipoplasia do sistema condutor. Nos seres humanos, mutações em Nkx2.5 estão associadas a anomalias estruturais do sistema de condução e a doenças progressivas do sistema de condução atrioventricular. Entender o desenvolvimento dessa rede é importante, pois muitos adultos sofrem de arritmias, e algumas anomalias associadas a mutações em genes controladores do desenvolvimento desempenham funções essenciais no desenvolvimento do coração. Um melhor entendimento do desenvolvimento embrionário do sistema de condução pode esclarecer a base etiológica das arritmias congênitas.

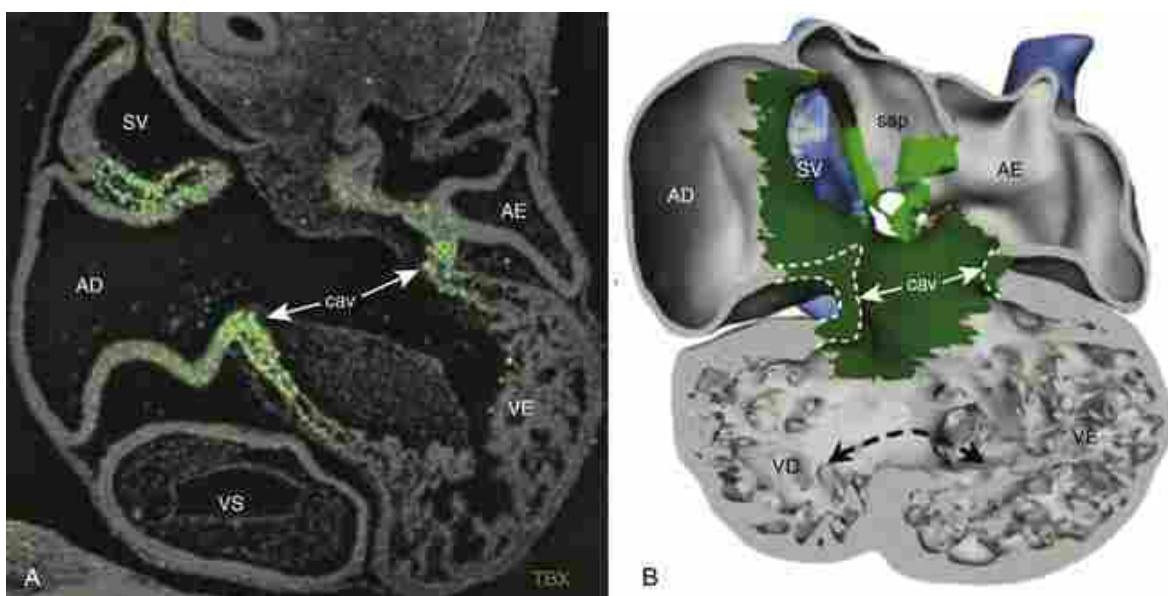


FIGURA 12-32 Padrão da expressão de TBX3 no coração de um embrião humano de 5 semanas. *A*, Localização da expressão do mRNA de TBX3 na região atrioventricular e no seio venoso por hibridização *in situ*. *B*, Reconstrução tridimensional da expressão de TBX3 mostrando a expressão predominante em regiões em que o marca-passo e o sistema de condução se desenvolvem. A seta tracejada indica o local do forame interventricular. cav, coxim atrioventricular; AE, átrio esquerdo; VE, ventrículo esquerdo; TS, trato de saída; sap, septo atrial primário (septo primário); AD, átrio direito; VD, ventrículo direito; SV, seio venoso.

Desenvolvimento do epicárdio e da vasculatura coronariana

O progenitor do epicárdio, o **órgão pró-epicárdico**, consiste em um grupo especial de células mesodérmicas esplâncnicas formadas na junção caudal/dorsal do mesocárdio com o septo transverso (Fig. 12-33A; também a Fig. 12-19B). As células pró-epicárdicas expressam a proteína do tumor de Wilm 1 (Wt1) e Tbx18. Com exceção das células

precursoras do epicárdico que migram do mesocárdio craniodorsal para cobrir uma porção do trato de saída, as células do órgão pró-epicárdico migram como uma lâmina epitelial de células ao longo de toda a superfície do miocárdio ([Fig. 12-33B](#)). Ao cobrir a superfície do miocárdio, o epitélio epicárdico deposita e organiza uma matriz extracelular entre o epitélio epicárdico e o miocárdio. Isso é seguido por uma transição epitelio-mesenquimal do epitélio epicárdico, gerando uma população de células mesenquimais que invade a matriz extracelular subepicárdica da mesma maneira que o tecido do coxim derivado do endocárdio é gerado. Recentes estudos sugerem que essas **células mesenquimais derivadas do epicárdio** não apenas formam fibroblastos cardíacos e músculo liso vascular coronário, mas que elas também se diferenciam em cardiomiócitos funcionais que contribuem para a formação do septo ventricular muscular e dos átrios e com outras poucas células espalhadas pelos ventrículos.

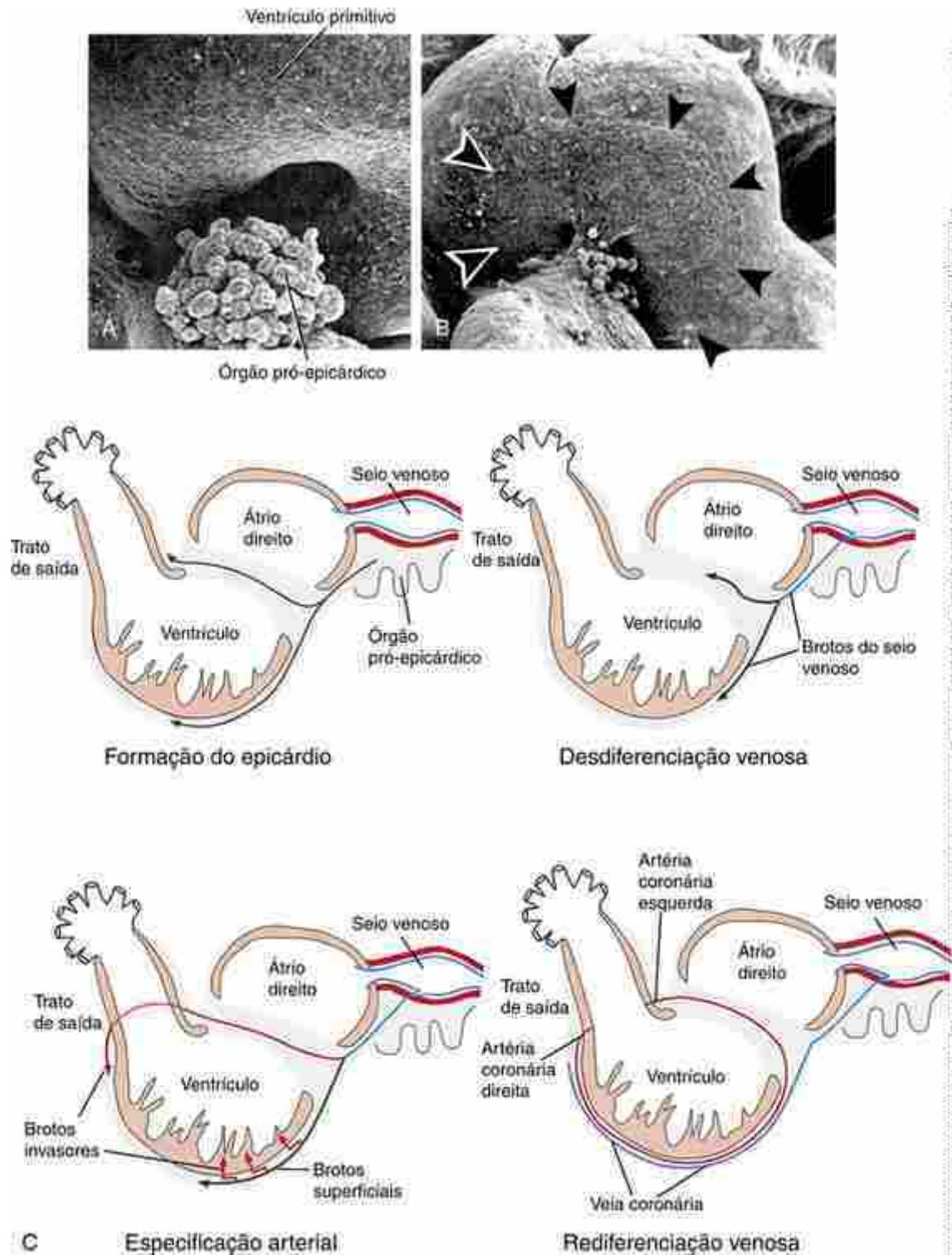


FIGURA 12-33 Formação do epicárdio e dos vasos coronários. **A, B**, O epicárdio é formado por células em migração oriundas do órgão pró-epicárdico encontrado na região do seio venoso. Conforme indicado nessas micrografias eletrônicas de varredura, essas células migram e cobrem todo o miocárdio (*pontas de seta*), formando, por fim, o epicárdio. **C**, Os precursores endoteliais dos vasos coronários surgem de brotamentos do seio venoso. Esses brotamentos perdem seu fenótipo venoso, migram através do epicárdio e também invadem o miocárdio. Os brotamentos invasores formam células endoteliais que expressam marcadores arteriais e, por fim, formam os endotélios arteriais coronários direito e esquerdo. Os brotamentos superficiais formam o endotélio venoso coronário. Células derivadas do epicárdio formam o músculo liso vascular coronário e fibroblastos cardíacos, e um subgrupo também se diferencia em cardiomiócitos.

Até recentemente, acreditava-se que as células mesenquimais derivadas do epicárdio forneciam as células progenitoras para o endotélio coronário. Entretanto, estudos em camundongos mostram que as células endoteliais coronárias, na realidade, surgem por angiogênese (brotando de vasos sanguíneos preexistentes; assunto discutido no Cap. 13) do seio venoso (Fig. 12-33C). Células precursoras endoteliais do seio venoso se desdiferenciam (perdem

marcadores venosos) e migram, invadindo o miocárdio. Essas células se diferenciam em células endoteliais coronárias de artérias e capilares (expressam marcadores arteriais), com apenas uma pequena contribuição de células endoteliais provenientes do revestimento endocárdico. As células precursoras endoteliais que permanecem na superfície do coração se rediferenciam em células endoteliais venosas. Os processos angiogênicos que levam à formação da rede vascular coronária envolvem muitas das mesmas moléculas de sinalização e eventos regulatórios que ocorrem durante a formação dos vasos sanguíneos em outras partes do embrião (discutido no Cap. 13). A conexão da vasculatura coronária em desenvolvimento com a aorta ocorre pela invasão das artérias coronárias em desenvolvimento através da parede da aorta (ascendente). O motivo pelo qual somente dois troncos arteriais coronários se formam e como eles encontram o caminho para o futuro local dos seios aórticos ainda são pontos obscuros.

No Laboratório de Pesquisa

Micrornas como reguladores do desenvolvimento cardíaco

Estudos sugerem que os microRNAs (miRNAs) desempenham importantes papéis na regulação do desenvolvimento cardiovascular e das cardiopatias. Codificados pelo genoma, os miRNAs são transcritos e processados pelas enzimas nucleares *drosha* e *dicer* para gerar miRNAs maduros. Os miRNAs deixam o núcleo e são incorporados ao complexo indutor de silenciamento de RNA, onde se ligam a seus RNAs mensageiros (RNAm)-alvos pareados em sequência e iniciam a destruição ou inibem a tradução dos seus genes-alvo. Camundongos nulos para dicer em células que expressam Nkx2.5 desenvolvem um miocárdio ventricular hipoplásico e morrem de insuficiência cardíaca no útero. Embriões de camundongos com perda ou superexpressão direcionadas ao coração, de miRNAs específicos, desenvolvem defeitos no septo ventricular e de condução e apresentam expressão anormal de vários fatores de transcrição necessários para a proliferação e desenvolvimento normais de cardiomiócitos. A deleção de dicer das células da crista neural causa defeitos do septo ventricular, ventrículo direito com dupla via de saída e defeitos no arco aórtico, além de perda ou hipoplasia de muitas estruturas derivadas da crista neural.

Nos seres humanos, foram identificados mais de 600 miRNAs. Estudos recentes mostram que sequências de codificação para diversos miRNAs estão localizadas no cromossoma 21. Indivíduos com síndrome de Down apresentam superexpressão de vários miRNAs e diminuições correspondentes na expressão de vários genes-alvo supostamente responsáveis pelo fenótipo da síndrome de Down, incluindo malformações craniofaciais e cardíacas congênitas. Consequentemente, será necessário um maior conhecimento sobre a regulação da expressão de miRNA, sobre a identificação dos seus alvos e sobre as consequências funcionais da sua expressão para o esclarecimento dos mecanismos etiológicos responsáveis por muitas malformações congênitas.

Na Clínica

Frequência e etiologia das malformações cardiovasculares

Malformações cardiovasculares congênitas são responsáveis por aproximadamente 20% de todas as malformações congênitas observadas nos bebês nascidos vivos. Elas ocorrem em cerca de 5 a 8 de cada 1.000 nascidos vivos e o percentual em bebês natimortos provavelmente é ainda mais elevado. Além disso, o risco de recorrência em irmãos com malformações cardíacas isoladas é de 2% a 5%, indicando que as malformações cardíacas têm um componente genético.

A causa e a patogênese da maioria das malformações cardíacas ainda não foram totalmente entendidas. Na realidade, ainda não está claro quais genes e processos celulares iniciam os batimentos cardíacos e como a grande variedade de linhagens de células extracardíacas é integrada para gerar um coração maduro com quatro câmaras totalmente funcional. Entretanto, um número cada vez maior dessas malformações está sendo associado a erros genéticos específicos ou a teratógenos ambientais. De forma geral, cerca de 4% dos defeitos cardiovasculares podem ser atribuídos a mutações de um único gene, outros 6% a aberrações cromossômicas, como trissomias, monossomias ou deleções, e 5% à exposição a teratógenos específicos. Teratógenos que, sabidamente, induzem malformações cardíacas incluem não apenas agentes químicos como lítio, álcool e ácido retinoico, mas também fatores associados a certas doenças maternas, como diabetes e rubéola. A etiologia da maioria das anormalidades cardíacas remanescentes (cerca de 80% a 85%) parece ser **multifatorial**, ou seja, são originárias da interação de influências ambientais ou externas (**epigenéticas**) com uma constelação maldefinida de determinantes genéticos do próprio indivíduo. Portanto, os indivíduos podem apresentar suscetibilidades genéticas muito diferentes à ação de um teratogênio específico. A pressão arterial e o fluxo sanguíneo, fatores peculiares ao sistema cardiovascular em

desenvolvimento, desempenham funções importantes no desenvolvimento do coração, de modo que perturbações nas relações de pressão entre as câmaras cardíacas e tratos de saída causam malformações. Essas perturbações podem surgir em decorrência de vários tipos de defeitos primários — pela complacência ou deformabilidade anormal das paredes atriais, ventriculares ou do trato de saída ou pela expansão ou constrição anormal das valvas semilunares, do ducto arterioso e das grandes artérias (abordadas no Cap. 13). Por exemplo, se a ejeção de sangue do ventrículo direito for impedida por atresia da valva pulmonar, o ventrículo direito se tornará **hipoplásico** e as artérias pulmonares, subdesenvolvidas. Se o fluxo sanguíneo do átrio direito para o ventrículo direito for impedido por atresia tricúspide, o ventrículo direito se tornará **hipoplásico** e o ventrículo esquerdo ficará **hipertrofiado** devido à carga extra a ele imposta para impulsionar o sangue para a circulação pulmonar através de um defeito do septo ventricular. O fluxo interatrial excessivo pode causar um defeito no septo secundário (*septum secundum*) pelo aumento do forame oval e pela erosão das estruturas septais. O influxo resultante elevado através do lado esquerdo do coração pode interferir com a formação normal do septo do trato de saída e impedir o desenvolvimento do septo ventricular membranoso.

Malformações cardíacas comuns

Defeitos do Septo Atrial

Em aproximadamente 6 de cada 10.000 bebês nascidos vivos, o septo secundário é muito curto para cobrir por completo o forame secundário (ou o forame secundário é excessivamente grande), de modo que um **defeito do septo atrial** persiste depois que o septo primário e o septo secundário são unidos ao nascimento (Fig. 12-34). Defeitos do septo atrial causam a passagem do sangue do átrio esquerdo para o átrio direito. Bebês com essa anormalidade geralmente são assintomáticos, mas o aumento persistente de fluxo para o átrio direito pode causar o aumento do átrio direito e do ventrículo direito, resultando em arritmias atriais debilitantes em fases posteriores da vida. O fluxo sanguíneo pulmonar excessivo também causa hipertensão pulmonar ao longo do tempo, acarretando insuficiência cardíaca. Defeitos do septo atrial são detectados mais frequentemente por ecocardiografia na infância, e podem justificar fechamento por cirurgia ou por um dispositivo de oclusão para evitar o início de hipertrofia cardíaca e hipertensão pulmonar. Defeitos do septo atrial estão associados a quase todas as aberrações autossômicas e dos cromossomos sexuais documentadas, e acompanham diversas trissomias parciais e completas, incluindo a trissomia 21 (síndrome de Down).

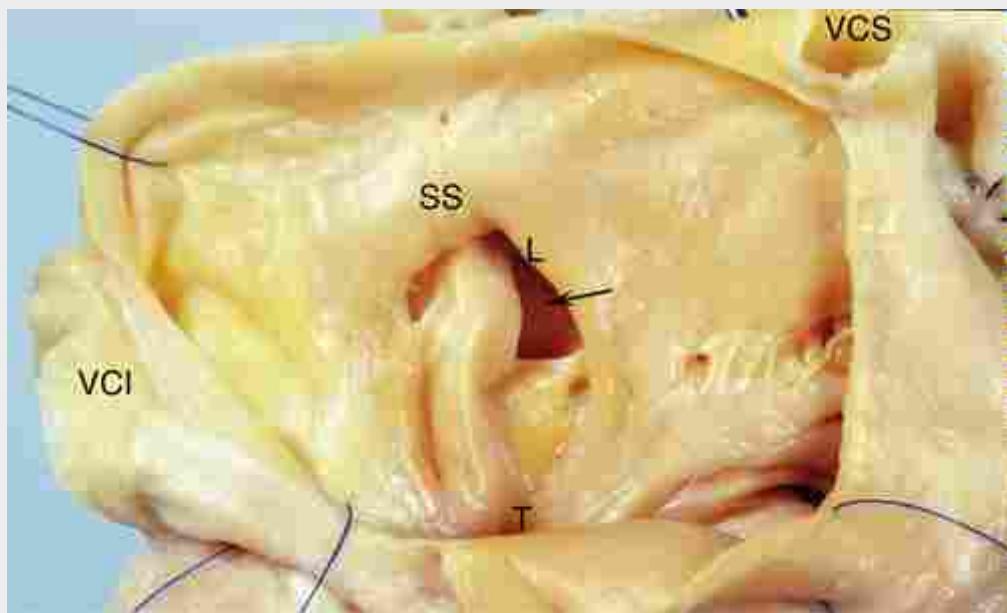


FIGURA 12-34 Coração com defeito do septo atrial (seta) de um bebê. O forame secundário e o forame oval neste coração estão anormalmente sobrepostos; portanto, o forame oval não pôde fechar no nascimento, resultando na mistura contínua de sangue dos átrios direito e esquerdo depois do nascimento. VCI, veia cava inferior; L, limbo do forame oval; VCS, veia cava superior; SS, septo secundário; T, orifício tricúspide.

Canal Atrioventricular Persistente

O **canal atrioventricular persistente** ou **defeito do septo atrioventricular** surge de falha na fusão dos coxins endocárdicos dorsal e ventral. A falha na fusão dos coxins endocárdicos dorsal e ventral pode causar uma série de anormalidades secundárias, incluindo defeitos do septo atrial, defeitos do septo ventricular e malformação das

valvas atrioventriculares. Uma consequência fisiológica do defeito é a passagem, da esquerda para a direita, do sangue após o nascimento. A intensidade depende da gravidade da malformação. Caso o defeito seja grave, é provável a ocorrência de hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva na infância. Defeitos do septo atrial, malformações nas valvas atrioventriculares e ausência de septo ventricular podem ser corrigidos cirurgicamente.

Defeitos do Septo Ventricular

Defeitos do septo ventricular constituem algumas das malformações congênitas mais comuns, sendo responsáveis por 25% de todas as anormalidades cardíacas documentadas em bebês nascidos vivos e ocorrendo como malformações isoladas em 12 de cada 10.000 nascimentos (Fig. 12-35). A prevalência dessa malformação parece estar aumentando — uma estatística que pode representar um aumento real ou refletir a aplicação de melhores métodos de diagnóstico. Um defeito do septo ventricular pode ser originário de várias causas: (1) desenvolvimento deficiente dos coxins proximais do trato de saída, (2) falha na fusão dos componentes ventriculares musculares e membranosos, (3) falha na fusão dos coxins endocárdicos dorsal e ventral (defeito do septo atrioventricular), (4) desenvolvimento insuficiente do septo ventricular muscular e (5) hemodinâmica alterada. Qualquer que seja a origem de um defeito do septo ventricular, sua consequência mais grave é a passagem do sangue da esquerda para a direita e o consequente aumento do fluxo sanguíneo para a circulação pulmonar. Em alguns casos, um defeito do septo ventricular se fecha espontaneamente durante a infância. Caso persista e cause um problema hemodinâmico, ele poderá ser reparado cirurgicamente ou percutaneamente com um dispositivo.

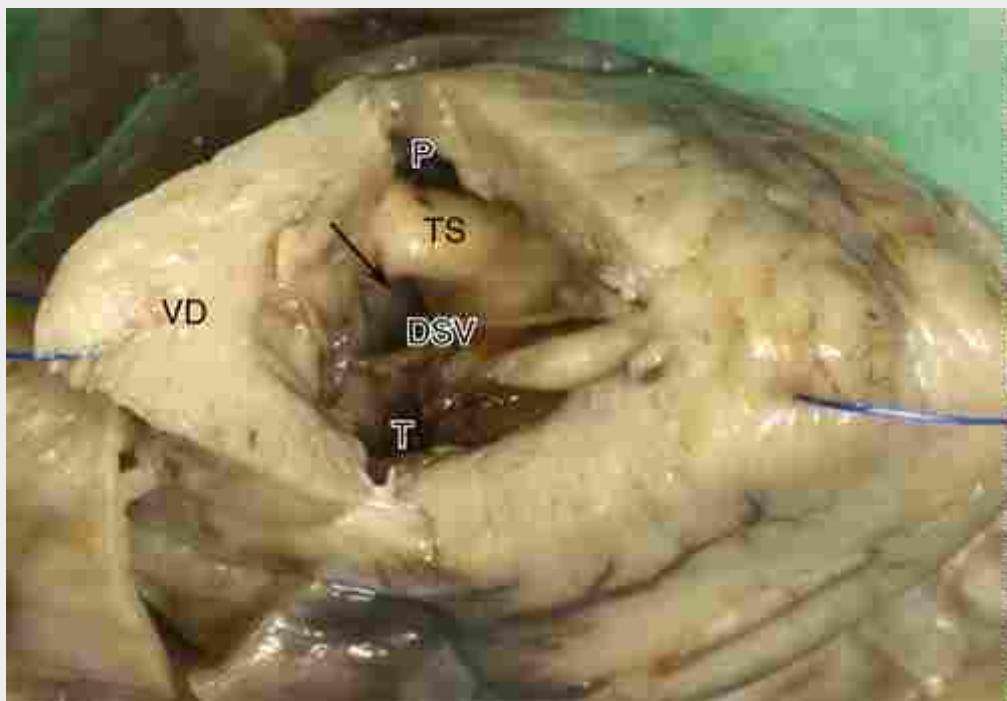


FIGURA 12-35 Típico defeito do septo ventricular (DSV) no um coração de um bebê. A falha do septo ventricular membranoso em se fundir com a crista superior do septo ventricular muscular neste coração causou um defeito no septo ventricular (seta). TS, septo do trato de saída; P, saída pulmonar; VD, ventrículo direito; T orifício tricúspide.

Defeitos da Valva Atrioventricular

Defeitos na valva atrioventricular surgem de falhas na remodelação necessária à formação dos folhetos das valvas, das cordas tendíneas e dos músculos papilares do tecido do coxim endocárdico e do miocárdio ventricular. A patogênese da **atresia da valva ventricular**, em que o orifício da valva é completamente obstruído, ainda não está esclarecida. Na **atresia da valva tricúspide**, o átrio direito fica sem comunicação com o ventrículo direito como resultado do desenvolvimento anormal da valva tricúspide. A atresia da valva tricúspide pode ser decorrente de uma expansão anormal no lado direito do canal atrioventricular, de tal forma que não é estabelecido um trato de entrada normal do ventrículo direito. Alternativamente, o orifício tricúspide pode estar apenas parcialmente conectado ao ventrículo direito, resultando em uma valva tricúspide com inserção bilateral, com as cordas conectadas a ambos os ventrículos. Se o orifício tricúspide permanecer inteiramente acima do ventrículo esquerdo, será formada uma **duplicata via de entrada no ventrículo esquerdo**. Não obstante, o resultado é que o sangue do átrio

direito tem que fluir para o átrio esquerdo através de um **forame oval persistente**. Além disso, a maior parte do sangue que chega às artérias pulmonares percorre um desvio através de um defeito do septo ventricular e/ou através da aorta e de um **ducto arterioso patente (persistente)**. O ducto arterioso é uma conexão entre a aorta e o tronco pulmonar que normalmente fecha logo depois do nascimento (discutido no [Cap. 13](#)). Como consequência, o coração, em termos funcionais, é um coração univentricular, pois a circulação é direcionada unicamente pelo ventrículo esquerdo. Consequentemente, o ventrículo direito é **hipoplásico**, enquanto ocorre aumento do ventrículo esquerdo (ou seja, **hipertrofia**). Com o passar do tempo, isso causa insuficiência cardíaca.

O mau alinhamento do trato de saída pode fazer com que o ventrículo tenha uma via de saída dupla (abrangendo a aorta e a artéria pulmonar). Na **dupla via de saída do ventrículo direito**, os tratos de saída aórtico e pulmonar se conectam ao ventrículo direito, e essa malformação quase sempre é acompanhada de um defeito no septo ventricular. Todo o fluxo de sangue arterial sai do ventrículo direito e o sangue oxigenado se mistura com o sangue desoxigenado no interior do ventrículo direito. Os sintomas surgem poucos dias depois do nascimento e incluem **cianose** (pela oxigenação sanguínea inadequada), **sopro** cardíaco, dispneia e (posteriormente) baixo ganho de peso. A incidência dessa malformação é, aproximadamente, de 1 em cada 3.000 nascimentos, e ela pode ser corrigida cirurgicamente.

Estenose de Valvas Semilunares

A **estenose de valva semilunar** envolve a estenose da valva aórtica ou pulmonar. A **estenose da valva aórtica** causa **hipertrofia** ventricular esquerda, hipertensão pulmonar e, por fim, insuficiência cardíaca. Pode ser congênita (geralmente o caso se os sintomas surgirem antes dos 30 anos), resultante de infecção (como febre reumática) ou degenerativa (consequência do envelhecimento). Coletivamente, a incidência é de 1% a 2% da população, com maior frequência no sexo masculino (razão de homens/mulheres de 4:1). A estenose valvar congênita provavelmente é causada por um erro na cavitação e na remodelação no tecido do coxim do trato de saída responsável pela formação das valvas semilunares aórtica e pulmonar. Isso pode gerar uma **valva aórtica bicomissural** (que tem dois folhetos em vez de três). Uma valva bicomissural pode ser assintomática ou estenótica desde a infância ou pode se tornar estenótica com o tempo, frequentemente como resultado de calcificação.

Defeitos da Septação da Via de Saída

Diversas malformações resultantes de erros na septação do trato de saída podem ser causadas pelo desenvolvimento anormal das células da crista neural. Em aproximadamente 1 de cada 10.000 bebês nascidos vivos não ocorre a formação dos septos do trato de saída, resultando em um **tronco arterioso persistente** ([Fig. 12-36A, B](#)). Essa malformação inclui, necessariamente, um **defeito do septo ventricular**. O resultado é que o sangue dos dois lados do coração se mistura no trato de saída comum, principalmente na passagem da esquerda para a direita na direção do lado pulmonar, causando hipertensão pulmonar. Se isso não for tratado, os bebês com essa malformação morrerão nos primeiros 2 anos de vida. A correção cirúrgica é possível e envolve o reparo do defeito do septo ventricular e a implantação de uma comunicação valvada protética entre o ventrículo direito e as artérias pulmonares.

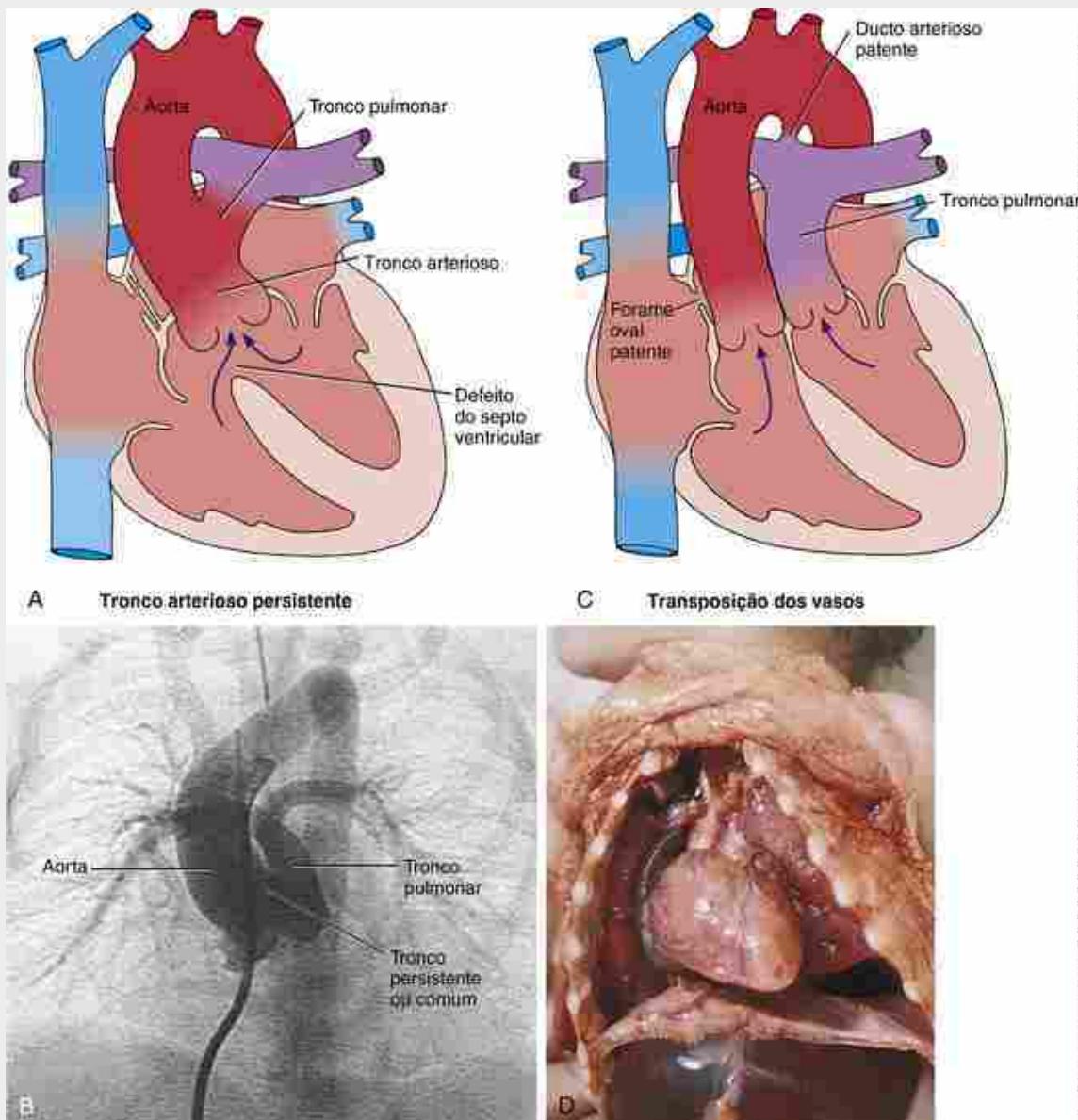


FIGURA 12-36 Anomalias do trato de saída. A, B, Tronco arterioso persistente (mostrado em uma angiografia em B). A separação incompleta dos tratos de saída aórtico e pulmonar acompanha um defeito do septo ventricular quando o septo do trato de saída não se forma. C, D, A transposição das grandes artérias ocorre quando os vasos do trato de saída ventricular se situam em paralelo e não se conectam com seu vaso de saída adequado.

Em aproximadamente 5 de cada 10.000 bebês nascidos, os septos do trato de saída se desenvolvem, mas os vasos são posicionados em paralelo e não se conectam ao vaso de saída adequado. Novos dados sugerem que isso resulta de um distúrbio na contribuição do segundo campo cardíaco para o miocárdio do trato de saída. O resultado é a **transposição dos grandes vasos**, em que o ventrículo esquerdo bombeia sangue para a circulação pulmonar e o ventrículo direito drena para a circulação sistêmica (Fig. 12-36C, D). A transposição dos grandes vasos frequentemente é fatal, a menos que o ducto arterioso permaneça patente ou esteja acompanhado por defeitos intrínsecos do septo atrial ou ventricular ou por defeitos introduzidos cirurgicamente (para estabelecer uma comunicação interatrial), permitindo a mistura do sangue sistêmico desoxigenado com o sangue pulmonar recém-oxigenado. A transposição pode ser corrigida cirurgicamente, com prognóstico favorável. No entanto, ela constitui a principal causa de morte em bebês com cardiopatia cianótica com menos de 1 ano de idade.

Tetralogia de Fallot

Muitos defeitos cardíacos ocorrem com maior frequência em conjunto do que isoladamente. Em alguns casos, esses defeitos associados são, na realidade, componentes da mesma malformação — por exemplo, um defeito do septo ventricular é uma consequência necessária de tronco arterioso persistente. Em outros casos, uma malformação primária ocasiona uma cascata de efeitos que levam a outras malformações. Um exemplo é a patogênese da **tetralogia de Fallot**, uma síndrome chamada de *maladie bleue* (*doença azul*) por Etienne-Louis Arthur Fallot em 1888

(Fig. 12-37). Fallot usou o termo *tetralogia* para se referir às quatro malformações clássicas dessa síndrome: (1) **estenose do tronco pulmonar**, (2) **defeito do septo ventricular**, (3) deslocamento da aorta para a direita (dextroposição, por vezes também chamada de **cavalgamento da aorta**) e (4) **hipertrofia do ventrículo direito**. O principal defeito é uma divisão desigual do trato de saída, favorecendo a aorta, com o mau alinhamento do septo de saída em relação aos ventrículos direito e esquerdo. Todos esses defeitos favorecem a elevação da pressão do sangue no ventrículo direito, resultando em uma hipertrofia progressiva do ventrículo direito. A tetralogia de Fallot é a malformação cardíaca cianótica congênita mais comum, ocorrendo em aproximadamente 1 de cada 1.000 bebês nascidos vivos. A anomalia pode ser corrigida cirurgicamente com o alívio da obstrução do tronco pulmonar e com a reparação do defeito do septo ventricular.

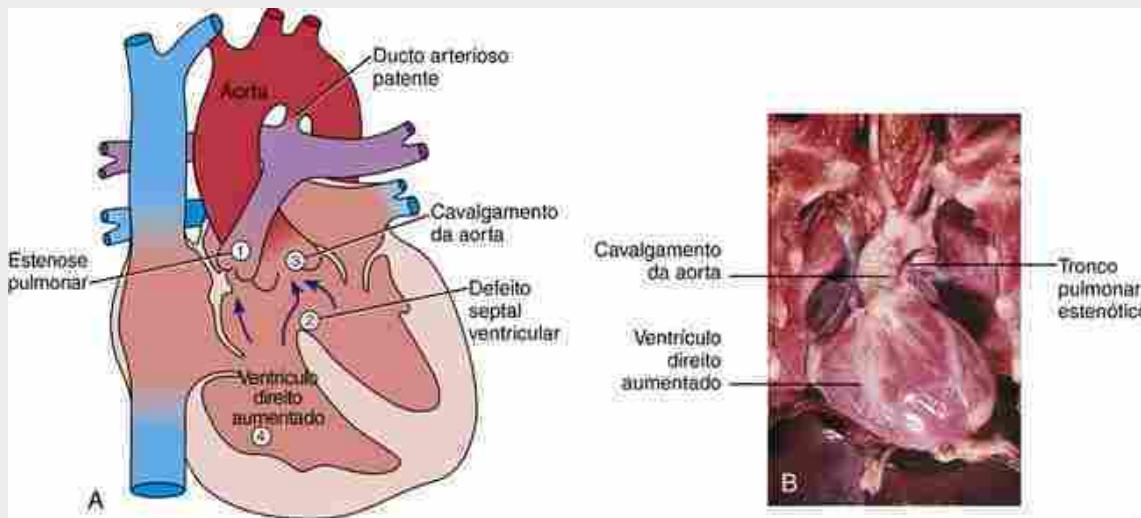


FIGURA 12-37 Tetralogia de Fallot. A, Classicamente, a tetralogia de Fallot é caracterizada por (1) estenose (estreitamento) do tronco pulmonar, (2) defeito do septo ventricular, (3) cavalgamento da aorta e (4) ventrículo direito aumentado. Um ducto arterioso patente também está presente. B, O ventrículo direito aumentado e o cavalgamento da aorta são óbvios neste caso de tetralogia de Fallot no coração de um bebê.

Causas genéticas conhecidas de malformações cardíacas

Com base em estudos genéticos em famílias, muitas malformações cardíacas foram atribuídas a mutações em um único gene, com avanço na identificação de ainda mais por meio de estudos em animais e de associação genética com seres humanos. Entretanto, até hoje foram descobertas poucas dessas mutações gênicas que ocorrem em defeitos cardíacos isolados não associadas a síndromes. Uma dessas primeiras mutações a agir ocorre em NKX2.5. Esse gene tem um papel importante na especificação do campo cardiogênico inicial, mas também está envolvido em vários eventos subsequentes da morfogênese cardíaca. Mutações em NKX2.5 em seres humanos estão associados a defeitos do septo atrial e a defeitos no sistema de condução. Mutações em GATA4 também foram encontradas na população humana. Essas mutações alteram a atividade transcripcional de GATA4 e sua interação com outros genes importantes no desenvolvimento cardíaco, incluindo NKX2.5 e TBX5. Mutações em GATA4 foram vinculadas a defeitos do septo atrial e à estenose da valva pulmonar. Mutações em TBX20, importante fator de transcrição na especificação das câmaras (discutido anteriormente), estão vinculadas a defeitos dos septos atrial e ventricular, a defeitos valvares e ao crescimento anormal das câmaras. Mutações em CYSTEINE-RICH PROTEIN WITH EGF-LIKE DOMAINS (CRELD1; uma molécula de adesão celular) foram encontradas em pacientes com defeitos do septo atrioventricular.

Várias mutações gênicas específicas também foram identificadas em síndromes que contêm malformações cardíacas como achado consistente. Foram encontradas mutações em vários genes que causam defeitos de lateralidade e defeitos no dobramento cardíaco. Mutações em genes que codificam DINEÍNAS axonemais são encontradas em pacientes com **síndrome de Kartagener** (abordada nos Caps. 3 e 11). **Lateralidade aleatória e heterotaxia visceroatrial** ocorrem em pacientes com mutações em NODAL, LEFTY1, LEFTY2, CRYPTIC e ACVR2B (receptor de ATIVINA). Pacientes com **síndrome LEOPARD** ou **síndrome de Noonan** apresentam estenose do tronco pulmonar, defeitos do septo atrioventricular e anomalias de condução, além de anomalias craniofaciais e esqueléticas de sobreposição que podem ser causadas por diferentes mutações no gene PTPN11. Esse gene codifica uma proteína SHP2, uma tirosina fosfatase (não receptora) envolvida na transdução do sinal intracelular (a síndrome de Noonan também é abordada no Cap. 13). A deleção ou mutações no gene JAGGED1 (gene que codifica

um ligante para sinalização NOTCH) ou NOTCH1/NOTCH2 (genes codificando receptores NOTCH) são responsáveis pela **síndrome de Alagille** (discutida nos [Caps. 3, 5, 13 e 14](#)) e 70% a 95% desses pacientes apresentam malformações cardíacas, incluindo estenose das artérias aórticas e pulmonares ou valvas, defeitos septais e tetralogia de Fallot. Entretanto, não está claro se a síndrome de Alagille é causada por anormalidades na transição epitelio-mesenquimal do endocárdio ou no desenvolvimento posterior das valvas. Mutações no gene CHD7 (*CHROMODOMAIN HELICASE DNA-BINDING PROTEIN 7*) no cromossoma 8 humano foram encontradas em 60% dos pacientes com **síndrome CHARGE** (incidência de 1 em 9.000 a 10.000; também discutida nos [Caps. 4 e 17](#)), e 75% desses pacientes apresentam malformações cardíacas. Estudos em embriões humanos mostram que o mesênquima derivado das células da crista neural é um dos principais tecidos que expressam esse gene.

A maioria dos 250.000 indivíduos que sofrem morte súbita cardíaca a cada ano nos Estados Unidos é vítima de **arritmias cardíacas**. Uma causa inata de arritmias é a **síndrome do QT longo**, caracterizada pelo prolongamento dos intervalos de despolarização (Q) e repolarização (T) diagnosticado por eletrocardiograma (ECG ou EKG). A síndrome do QT longo predispõe os indivíduos afetados a **síncope** (perda da consciência) e morte súbita. Não é surpresa que defeitos genéticos envolvidos nessa doença autossômica dominante incluem mutações em KVLQT1, HERG, SCN5A e em outros genes que codificam os **canais iônicos cardíacos**.

Deleções em 22q11.2 e malformações cardíacas

Pacientes com **síndrome da deleção de 22q11.2** (também conhecida como síndrome de **DiGeorge** e **síndromes velocardiofaciais**) apresentam anomalias congênitas que os colocam na família de malformações de neurocristopatia (discutida no [Cap. 4](#); a síndrome da deleção de 22q11.2 também é abordada nos [Caps. 13 e 17](#)). Essas malformações envolvem pelo menos um elemento de desenvolvimento anormal de células da crista neural e manifestam defeitos cardíacos como parte da patologia. Esses pacientes têm microdeleções na região 22q11.2, que ocorre em 1 de cada 10.000 a 20.000 nascimentos vivos. Malformações cardíacas comuns são a tetralogia de Fallot, interrupção do arco aórtico (abordada no [Cap. 13](#)), defeitos do septo ventricular, tronco arterioso persistente e anéis vasculares (discutidos no [Cap. 13](#)). Portanto, a apresentação desses tipos de defeitos deve alertar o médico para aventar a possibilidade de deleções em 22q11.2 e de outros quadros patológicos que possam surgir dessas deleções. Está em andamento um exame dos genes nessa região para determinar quais deles podem ser responsáveis pelos sintomas dessas deleções. Foram identificados vínculos com vários genes, dos quais TBX1, expresso no segundo campo cardíaco e no endoderma adjacente da bolsa faríngea, é o mais provável. Outros incluem UFD1 (*UBIQUITIN FUSION DEGRADATION-1*, gene regulado por HAND2) e HIRA (gene que codifica uma proteína que interage com PAX3). No caso de TBX1, foram encontradas raras mutações em pacientes com fenótipo DiGeorge, mas sem deleção em 22q11.2, sugerindo que, em alguns casos, um único gene pode causar a síndrome de DiGeorge. Entretanto, na grande maioria dos pacientes, a perda de múltiplos genes vinculados ao 22q11.2 provavelmente é responsável.

Embriologia na Prática

Preso no meio

Um homem de 20 anos previamente saudável subitamente perde os sentidos durante a etapa final de corrida de um triatlo. Felizmente, a equipe médica de emergência do triatlo testemunha o evento e corre em socorro. O jovem está sem pulso e, enquanto um socorrista inicia RCP, outro aplica o desfibrilador cardíaco automático. Depois de vários choques, o homem recupera o ritmo sinusal e é transferido de ambulância para o hospital.

No pronto-socorro ele está consciente e, depois de algum tempo, consegue responder a perguntas. Quando perguntado sobre seu histórico clínico, ele responde “não tenho”, “nunca fui ao médico”. Ele se descreve como muito saudável e diz que foi um corredor de competição na escola. Nega episódios anteriores de desmaio, dor torácica, palpitações ou dispneia. O eletrocardiograma mostra alterações no segmento ST e troponinas cardíacas elevadas, indicando isquemia miocárdica aguda.

O cateterismo cardíaco não mostra evidências de estreitamento aterosclerótico das coronárias, mas, em vez disso, revela anomalia na **artéria coronária esquerda** (ACE) originando-se no seio de Valsalva *direito* (ou seja, **seio aórtico**) e passando entre os troncos pulmonar e aórtico, onde ela é vulnerável à compressão durante a sistole, com subsequente redução na perfusão miocárdica ([Fig. 12-38](#)). Essa situação pode ser exacerbada pelo exercício, cujo primeiro sintoma pode ser morte cardíaca súbita. O paciente é levado à sala de cirurgia, onde o cirurgião reimplanta a ACE no seio de Valsalva esquerdo. O paciente se recupera por completo.

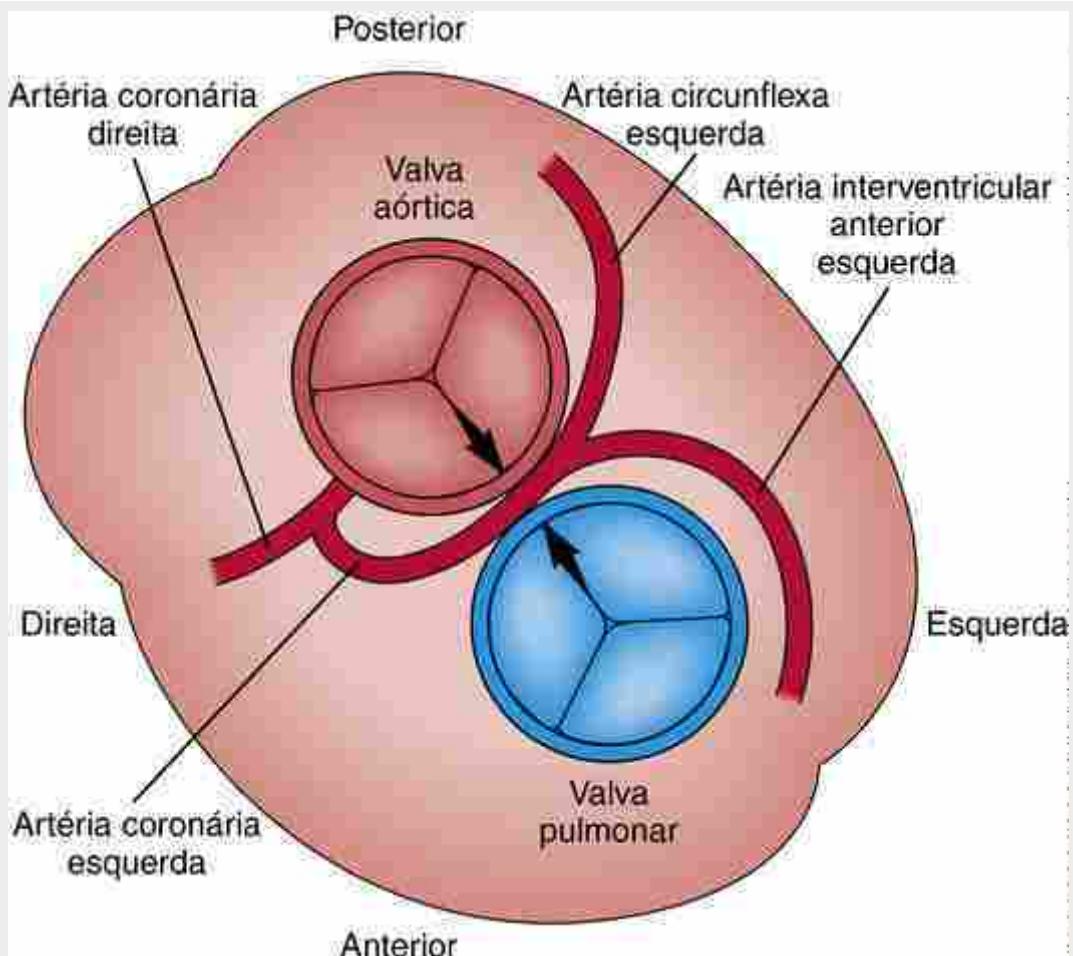


FIGURA 12-38 Origem da artéria coronária esquerda a partir do seio aórtico direito. As setas indicam compressão da artéria coronária esquerda durante a sístole. É indicado o contorno do coração no nível das valvas aórtica e pulmonar.

Assim como outras estruturas vasculares, o sistema arterial coronariano mostra uma plasticidade considerável. Ao contrário da variação observada nas artérias sistêmicas, a variação nas artérias coronárias pode trazer graves consequências ao músculo cardíaco. Uma doença relacionada, a origem anômala da artéria coronária esquerda surgindo da artéria pulmonar (ALCAPA), pode se apresentar na infância, pois, nesse exemplo, a ACE é alimentada por sangue pobre em oxigênio do lado direito do coração e, frequentemente, é hipoperfundida como resultado do roubo pulmonar para a vasculatura pulmonar de pressão mais baixa.

A patogênese dessas doenças não está suficientemente esclarecida, mas elas podem resultar do particionamento anormal do tronco arterioso ou de agenesia ou regressão de um dos brotos arteriais coronários.

Leituras sugeridas

- Bruneau, B. G. The developmental genetics of congenital heart disease. *Nature*. 2008; 451:943–948.
- Cai, C. L., Martin, J. C., Sun, Y., et al. A myocardial lineage derives from Tbx18 epicardial cells. *Nature*. 2008; 454:104–108.
- Chakraborty, S., Combs, M. D., Yutzey, K. E. Transcriptional regulation of heart valve progenitor cells. *Pediatr Cardiol*. 2010; 31:414–421.
- Combs, M. D., Yutzey, K. E. Heart valve development: regulatory networks in development and disease. *Circ Res*. 2009; 105:408–421.
- Dunwoodie, S. L. Combinatorial signaling in the heart orchestrates cardiac induction, lineage specification and chamber formation. *Semin Cell Dev Biol*. 2007; 18:54–66.
- Dyer, L. A., Kirby, M. L. The role of secondary heart field in cardiac development. *Dev Biol*. 2009; 336:137–144.
- Gessert, S., Kuhl, M. The multiple phases and faces of wnt signaling during cardiac differentiation and development. *Circ Res*. 2010; 107:186–199.
- Harris, I. S., Black, B. L. Development of the endocardium. *Pediatr Cardiol*. 2010; 31:391–399.
- High, F. A., Epstein, J. A. The multifaceted role of Notch in cardiac development and disease. *Nat Rev Genet*. 2008; 9:49–61.
- Jain, R., Rentschler, S., Epstein, J. A. Notch and cardiac outflow tract development. *Ann N Y Acad Sci*. 2010; 1188:184–190.
- Liu, N., Olson, E. N. MicroRNA regulatory networks in cardiovascular development. *Dev Cell*. 2010; 18:510–525.

- Mikawa, T., Hurtado, R. Development of the cardiac conduction system. *Semin Cell Dev Biol.* 2007; 18:90–100.
- Perez-Pomares, J. M., Gonzalez-Rosa, J. M., Munoz-Chapuli, R. Building the vertebrate heart—an evolutionary approach to cardiac development. *Int J Dev Biol.* 2009; 53:1427–1443.
- Red-Horse, K., Ueno, H., Weissman, I. L., Krasnow, M. A. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. *Nature.* 2010; 464:549–553.
- Rochais, F., Mesbah, K., Kelly, R. G. Signaling pathways controlling second heart field development. *Circ Res.* 2009; 104:933–942.
- Singh, R., Kispert, A. Tbx20, Smads, and the atrioventricular canal. *Trends Cardiovasc Med.* 2010; 20:109–114.
- Sizarov, A., Ya, J., de Boer, B. A., et al. Formation of the building plan of the human heart: morphogenesis, growth, and differentiation. *Circulation.* 2011; 123:1125–1135.
- Snarr, B. S., Kern, C. B., Wessels, A. Origin and fate of cardiac mesenchyme. *Dev Dyn.* 2008; 237:2804–2819.
- Stankunas, K., Ma, G. K., Kuhnert, F. J., et al. VEGF signaling has distinct spatiotemporal roles during heart valve development. *Dev Biol.* 2010; 347:325–336.
- Taber, L. A., Voronov, D. A., Ramasubramanian, A. The role of mechanical forces in the torsional component of cardiac looping. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1188:103–110.
- van Wijk, B., Moorman, A. F., van den Hoff, M. J. Role of bone morphogenetic proteins in cardiac differentiation. *Cardiovasc Res.* 2007; 74:244–255.
- Watanabe, Y., Buckingham, M. E. The formation of the embryonic mouse heart. Heart fields and myocardial cell lineages. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1188:15–24.

Desenvolvimento da Vascularização

Resumo

No 17º dia, os vasos começam a surgir no mesoderma esplâncnico da parede do saco vitelínico oriundos de agregados de células denominadas **hemangioblastos**. Desses agregados surgem duas linhagens de células: **células progenitoras hematopoieticas** primitivas e **células precursoras endoteliais**. A **vasculogênese** (formação de vasos sanguíneos *de novo*) tem início no mesoderma esplâncnico do disco embrionário e continua no mesoderma paraxial. No disco embrionário, precursores das células endoteliais se diferenciam em células endoteliais e se organizam em redes de pequenos vasos que se unem, crescem e invadem outros tecidos para formar a vascularização embrionária primária. Essa rede vascular primitiva é expandida e remodelada por **angiogênese** (brotamento e ramificação de vasos sanguíneos já existentes). A hematopoiese começa no mesoderma extraembrionário do saco vitelínico. Posteriormente ela é deslocada para o fígado, onde as células hematopoieticas embrionárias se unem a uma fonte de **células-tronco hematopoieticas definitivas (HSCs)** que surgem do mesoderma esplâncnico intraembrionário da região **aorta-gônada-mesonefros (AGM)** dorsal, das artérias vitelinas e umbilicais e, mais provavelmente, da placenta. HSCs definitivas emergem do endotélio hemogênico, colonizam o fígado, onde sua população se expande, e, posteriormente, se realocam na medula óssea e outros órgãos linfáticos.

Quando o dobramento corporal leva o tubo cardíaco primitivo em desenvolvimento para o tórax ventral durante a 4ª semana, as aortas dorsais pareadas conectadas às extremidades craniais dos tubos são puxadas ventralmente para formar um par de alças dorsoventrais, as **artérias do primeiro arco aórtico**. Durante a 4ª e a 5ª semanas, pares adicionais de artérias do arco aórtico se desenvolvem em sucessão craniocaudal, conectando o saco aórtico na extremidade distal do trato de saída às aortas dorsais. Esse sistema de artérias do arco aórtico sofre remodelação subsequente para formar o sistema de grandes artérias na parte superior do tórax e no pescoço.

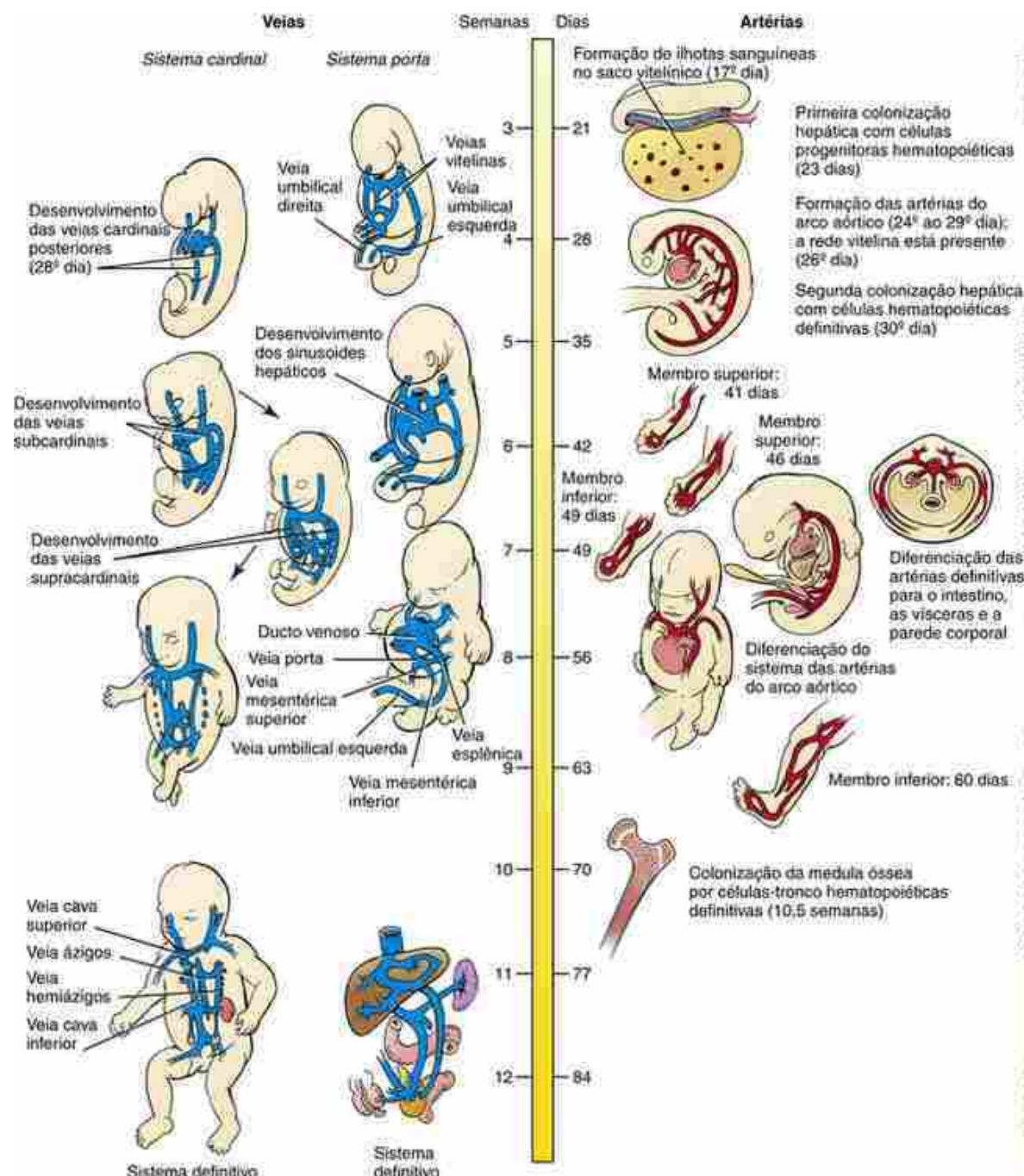
As artérias dorsais pareadas permanecem separadas na região das artérias do arco aórtico, mas acabam por se fundir abaixo do nível do quarto segmento torácico para formar uma única aorta dorsal mediana. A aorta dorsal desenvolve três grupos de ramos: (1) uma série de ramos ventrais, que suprem o intestino e seus derivados; (2) ramos laterais, que suprem estruturas retroperitoneais, como as glândulas adrenais, rins e gônadas; e (3) ramos intersegmentares dorsolaterais denominados **artérias intersegmentares**, que penetram entre os derivados dos somitos e dão origem a parte da vascularização da cabeça, pescoço, parede corporal, membros e coluna vertebral. Os ramos ventrais que alimentam o trato gastrointestinal são originários de remanescentes de uma rede de **artérias vitelinas**, que se desenvolvem no saco vitelínico e no ducto vitelino e formam anastomoses com as aortas dorsais pareadas. As aortas dorsais pareadas se conectam às **artérias umbilicais** que se desenvolvem no pedículo de conexão (pedículo do embrião) e levam sangue para a placenta. Também podem surgir células hematopoieticas nessas artérias.

O sistema venoso primitivo consiste em três componentes principais, todos inicialmente simétricos bilateralmente: o **sistema cardinal**, que drena a cabeça, pescoço, parede corporal e membros; as **veias vitelinas**, que inicialmente drenam o saco vitelínico, e as **veias umbilicais**, que se desenvolvem no pedículo de conexão e levam sangue oxigenado da placenta para o embrião. Todos os sistemas inicialmente drenam para ambos os cornos dos seios, mas todos os três sofrem extensas modificações durante o desenvolvimento quando o retorno do sistema venoso é deslocado para o átrio direito.

O sistema cardinal inicialmente consiste em veias cardinais **anteriores (cranais)** e **posteiros (caudais)** pareadas, que se encontram para formar as **veias cardinais comuns** curtas, que drenam para os cornos dos seios direito e esquerdo. Entretanto, as veias cardinais posteriores são suplementadas e, posteriormente, substituídas por dois sistemas venosos subsidiários, os sistemas **subcardinal** e **supracardinal**, que crescem caudalmente da base das cardinais posteriores na parede corporal medial dorsal. Todos esses três sistemas cardinais, juntamente com uma pequena região da veia vitelina direita, contribuem para a veia cava inferior e seus ramos principais. As veias supracardinais também formam os sistemas ázigos e hemiázigos que drenam para a parede corporal torácica. O sistema venoso vitelino origina os sinusoides hepáticos e o sistema portal, que leva sangue venoso do trato gastrointestinal para o fígado. No interior da substância do fígado, o **sistema vitelino** também forma o **ducto venoso**, um canal que transporta sangue da veia umbilical diretamente para a veia cava inferior durante a gestação.

Todos os três sistemas venosos sofrem extensas modificações durante o desenvolvimento. Nos sistemas cardinal e vitelino, as veias longitudinais do lado esquerdo do corpo tendem a regredir, enquanto as veias do lado direito permanecem e dão origem às grandes veias. Consequentemente, um sistema bilateral que drena para ambos os seios dos cornos se torna um sistema do lado direito que drena para o átrio direito. Por outro lado, a veia umbilical direita desaparece e a veia esquerda permanece. Entretanto, a veia umbilical esquerda perde sua conexão original com o corno do seio esquerdo e secundariamente drena para o ducto venoso no interior do fígado em desenvolvimento.

Ocorre uma mudança rápida e dramática no padrão de circulação no nascimento quando o neonato começa a respirar; a vasculatura pulmonar se expande e a circulação da placenta para o feto cessa. Grande parte do desenvolvimento descrito neste capítulo se concentra no problema da produção de uma circulação que irá, efetivamente, distribuir o sangue oxigenado proveniente da placenta pela veia umbilical para os tecidos do embrião e do feto e que será capaz de se converter rapidamente, no momento do nascimento, no padrão de circulação adulto exigido pelo bebê que começa a respirar.



Linha do tempo.
Desenvolvimento dos sistemas arterial e venoso.

Caso Clínico

Ao examinar uma menina de 14 anos com histórico de epistaxe recorrente (sangramento pelo nariz), um otorrinolaringologista observa diversos pequenos vasos dilatados na mucosa das fossas nasais e da boca. Os sangramentos dessa menina começaram aos 11 anos de idade. Recentemente, eles se tornaram mais frequentes e ocorrem, atualmente, 2 ou 3 vezes por semana. O sangramento é suficientemente intenso para causar uma leve anemia, apesar do tratamento com ferro.

Além dos sangramentos, a paciente apresenta dispneia significativa (falta de ar) durante o exercício, desproporcional a seu grau de anemia. Ela também apresenta frequência cardíaca elevada e um sutil baqueteamento digital. A leitura do oxímetro de pulso indica saturação de oxigênio de 88%. O otorrino faz um diagnóstico presuntivo de **telangiectasia hemorrágica hereditária (THH)**, também conhecida como **doença de Osler-Weber-Rendu**.

A menina é encaminhada para realizar uma **ecocardiografia** com contraste de ar que mostra bolhas de ar passando do lado direito para o esquerdo do coração, indicando uma comunicação pulmonar arteriovenosa. Uma angiotomografia constata a existência de uma **malformação arteriovenosa pulmonar** no lado direito medindo 7 mm de diâmetro. Por meio de radiologia intervencional, a comunicação é corrigida por embolização com molas (inserção de uma pequena mola para fechar o vaso). Subsequentemente ao procedimento, a saturação de oxigênio da menina aumenta ao nível normal e sua tolerância ao exercício melhora gradualmente. O teste genético revela uma mutação inativante no gene da **ENDOGLINA**.

A THH é uma doença autossômica dominante caracterizada por conexões anormais entre artérias e veias sem a interposição de capilares. Quando pequenas, essas anormalidades são denominadas **telangiectases** e ocorrem na superfície das mucosas do nariz, boca e trato gastrointestinal, e também nos dedos. Essas lesões de paredes finas se situam perto da superfície e sangram com facilidade. Telangiectases maiores, ou malformações arteriovenosas (MAVs), podem ocorrer nos pulmões, fígado ou cérebro. Além da morbidade associada à comunicação de sangue venoso e arterial, várias outras complicações potencialmente fatais estão associadas às MAVs, incluindo derrame, abscessos e hemorragia cerebral. A THH é causada por mutações nos genes que codificam a ENDOGLINA, proteína de ligação a Tgf β , ou um tipo do receptor de Tgf β (**ACTIVIN A RECEPTOR, TYPE II-LIKE KINASE 1**). Ambas as proteínas estão envolvidas na sinalização celular durante o desenvolvimento de células endoteliais vasculares.

A formação do sangue e da vasculatura começa no início da terceira semana

Células hematopoiéticas e **células endoteliais** estão entre os primeiros tipos de células que se diferenciam em um fenótipo funcional no embrião. Nos seres humanos, a primeira evidência da formação de sangue e de vasos sanguíneos é observada no mesoderma esplâncnico extraembrionário do **saco vitelínico** em torno do 17º dia, na forma de agrupamentos de **células de hemangioblastos** que se desenvolvem na região adjacente ao endoderma (Fig. 13-1). Nos camundongos, o marcador mais precoce para esses agrupamentos celulares é o receptor-2 do fator de crescimento endotelial vascular (Vegfr2 ou Flk1), também conhecido com KDR nos seres humanos. Esses agrupamentos surgem de um subgrupo de células positivas para *brachyury*, na linha primitiva, que migram para o saco vitelínico. Diversas linhagens celulares surgem de dentro desses agrupamentos de hemangioblastos, incluindo **progenitores de células hematopoiéticas** e **células precursoras endoteliais (EPCs)**. As células endoteliais posteriormente irão envolver agregados de células sanguíneas, formando o que se conhece como **ilhotas sanguíneas** (Fig. 13-1). As células sanguíneas que se formam nas ilhotas de sangue do saco vitelínico são, principalmente, **eritrócitos primitivos**. Também se formam megacariócitos e macrófagos na parede do saco vitelínico, mas o local exato do seu precursor não é conhecido. Algumas das células endoteliais do saco vitelínico surgem de **hemangioblastos**, mas a maioria se diferencia a partir de EPCs em proliferação. As células endoteliais em diferenciação se organizam em pequenos vasos capilares por meio de um processo denominado **vasculogênese** (descrito na próxima seção). Esses pequenos capilares se alongam e se interconectam, estabelecendo uma rede vascular primária inicial. Até o final da 3ª semana, essa rede vasculariza por completo o saco vitelínico, o pedúculo de conexão e as vilosidades coriônicas.

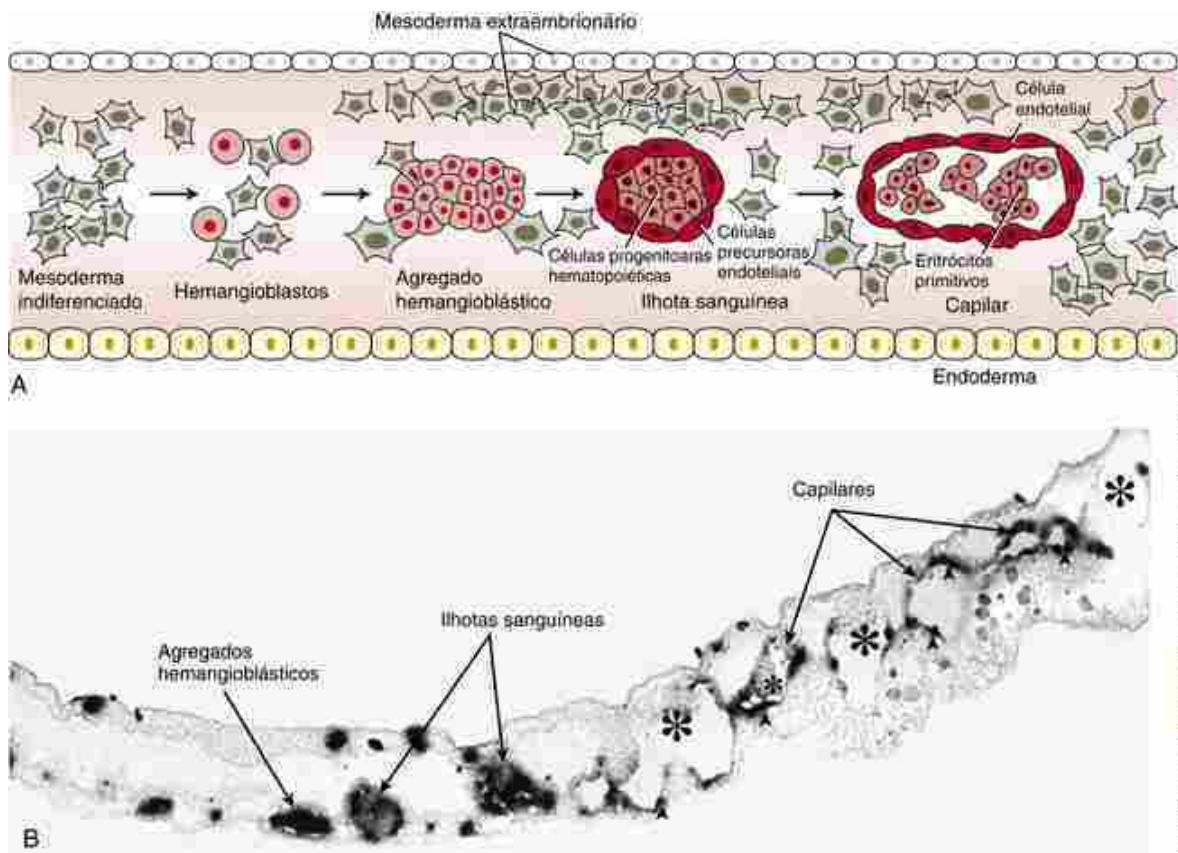


FIGURA 13-1 A hematopoiese e a formação dos vasos sanguíneos começam no interior da parede do saco vitelínico com a formação de agrupamentos de hemangioblastos. **A**, Desenho ilustrando a formação de agrupamentos de hemangioblastos e sua diferenciação em células progenitoras hematopoiéticas e células precursoras endoteliais. As células sanguíneas são cercadas por células precursoras endoteliais em diferenciação, formando ilhas sanguíneas. **B**, Expressão do mRNA de Vegfr2, um marcador inicial dos hemangioblastos no interior da parede do saco vitelínico de um embrião de ave com 15 somitos. À medida que as ilhas de sangue se desenvolvem, as células endoteliais retêm a expressão de Vegfr2, que é perdida progressivamente pelas células progenitoras hematopoiéticas. Os asteriscos indicam o desenvolvimento de vasos sanguíneos.

O saco vitelínico é o primeiro fornecedor de células sanguíneas para a circulação embrionária. As células fornecidas são predominantemente eritrócitos nucleados que contêm hemoglobina embrionária (eritrócitos primitivos). Ao 60º dia, o saco vitelínico não atua mais como órgão eritropoético. Em vez disso, a tarefa de fornecer eritrócitos e outras linhagens de células sanguíneas maduras à circulação é transferida para órgãos intraembrionários, incluindo fígado, baço, timo e medula óssea. Com o início do sistema circulatório funcional, esses órgãos são semeados com progenitores hematopoiéticos e com **células-tronco hematopoiéticas definitivas (HSCs)** geradas no mesoderma extraembriônário e/ou intraembriônário. O primeiro órgão a ser colonizado é o fígado. Esse órgão permanece como o principal órgão hematopoiético do embrião e do feto até o início da **hematopoiese na medula óssea** próximo ao parto. A colonização dos primórdios do fígado por células hematopoiéticas ocorre pelo menos em duas ondas; a primeira, que começa em torno do 23º dia, contém células hematopoiéticas primitivas e progenitores, e a segunda, que se inicia aproximadamente no 30º dia, contém as HSCs definitivas (Fig. 13-2). Essas células hematopoiéticas têm pelo menos de duas origens (discutidas no próximo quadro “No Laboratório de Pesquisa”, nos títulos “Segunda Fonte de Células Hematopoiéticas” e “Células Hematopoiéticas Intraembrionárias, uma Fonte de Células-tronco Hematopoiéticas da Medula Óssea Adulta”). A mudança da geração de eritroblastos nucleados primitivos para eritrócitos enucleados que sintetizam hemoglobina fetal (**eritrócitos definitivos**) ocorre até a 5ª semana de gestação. Essa mudança ocorre no instante em que o fígado é colonizado por HSCs, células que têm o potencial de gerar todas as linhagens de células hematopoiéticas do adulto, incluindo células eritroides, mieloides e linfoides. As HSCs colonizam a medula óssea e fornecem células sanguíneas já na 10ª ou 11ª semana, mas a maior parte da carga hematopoiética ainda é carregada pelo fígado até o nascimento. Portanto, as células hematopoiéticas extraembriônárias primitivas servem, principalmente, para prover um suprimento de sangue precoce, mas necessário, para o embrião em desenvolvimento até que os órgãos hematopoiéticos intraembriônários que contêm HSCs possam assumir a tarefa.

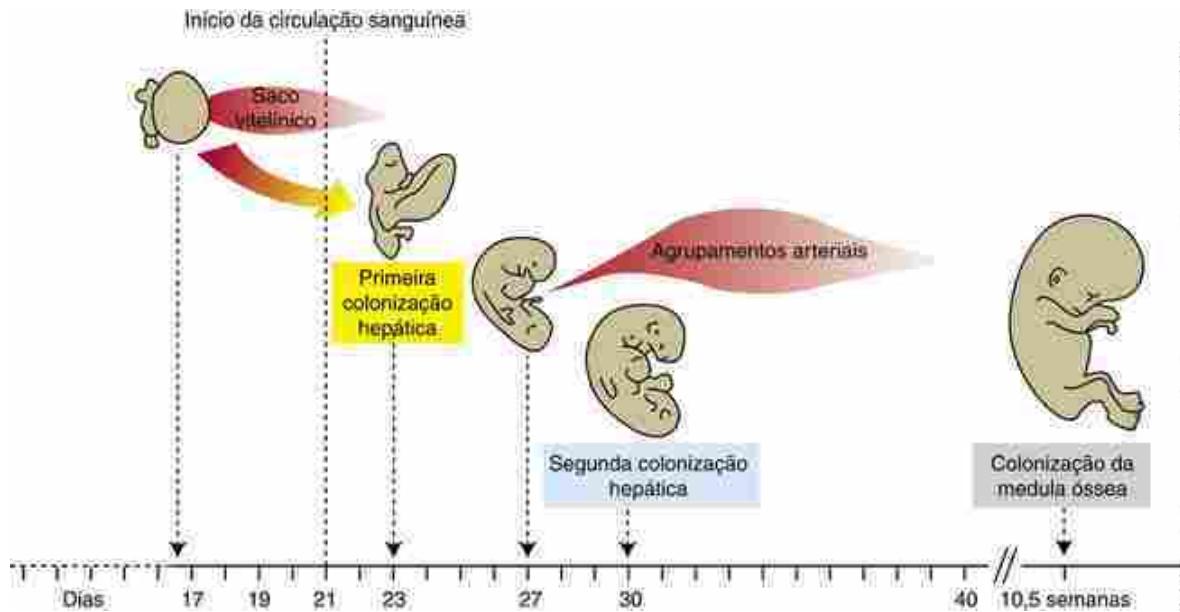


FIGURA 13-2 Linha do tempo da formação de células hematopoiéticas durante o desenvolvimento humano. Embora não seja mostrada, a placenta também contém células hematopoiéticas.

No Laboratório de Pesquisa

Segunda fonte de células hematopoiéticas

Embora as células hematopoiéticas que colonizam o fígado em desenvolvimento inicialmente sejam originárias do mesoderma do saco vitelínico, células hematopoiéticas com maior potencial e longevidade acabam por colonizar o fígado fetal a partir de uma fonte intraembrionária separada. As evidências para essa segunda fonte de células hematopoiéticas vieram do uso de quimeras galinha-codorna (técnica abordada no Cap. 5). Em uma experiência muito interessante, todo o corpo de um embrião de galinha de 2 dias foi removido do blastoderma, deixando apenas o saco vitelínico, e foi substituído pelo corpo inteiro do embrião de uma codorna. Quando examinadas depois de alguns dias de incubação, todas as linhagens sanguíneas na quimera eram originárias do saco vitelínico da galinha, e as células da codorna forneciam as células estromais (tecido conjuntivo). Entretanto, depois de 5 dias do enxerto, foi encontrada uma mistura de sangue de codorna e galinha circulando no embrião e, no final, todas as células sanguíneas eram da codorna. Assim, essa experiência mostrou claramente que (1) o saco vitelínico deu origem a células hematopoiéticas embrionárias transientes; e (2) células geradas no corpo do embrião acabaram por substituir essas células, produzindo o sistema hematopoiético definitivo. Consequentemente, pela primeira vez foi mostrado que, acompanhando-se de perto a hematopoiese do saco vitelínico, teria de haver uma segunda fonte potente, uma fonte intraembrionária de células hematopoiéticas.

A análise microscópica de embriões de pássaros, anfíbios, camundongos e seres humanos em momentos equivalentes de desenvolvimento identificou agrupamentos densos de células hematopoiéticas aderindo ao endotélio ventral da aorta dorsal na região **aorta-gônada-mesonefros (AGM)** e ao endotélio das artérias vitelinas e umbilicais. O aparecimento dos agrupamentos hematopoiéticos corresponde ao início da segunda onda de hematopoiese. Nos seres humanos, os agrupamentos hematopoiéticos surgem no interior da aorta da região AGM no 27º dia de desenvolvimento como pequenos grupos de 2 ou 3 células, porém, até o 35º dia, eles aumentam para milhares de células que se estendem para os vasos adjacentes à região do cordão umbilical. Essas células expressam fatores de transcrição e marcadores de superfície celular associados a progenitores sanguíneos precoces e a HSCs (p. ex., Gata2, c-Kit, Cd34, Cd41, Cd45). Embora células de agrupamentos hematopoiéticos intraembrionários em mamíferos possam ser derivadas de células hematopoiéticas que colonizam o saco vitelínico, as evidências sugerem que elas são de origens separadas (a ser discutido posteriormente).

Células hematopoiéticas intraembrionárias, uma fonte de células-tronco hematopoiéticas da medula óssea adulta

Estudos em camundongos mostram que o mesoderma do saco vitelínico forma progenitores hematopoiéticos capazes de gerar eritrócitos, macrófagos e megacariócitos primitivos. Esses eritrócitos primitivos provavelmente servem como uma população temporária de células sanguíneas que satisfazem às necessidades de oxigênio do

embrião em rápido desenvolvimento. Progenitores capazes de gerar células mieloides definitivas (eritrócitos, macrófagos e granulócitos definitivos) aparecem mais tarde no saco vitelínico. No entanto, os estudos sugerem que essas células devem inicialmente colonizar e interagir com o fígado em desenvolvimento para adquirir a capacidade de geração de células mieloides a longo prazo.

HSCs definitivas são definidas por sua capacidade continuada de repopular com múltiplas linhagens todo o sistema hematopoético (eritroide, mieloide e linfoide). Estudos em embriões de camundongos mostram, em experiências *in vivo* de transplantes em adultos, que as primeiras HSCs funcionais são geradas na região AGM intraembrionária (Figs. 13-3 e 13-4) antes do seu surgimento no fígado. Um dia depois da geração de HSCs na região AGM, são detectadas HSCs no fígado, sugerindo que as HSCs da AGM migram para o fígado em uma segunda onda de colonização. De fato, estudos de imageamento ao vivo da aorta do camundongo no meio da gestação documentaram a geração de células hematopoieticas diretamente de células endoteliais que revestem a parede ventral da aorta. Portanto, a origem celular da segunda onda de geração de células hematopoieticas é a **célula endotelial hemogênica**. Foram encontradas células adultas multipotentes capazes de repopulação hematopoética *in vivo* similares em regiões AGM humanas de 4 a 5 semanas (por xenotransplante de células humanas para camundongos imunodeficientes).

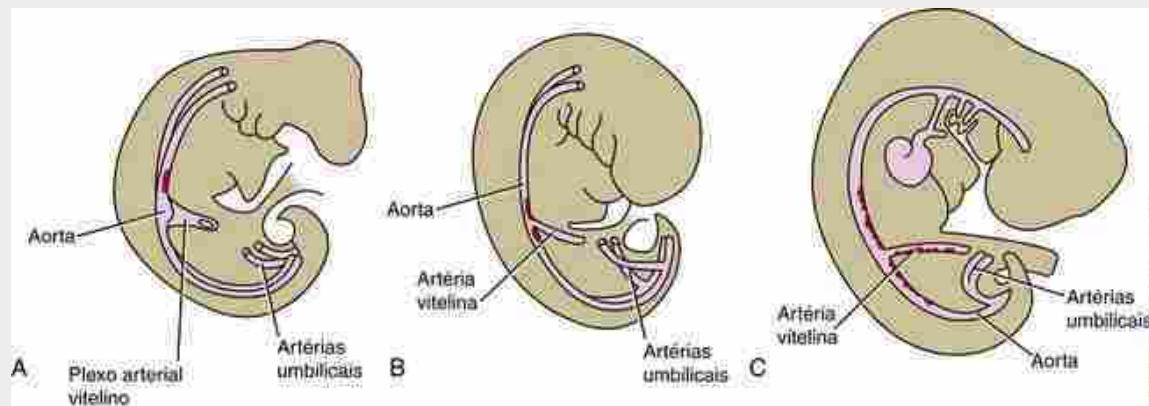


FIGURA 13-3 Uma fonte de células hematopoieticas surge de dentro do mesoderma esplâncnico da região aorta-gônada-mesonefros (AGM). Essas células aparecem como agrupamentos e emergem do assoalho ventral da aorta dorsal nessa região. A, Nos seres humanos, aproximadamente no 27º dia, um pequeno número de agrupamentos hematopoéticos (*em vermelho*) aparece inicialmente na aorta dorsal próximo à junção com a artéria vitelina. B, Até o 30º dia, o número de agrupamentos hematopoéticos aumenta. C, Até o 36º dia, os agrupamentos se estendem ao longo de toda a aorta na região AGM e na artéria vitelina. Até o 40º dia, os agrupamentos de células hematopoéticas não são mais detectados na aorta dorsal.

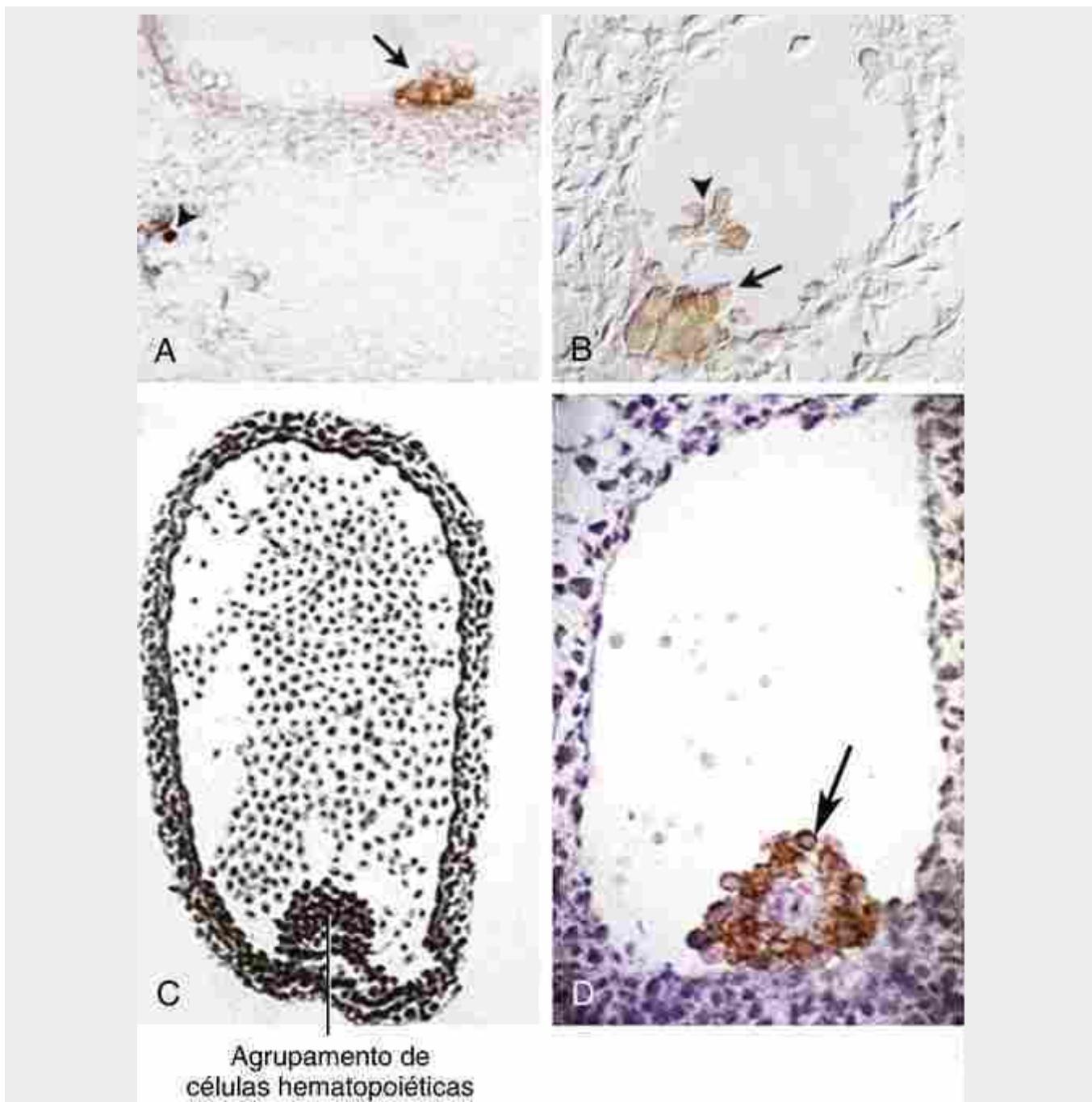


FIGURA 13-4 Agrupamentos de células hematopoiéticas no assoalho ventral da aorta dorsal na região AGM de vários vertebrados. *A*, Embrião de galinha de 3 dias mostrando células positivas para Cd41 (seta), marcador para células progenitoras hematopoiéticas. *B*, Embrião de camundongo no 10º dia imunomarcado com anticorpo anti-Cd41 (seta e ponta de seta). *C*, Aorta dorsal de embrião de porco de 6 a 15 milímetros na região AGM mostrando agrupamentos hematopoiéticos. *D*, Embrião humano no 35º dia imunomarcado com um anticorpo anti-Cd45 (seta), outro marcador para células hematopoiéticas.

Nos seres humanos, o primórdio do fígado é colonizado inicialmente por células hematopoiéticas primitivas do saco vitelínico, possivelmente no 23º ou 24º dia e, a seguir, por uma segunda onda contendo HSCs a partir do 30º dia. Ensaios *in vitro* de explantes de tecido humano do saco vitelínico e do mesoderma da AGM mostram que ambos os explantes podem produzir células mieloides. Entretanto, somente o tecido do mesoderma da AGM origina células hematopoiéticas multipotentes (que produzem células mieloides e linfócitos T e B). Coletivamente, esses estudos sugerem que o mesoderma extraembrionário do saco vitelínico gera células hematopoiéticas primitivas necessárias para atender às necessidades cardiovasculares iniciais do embrião. As HSCs definitivas que sustentam a hematopoiese adulta por toda a vida derivam da região AGM intraembrionária (e, possivelmente, de agrupamentos hematopoiéticos nas artérias vitelinas e umbilicais) e constituem a segunda onda de células que colonizam o fígado fetal antes da colonização subsequente dos órgãos linfáticos e da medula óssea. A segunda onda acontece somente durante uma pequena janela de tempo do desenvolvimento, terminando até o 40º dia de

gestação.

Subsequentemente à geração de HSCs no embrião, sua sobrevida e proliferação dependem de um fator trófico denominado fator de célula-tronco (Scf ou ligante c-kit) e seu receptor, o receptor c-kit. Camundongos mutantes completamente privados do receptor c-kit ou de seu ligante morrem no útero de anemia entre o 14º e o 16º dia de gestação e contêm números reduzidos de progenitores eritroides no fígado fetal. Em seres humanos, a proteína RECEPTORA C-KIT é expressa no saco vitelínico, no mesoderma esplâncnico da AGM e nas HSCs do fígado durante todos os estágios do desenvolvimento hematopoiético do fígado. Entretanto, a expressão do seu ligante, SCF, é regulada temporalmente. A proteína SCF é expressa na região AGM em baixos níveis entre o 25º e o 34º dia. Ela é bem expressa no fígado humano até o 34º dia, antes que os níveis diminuam no estágio avançado do desenvolvimento do fígado (ou seja, até o 45º dia). Somente uma fraca expressão do mRNA do SCF é detectada no saco vitelínico (por RT-PCR quantitativo) no 32º dia de desenvolvimento. Consequentemente, a sinalização do RECEPTOR C-KIT pelo SCF nas HSCs coincide com a geração das HSCs da AGM e com a colonização do fígado por HSCs e o aparecimento das HSCs definitivas. Isso corrobora a ideia de que a sinalização de SCF/c-KIT está envolvida na sobrevivência, diferenciação e proliferação das HSCs derivadas da AGM no fígado.

Vasculogênese e angiogênese

No 18º dia, os vasos sanguíneos começam a se desenvolver no mesoderma esplâncnico intraembrionário. Ao contrário da formação de vasos sanguíneos no mesoderma extraembrionário, a formação de vasos sanguíneos no mesoderma intraembrionário, com exceção da região da AGM (discutida nos quadros “No Laboratório de Pesquisa” intitulados “Segunda Fonte de Células Hematopoiéticas” e “Células Hematopoiéticas Intraembrionárias, uma Fonte de Células-tronco Hematopoiéticas da Medula Óssea Adulta”), não está associada à hematopoiese. Substâncias indutoras secretadas pelo endoderma subjacente causam a diferenciação de algumas células do mesoderma esplâncnico em EPCs (ou **angioblastos**) que se desenvolvem em células endoteliais achataadas e se unem para formar pequenas estruturas vesiculares. Essas estruturas vesiculares, por sua vez, se unem em longos tubos ou vasos (Fig. 13-5). Esse processo é denominado **vasculogênese**. Esses cordões se desenvolvem em todo o mesoderma intraembrionário e se unem para formar uma rede extensa de vasos que estabelece a configuração inicial do sistema circulatório do embrião. Essa rede cresce e se espalha por todo o embrião por meio de quatro processos principais: (1) formação, migração e união contínua de EPCs; (2) **angiogênese**, brotamento e ramificação de novos vasos a partir de cordões endoteliais já existentes; (3) **intussuscepção vascular** (angiogênese sem brotamento), em que vasos existentes são divididos para gerar vasos adicionais; e (4) intercalação de novas EPCs nas paredes dos vasos existentes.

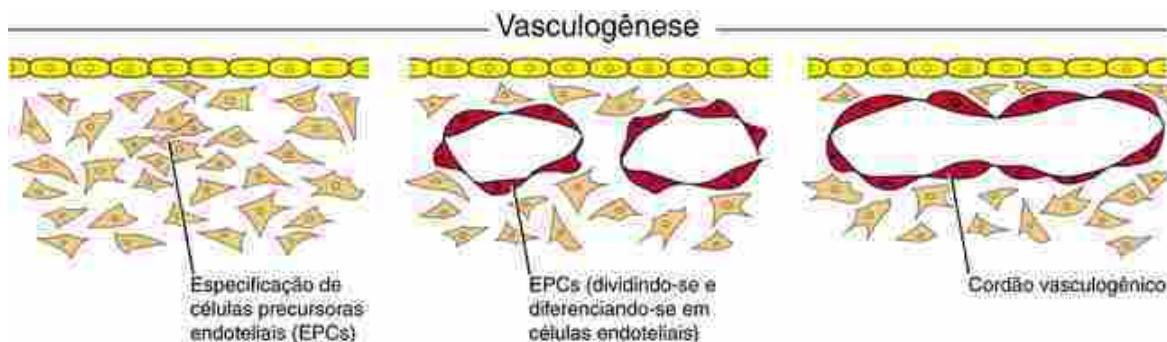


FIGURA 13-5 A vasculogênese começa com a especificação da linhagem de células precursoras endoteliais no interior do mesoderma esplâncnico extraembrionário do saco vitelínico e, posteriormente, no interior do mesoderma esplâncnico intraembrionário. As células precursoras endoteliais se diferenciam em células endoteliais e se organizam em pequenos cordões vasculares que se unem para formar um plexo vascular embrionário primitivo.

Como os vasos sanguíneos se formam no saco vitelínico em torno do 17º dia, mas não no disco embrionário até o 18º dia, acreditava-se, originalmente, que os vasos intraembrionários surgiam principalmente devido à extensão centrípeta da vasculatura do saco vitelínico para dentro do embrião propriamente dito. Entretanto, estudos com transplantes codorna-galinha fornecem evidências de que quase todo o mesoderma esplâncnico intraembrionário tem a capacidade de formar vasos sanguíneos por meio de vasculogênese. Além disso, esses experimentos mostram que o padrão de ramificação característico dos vasos sanguíneos em cada região é determinado por estímulos do endoderma subjacente e da sua matriz extracelular. Embora esteja claro que o mesoderma esplâncnico intraembrionário tem a capacidade de gerar EPCs e de se submeter à vasculogênese, o mesoderma intraembrionário somático da placa lateral pode não ter

essa capacidade. Estudos em embriões de ave e de peixe-zebra mostram que grande parte dessa vasculatura se desenvolve de EPCs migratórias provenientes do mesoderma paraxial que se forma subsequentemente por vasculogênese (Fig. 13-6).

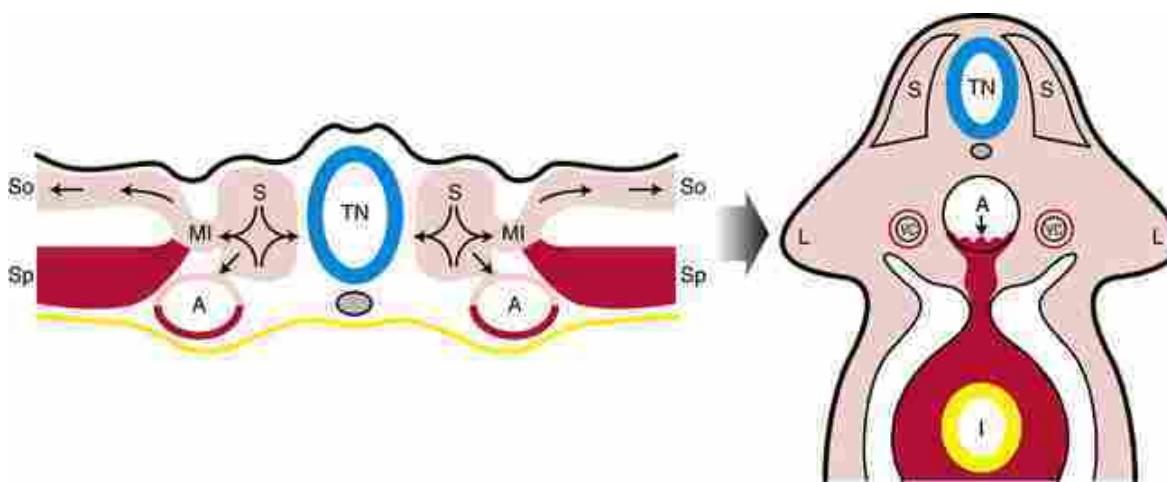


FIGURA 13-6 A vasculogênese também ocorre no mesoderma paraxial. Em embriões de aves, além da vasculogênese na parede do saco vitelínico e no mesoderma esplâncnico, a linhagem de células precursoras endoteliais é especificada no mesoderma paraxial. Células precursoras endoteliais derivadas do mesoderma paraxial migram para locais distantes (setas), diferenciam-se em células endoteliais e organizam um plexo vascular primitivo através das áreas em vermelho-claro. A vasculatura primitiva derivada das células precursoras endoteliais com origem no mesoderma esplâncnico é mostrada em vermelho-escuro. A aorta dorsal é uma mistura de ambas as linhagens de células precursoras endoteliais. A, Aorta; VC, veia cardinal; I, intestino; MI, mesoderma intermediária; B, broto do membro; TN, tubo neural; S, somito; So, mesoderma somático; Sp, mesoderma esplâncnico.

Quando o plexo vascular já está formado no embrião, ele deve ser remodelado para acomodar o crescimento do embrião e se desenvolver em um sistema de artérias e veias. A conclusão e a contínua remodelação dos vasos sanguíneos requer **angiogênese**. Com frequência, o termo *angiogênese* é inadequadamente trocado por *vasculogênese*. Entretanto, a angiogênese é um processo diferente. Angiogênese é a expansão e remodelação do sistema vascular por meio de células endoteliais existentes e vasos gerados por vasculogênese (Fig. 13-7). A expansão por angiogênese ocorre pelo **brotamento** ou por **intussuscepção** vascular, uma divisão ou fusão de vasos existentes (Fig. 13-7).

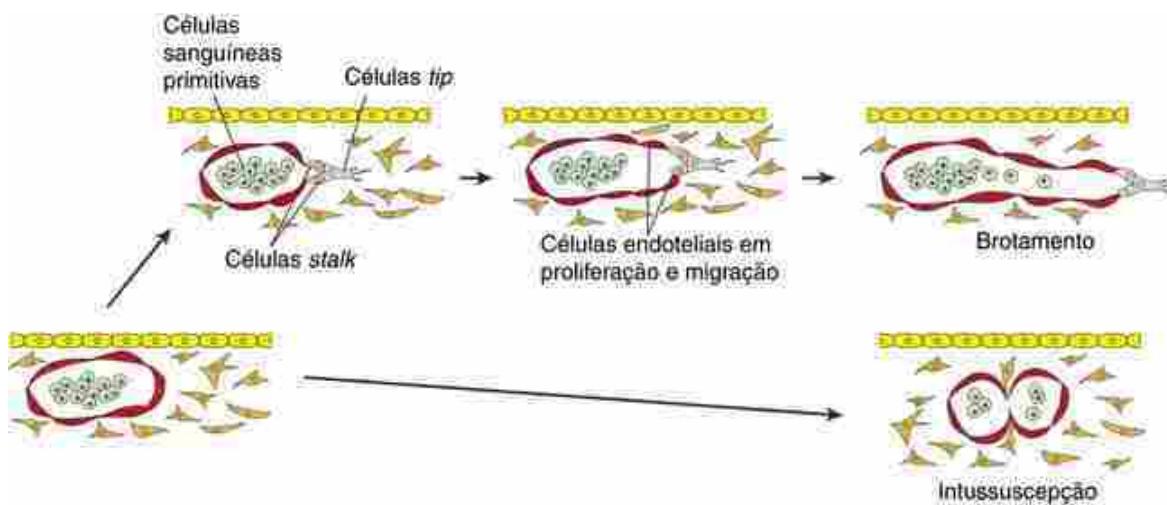


FIGURA 13-7 A rede vascular primitiva estabelecida por meio de vasculogênese é expandida e remodelada por angiogênese. A expansão por angiogênese ocorre pelo brotamento de vasos existentes ou por intussuscepção, uma divisão dos vasos existentes.

Geralmente, a organização de células endoteliais em vasos sanguíneos reconhecíveis ocorre no local de especificação de EPCs durante a vasculogênese. No entanto, as evidências mostram que as EPCs também podem migrar e proliferar em locais secundários distantes antes de se organizarem em vasos sanguíneos, em um processo distinto da

angiogênese ([Fig. 13-6](#)). Vasos que se formam através dessa forma modificada de vasculogênese incluem (em embriões de aves) a veia cardinal posterior e o plexo vascular perineural e (em embriões de *Xenopus*) a maior parte da aorta dorsal e vasos intersegmentares.

Antigamente, acreditava-se que as EPCs estivessem presentes somente no embrião e no feto. Entretanto, as evidências sugerem que existem EPCs na medula óssea adulta e no sangue periférico. O fator de crescimento endotelial vascular (Vegf), o fator estimulador de colônias de granulócitos-monócitos (GM-CSF), o fator de crescimento de fibroblastos-2 (Fgf2) e o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (Igf1) estimulam a mobilização e a diferenciação de EPCs. A determinação das células endoteliais circulantes de se integrarem às paredes do vaso sanguíneo é complexa e pode envolver interações com citocinas e receptores de citocinas, ligando-as a regiões endoteliais desnudadas ou localizando-as em áreas de agregados de plaquetas.

No Laboratório de Pesquisa

O que inicia e controla a vasculogênese?

Conforme discutido no [Capítulo 12](#), em embriões de galinha, Bmps provenientes do endoderma, na ausência de Wmps, induzem a linhagem de células cardiológicas, enquanto Bmps, na presença de Wnts, possibilitam a formação de vasos sanguíneos no mesoderma esplâncnico. Além disso, sinais de Bmp/Tgf β que emanam do endoderma extraembrionário e da sinalização de Wnt no mesoderma induzem o mesoderma extraembrionário adjacente ao endoderma do saco vitelínico a formar ilhotas sanguíneas. Em camundongos, o endoderma visceral fornece sinais indutores (p. ex., Bmp, Vegf, *Indian hedgehog*) necessários para induzir a expressão dos marcadores das ilhotas sanguíneas nesse mesoderma. Entretanto, ainda não se sabe qual é o acionador exato para a formação de hemangioblastos *in vivo* e, eventualmente, as linhagens hematopoiéticas e das EPCs. Os precursores hematopoiéticos e as EPCs compartilham muitos dos mesmos marcadores de expressão iniciais, de modo que eles são intimamente ligados em relação à especificação da linhagem celular.

O que se sabe é que a sinalização de Vegf pelo receptor-2 do fator de crescimento endotelial vascular (Vegfr2) é essencial. Camundongos *knockout* para Vegfr2 não apresentam progenitores hematopoiéticos e de linhagens de EPCs, por isso eles morrem no útero. Além disso, camundongos homozigotos *knockout* para o fator de crescimento endotelial vascular-A (VegfA) morrem como resultado da falta de formação de ilhotas sanguíneas. Camundongos sem o receptor-1 do fator de crescimento endotelial vascular (Vegfr1) também morrem, mas o defeito parece ser uma consequência da proliferação anormal de EPCs, resultando em uma vasculatura desorganizada. O Vegf é um poderoso promotor de vasculogênese: a injeção de Vegf em embriões no princípio da vasculogênese pode vascularizar áreas normalmente avasculares (p. ex., áreas formadoras de cartilagem e córnea). Também se observa **hipervascularização** em embriões de codorna transgênicos transitórios com mutação por ganho de função em que há superexpressão de Vegf.

Um grupo de fatores de transcrição que parece desempenhar um papel essencial na especificação de células endoteliais é a família de proteínas Ets. Pelo menos 12 fatores Ets diferentes são expressos nas células endoteliais, com funções sobrepostas que trabalham em combinação para especificar a linhagem de células endoteliais. Uma delas, a Etv2, parece especialmente importante, pois regula a expressão de diversos genes endoteliais iniciais; camundongos nulos para Etv2 não têm células endoteliais, apresentam defeitos na hematopoiése e morrem no início do desenvolvimento.

A angiogênese expande e remodela o complexo vascular inicial

Como na vasculogênese, Vegfs e seus receptores têm uma importante função na mediação da angiogênese. Em resposta ao VegfA, células endoteliais que expressam Vegfr2, denominadas **células líderes ou células da ponta (tip cells)**, produzem filopódios longos e dinâmicos que sondam o ambiente procurando estímulos direcionais ([Fig. 13-7](#)). Células endoteliais adjacentes, denominadas **células seguidoras ou células da base (stalk cells)**, proliferam em resposta ao VegfA e expressam moléculas de adesão celular necessárias para formar um lúmen e manter a integridade do novo brotamento. Portanto, por que todo o endotélio não desenvolve células *tip* em resposta ao VegfA? Por que algumas se transformam em células *stalk*? A resposta envolve a sinalização notch. Proteínas notch (notch1-4) são receptores de superfície celular para os ligantes de membrana, delta-like 1 (Dll-1), Dll-3, Dll-4, Jag1 e Jag2, importantes para a determinação do destino celular (abordado no [Cap. 5](#)). Embriões de camundongo deficientes em notch1 ou notch2 formam um plexo capilar inicial normal, mas não remodelam essa vasculatura adequadamente. Portanto, a sinalização notch parece ser necessária para a remodelação do plexo capilar primitivo, em vez de para seu desenvolvimento.

Durante a angiogênese, o ligante notch, Dll-4, é predominantemente expresso em células *tip* e a sinalização notch mais forte ocorre nas células *stalk*. A sinalização notch reprime o brotamento, ao passo que o bloqueio da

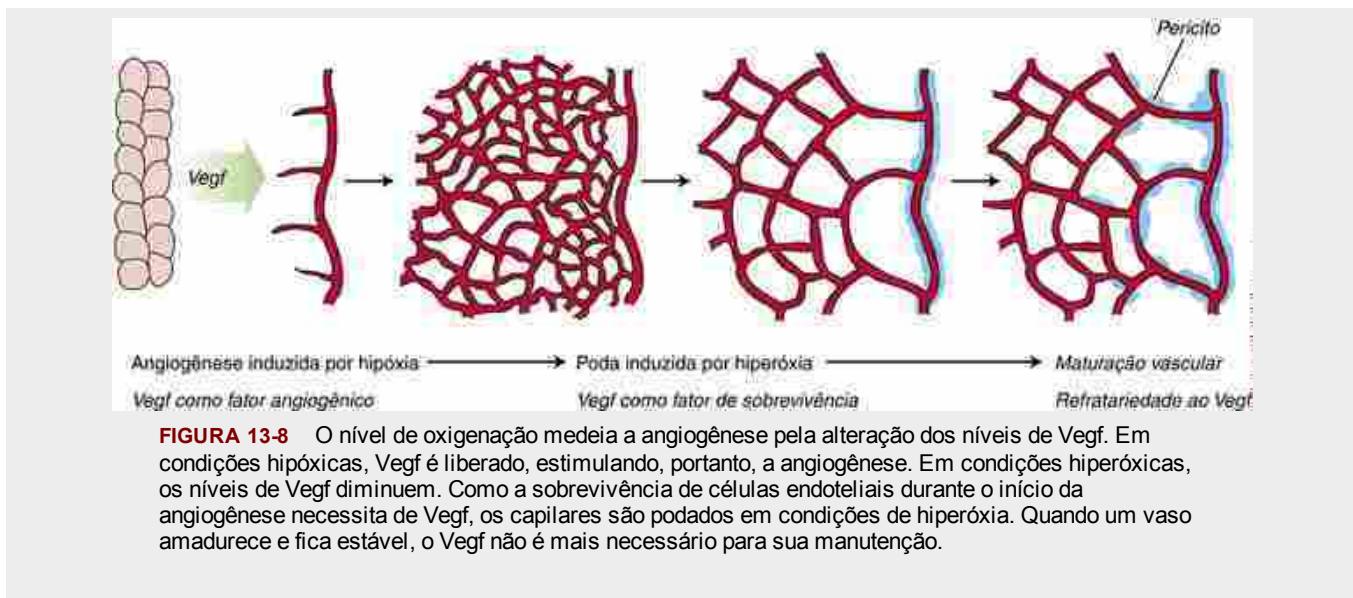
sinalização notch causa a formação excessiva de células *tip*. Consequentemente, um fenótipo de célula *tip* parece ser o padrão na ausência de sinalização notch, enquanto a sinalização notch promove o fenótipo de célula *stalk* e a estabilização do brotamento. Em resposta ao VegfA, acredita-se que haja uma competição entre as células endoteliais, por meio de uma sinalização bilateral Dll4/notch, gerando, eventualmente, diferentes células endoteliais na população. As que recebem níveis mais baixos de sinalização notch são especificadas como células *tip*, e as que recebem níveis mais elevados são especificadas como células *stalk* que, a seguir, promovem a diminuição da sua expressão do receptor de Vegf. Como consequência, essas diferenças na sinalização notch alteram suas respostas subsequentes à sinalização VegfA. Esse mecanismo é consistente com estudos que mostram que camundongos haploinsuficientes para Dll-4 apresentam quantidades excessivas de células *tip* e desenvolvem redes vasculares anormalmente densas.

Estudos com xenotransplantes de tumores nos quais a sinalização notch é manipulada também sugerem que o notch pode ser um importante mediador da padronização vascular do tumor pela mediação do equilíbrio adequado dos números de células *tip* e *stalk*. Coletivamente, esses estudos mostram que a sinalização notch tem uma importante função na angiogênese e na remodelação do plexo capilar primitivo por agir, principalmente, como um regulador negativo do brotamento.

Outro grupo de receptores e ligantes que agem em paralelo para promover a angiogênese adequada é o grupo de receptor/angiopoietina Tie (tirosina quinase com domínios semelhantes à imunoglobulina e ao Egf). A angiopoietina-1 (Ang1) e a tirosina quinase com domínios semelhantes à imunoglobulina e ao Egf 2 (Tie2) estão claramente envolvidas na regulação da intussuscepção da vasculatura, ao passo que Ang2, em cooperação com os efeitos estimulatórios do Vegf, estimula o brotamento. Camundongos sem o gene Tie2 ou seu ligante Ang1 desenvolvem vasos anormalmente grandes e com vedação insuficiente e morrem no útero. Além disso, esses camundongos apresentam diminuição no número de células endoteliais e no brotamento angiogênico, além de falha na intussuscepção vascular. Camundongos *knockout* para Tie1 desenvolvem vasos com orifícios e as células endoteliais parecem necróticas. Esses resultados mostram, coletivamente, que a sinalização de Tie/Ang, juntamente com a sinalização de Vegf, é essencial para a expansão e remodelação normal dos vasos sanguíneos depois que a vasculatura primitiva é estabelecida.

A família de Tgf β e os componentes de sinalização do receptor de Tgf β — Alk1, receptor de ativina A, proteína quinase semelhante ao receptor de Activina 5 tipo II (Alk5), receptor II de Tgf β e endoglina — desempenham importantes papéis na vasculogênese e angiogênese. Camundongos *knockout* para receptores de Tgf β , Alk1 e Alk5, e a proteína ligadora de Tgf β , endoglina, têm defeitos na remodelação angiogênica como resultado da migração e proliferação deficientes de células endoteliais. Eles desenvolvem conexões arteriovenosas anormais, similares às discutidas no “Caso Clínico” deste capítulo. Além disso, o recrutamento de músculo liso vascular é deficiente, causando integridade vascular inadequada e instabilidade vascular. O Tgf β tem efeitos estimulatórios e inibidores sobre as células endoteliais. Recentes estudos sugerem que a decisão quanto a prosseguir a angiogênese ou maturar como vaso depende de uma interação entre o efeito estimulatório da sinalização de Tgf β /Alk1 (promovido pela endoglina) e o efeito inibitório da sinalização de Tgf β /Alk5.

Uma das principais forças motrizes para a vascularização por angiogênese é a necessidade de reação à hipóxia. Uma baixa saturação de oxigênio causa a estabilização do fator de transcrição, o fator induzível por hipóxia-1 α (Hif1 α). Hif1 α causa a suprarregulação da expressão do VegfA e a expressão da óxido nítrico sintase. A produção de óxido nítrico dilata vasos sanguíneos existentes, o que aumenta a permeabilidade e o **extravasamento** de proteínas do plasma, levando a um aumento na expressão e ativação das proteases, das metaloproteinases de matriz e da plasmina. Metaloproteinases de matriz e plasmina têm papéis importantes na promoção da proliferação e migração de células endoteliais pela ativação de fatores de crescimento e receptores e pelo aumento da renovação da matriz extracelular, necessária para o brotamento. O desenvolvimento vascular adequado também envolve a eliminação de vasos que não são mais necessários ou que seriam prejudiciais caso permanecessem. Por exemplo, no início do seu desenvolvimento, a retina forma um excesso de vascularidade que precisa ser eliminado posteriormente. A **hiperóxia** (excesso de oxigênio) experimental em roedores suprime níveis de Vegf na retina. Como o Vegf atua como um fator de sobrevivência para as células endoteliais da retina, a hiperóxia resultante do excesso de suprimento sanguíneo pode estimular a eliminação dos vasos excedentes pela diminuição dos níveis de Vegf ([Fig. 13-8](#)). Consequentemente, o grau de vascularidade (estimulado pela formação ou eliminação de vasos) de um tecido pode ser mediado pela regulação oxigênio-dependente de Vegf e dos níveis de óxido nítrico.



Artérias vs. veias

Artérias e veias são termos usados para descrever vasos cuja direção do fluxo sanguíneo segue ou afasta-se do coração (artéria) ou na direção do coração (veia). Além dessas diferenças na direção do fluxo sanguíneo, artérias e veias são muito diferentes em sua morfologia e fisiologia. Portanto, como uma rede de vasos interconectados fica designada como um tipo ou outro? A dinâmica de fluxo e os requisitos fisiológicos para diversas cargas impostas aos vasos são algumas das considerações que, supostamente, indicam uma especificação arterial ou venosa. Com base em estudos em embriões de galinha, em que a visualização e o pronto acesso à vasculatura extraembrionária são possíveis, parece que, à medida que a perfusão de alguns vasos do tamanho de capilares aumenta (lado arterial), alguns ramos laterais abaixos são desconectados. Esses vasos desconectados são, a seguir, remodelados para estabelecer uma segunda vasculatura paralela que se conecta a vasos que conduzem ao polo venoso do coração em desenvolvimento. Quando isso ocorre, a conexão com o lado arterial é restabelecida. Estudos recentes sugerem que as células endoteliais desses leitos capilares não são todas idênticas; em vez disso, algumas adquirem uma especificação arterial ou venosa antes mesmo do início do fluxo sanguíneo (a ser discutido posteriormente). Entretanto, os estudos também sugerem que as células endoteliais mantêm uma capacidade um tanto plástica para se integrarem ao endotélio arterial ou venoso com base em estímulos presentes no seu ambiente local.

No Laboratório de Pesquisa

Formação de artérias vs. veias

Os fatores que direcionam e orientam a remodelação e a identidade vascular ainda são obscuros, mas vários ligantes e receptores que, sabidamente, desempenham papéis na orientação neuronal (discutida nos Caps. 9 e 10) parecem estar envolvidos nesse processo. Um desses grupos inclui os receptores Eph e seus ligantes ligados à membrana, as efrinas. A ligação das efrinas aos receptores EphB estimula sinais de transdução nas células que expressam EphB, mas essa ligação também pode promover a transdução de um sinal inverso para a célula que expressa efrina. Esses eventos de interação e sinalização desempenham importantes funções não apenas no desenvolvimento do sistema nervoso, mas também na remodelação de vasos sanguíneos e na especificação do fenótipo de artéria ou veia. A efrina B2 é especificamente expressa na superfície de células endoteliais arteriais, enquanto o receptor EphB4 é especificamente expresso nas células endoteliais venosas (Fig. 13-9). Quando efrina B2 ou EphB4 são inibidos em camundongos, a remodelação do plexo vascular primário em artérias e veias falha. Ainda não foi esclarecido o processo como efrina B2 e EphB4 medeiam essas alterações, mas foi sugerido que, durante a angiogênese, a expressão diferencial dessas duas moléculas pode restringir a migração celular e criar limites teciduais usados para separar os sistemas arterial e venoso. Ainda não se sabe o que origina a mediação da expressão específica de efrinas e receptores Eph, mas o fator causador pode envolver sinalização mediada por Tgf β , pois a expressão de efrina B2 está ausente em camundongos com deficiência de Alk-1.

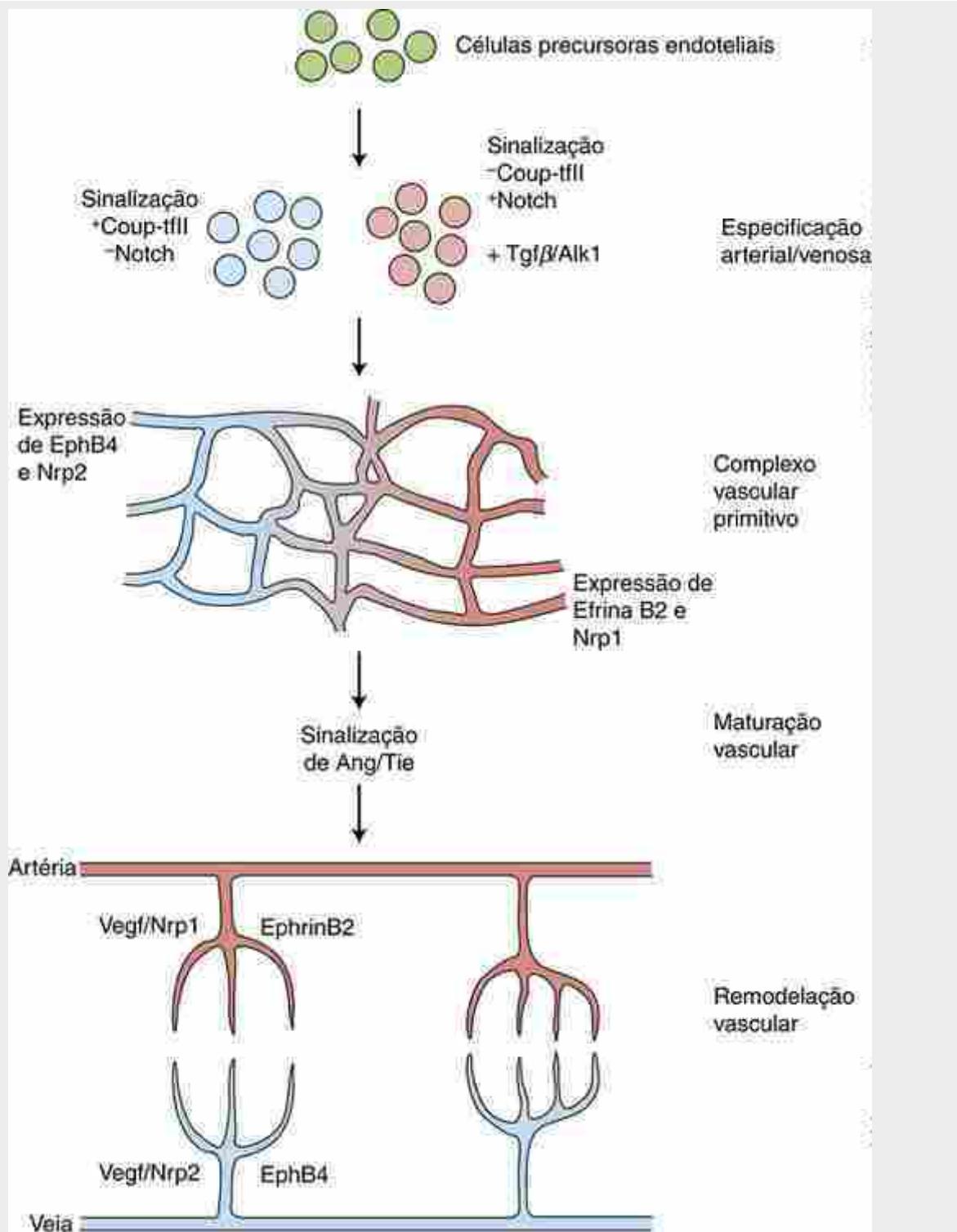


FIGURA 13-9 Modelo hipotético para o estabelecimento da identidade arterial e venosa e para remodelação, levando à formação de dois tipos separados de vasos. A sinalização notch (pela repressão da expressão do fenótipo venoso) e de $Tgf\beta/Alk1$ promove a expressão de marcadores arteriais nas células precursoras endoteliais, ao passo que a expressão de Coup-tfII, pela supressão da sinalização notch, promove o fenótipo venoso. Essas combinações levam à expressão de efrina B2 e Nrp1 nos cordões arteriais e de EphB4 e Nrp2 nos cordões venosos, que são responsáveis pela segregação dos dois grupos de vasos. Neste modelo, a sinalização de Ang/Tie serve para estabilizar esses vasos e regular sua maturação. O crescimento angiogênico (mediado pela sinalização de Vegf/Nrp1 nos leitos arteriais e pela sinalização de Vegf/Nrp2 nos leitos venosos) e a remodelação esculpem esses leitos vasculares em suas configurações finais.

A sinalização notch também pode desempenhar uma função essencial no estabelecimento da identidade arterial ou venosa antes (*upstream*) da sinalização de efrinas/receptor Eph mesmo antes da formação do complexo vascular inicial (Fig. 13-9). Em camundongos, receptores notch1, notch3 e notch4 e seus ligantes, Dll-4, Jag1 e Jag2, são expressos em artérias, mas não em veias. Estudos em peixe-zebra mostram que a inibição da via de sinalização

notch diminui a expressão da efrina B2, resultando na expressão ectópica de marcadores venosos na aorta dorsal. Por outro lado, o aumento da sinalização notch diminui a expressão de marcadores venosos e induz a expressão de marcadores arteriais, incluindo efrina B2. Em camundongos, a expressão do fator 2 de transcrição venoso do promotor *upstream* de ovalbumina de galinha (Coup-tfII) (também conhecido como Nr2f2)ativamente reprime a sinalização notch e a expressão do marcador arterial neuropilina-1 (Nrp1) e promove a expressão do marcador venoso Nrp2. A perda da expressão de Coup-tfII nas veias promove a expressão do marcador arterial, Nrp1. Tanto Nrp1 quanto Nrp2 são correceptores para Vegf que se ligam a variantes de splicing de Vegf e podem mediar respostas diferenciais à sinalização de Vegf em células endoteliais. Portanto, a sinalização notch pode ter uma importante função não apenas na mediação da remodelação e da angiogênese vascular, mas também na especificação arterial/venosa de EPCs (Fig. 13-9). Finalmente, a sinalização notch tem um importante papel na mediação do diâmetro dos vasos sanguíneos em desenvolvimento.

Diversos outros ligantes e receptores que, comprovadamente, desempenham funções na orientação neuronal estão envolvidos na orientação da formação e remodelação de vasos sanguíneos arteriais e venosos, incluindo slit/robo, semaforinas/plexinas e netrinas/Unc5b. Isso pode não causar muita surpresa, pois vasos e nervos periféricos geralmente percorrem caminhos paralelos entre si.

Na Clínica

Angiomas

Vasos sanguíneos e linfáticos são estimulados por **fatores angiogênicos** para crescerem em órgãos em desenvolvimento. Se o crescimento do vaso não for inibido na ocasião adequada, ou se for estimulado novamente em um período posterior da vida, vasos sanguíneos ou linfáticos poderão proliferar até formarem uma massa entrelaçada que poderá trazer consequências clínicas. O crescimento excessivo de pequenas redes de capilares é denominado **hemangioma capilar** ou **nevo vascular**; uma proliferação de seios venosos maiores é conhecida como **hemangioma cavernoso**. O **hemangioma infantil** é o tumor benigno mais comum na infância (incidência de aproximadamente 2,5% em neonatos e de até 10% a 12% em bebês de 1 ano de idade; Fig. 13-10). Esses tumores crescem rapidamente e consistem, sobretudo, em células endoteliais com ou sem lúmen, membranas basais de múltiplas camadas e tecido fibroso. Os hemangiomas diferem de algumas anomalias vasculares, como o **nevus flammeus**, presente no nascimento como **marca de nascença** e cresce proporcionalmente ao crescimento da criança. A maioria dos casos de hemangioma infantil não representa risco imediato ou de longo prazo. Entretanto, eles podem ser potencialmente letais se crescerem em órgãos vitais (p. ex., no crânio ou no canal vertebral, onde podem causar disfunção do sistema nervoso, ou nas vias aéreas, onde podem obstruir a respiração) ou se forem suficientemente grandes para criar um desvio/comunicação de importância fisiológica que possa acarretar insuficiência cardíaca. Em casos raros, pode se desenvolver um **hemangiossarcoma** (angioma metastático).



FIGURA 13-10 Hemangioma infantil. *A*, Hemangioma infantil envolvendo a região da mandíbula com acometimento de vias aéreas. Este paciente foi tratado com corticosteroides orais, que causam a regressão desses tumores em cerca de um terço dos casos, evitando, portanto, a necessidade de intervenção cirúrgica no caso de obstrução de vias aéreas. *B*, Hemangiomas multifocais em um bebê.

Muitos hemangiomas parecem ter uma base genética em sua origem, pois estão associados a síndromes do desenvolvimento resultantes de anomalias cromossômicas. No caso do hemangioma infantil, alguns casos estão ligados à região cromossômica 5q31-33. Essa região contém genes que codificam FGF4, PDGF β e TIROSINA QUINASE SEMELHANTE AO FMS — moléculas importantes no desenvolvimento de vasos sanguíneos. Alguns hemangiomas também estão ligados à via de sinalização TIE/ANG e a mutações em VEGFR2. Múltiplos hemangioblastomas estão associados a uma rara síndrome de câncer familiar hereditária dominante denominada **doença de Hippel-Lindau** (incidência de 1:36.000), caracterizada por mutações em um gene supressor tumoral localizado no cromossoma 3p25-26. Esses indivíduos apresentam múltiplos hemangioblastomas na retina,

hepáticos e no SNC, carcinomas de células renais e cistos viscerais potencialmente fatais. Os estudos mostram que as células do estroma desses tumores produzem níveis elevados de VEGF e HIF1 α , que podem ser responsáveis pela angiogênese excessiva.

Telangiectase hemorrágica hereditária

Mutações em ALK1 e ENDOGLINA têm sido associadas à **telangiectasia hemorrágica hereditária** (THH). As manifestações mais comuns da THH (prevalência de 1:5.000 a 1:8000) são epistaxe (sangramento nasal) e pequenas anomalias vasculares denominadas telangiectases; entretanto, desenvolvem-se progressivamente sangramento gastrointestinal e malformações arteriovenosas no pulmão, cérebro e fígado. Camundongos heterozigotos para mutações em Alk1 ou endogrina apresentam patologias progressivas muito semelhantes, incluindo o desenvolvimento de grandes comunicações arteriovenosas. Mutações no ALK1 também têm sido vinculadas à **hipertensão pulmonar** primária envolvendo a remodelação anormal da vasculatura pulmonar. A THH e algumas formas de hipertensão pulmonar podem se originar de um equilíbrio inadequado entre as sinalizações de ALK1 e ALK5 (assunto discutido anteriormente neste capítulo) Células endoteliais de pacientes saudáveis normais formam vasos extensos, estáveis e bem elaborados na cultura de tecidos, enquanto células endoteliais de pacientes com THH não são capazes de fazê-lo. A ENDOGLINA também interage com o citoesqueleto de actina. Células endoteliais de pacientes com THH apresentam um citoesqueleto de actina desorganizado, mas a organização normal de actina pode ser restaurada com a superexpressão de ENDOGLINA normal nessas células. Células endoteliais com citoesqueleto desorganizado e anormal têm maior probabilidade de formar vasos com tendência a instabilidade vascular, hemorragias e desarranjo vascular.

Desenvolvimento das artérias do arco aórtico

O aparelho respiratório do peixe sem mandíbula que originou vertebrados superiores consistia em um número variável de barras de guelras separadas por fendas (Fig. 13-11). A água entrava pela boca e saía pelas fendas das guelras. Cada uma das barras de guelras, ou **arcos branquiais**, era vascularizada por uma **artéria do arco aórtico**, que surgia como um ramo das aortas dorsal e ventral. A troca gasosa ocorria nos capilares das guelras, e a metade dorsal de cada artéria do arco aórtico transportava o sangue oxigenado para as aortas dorsais pareadas.

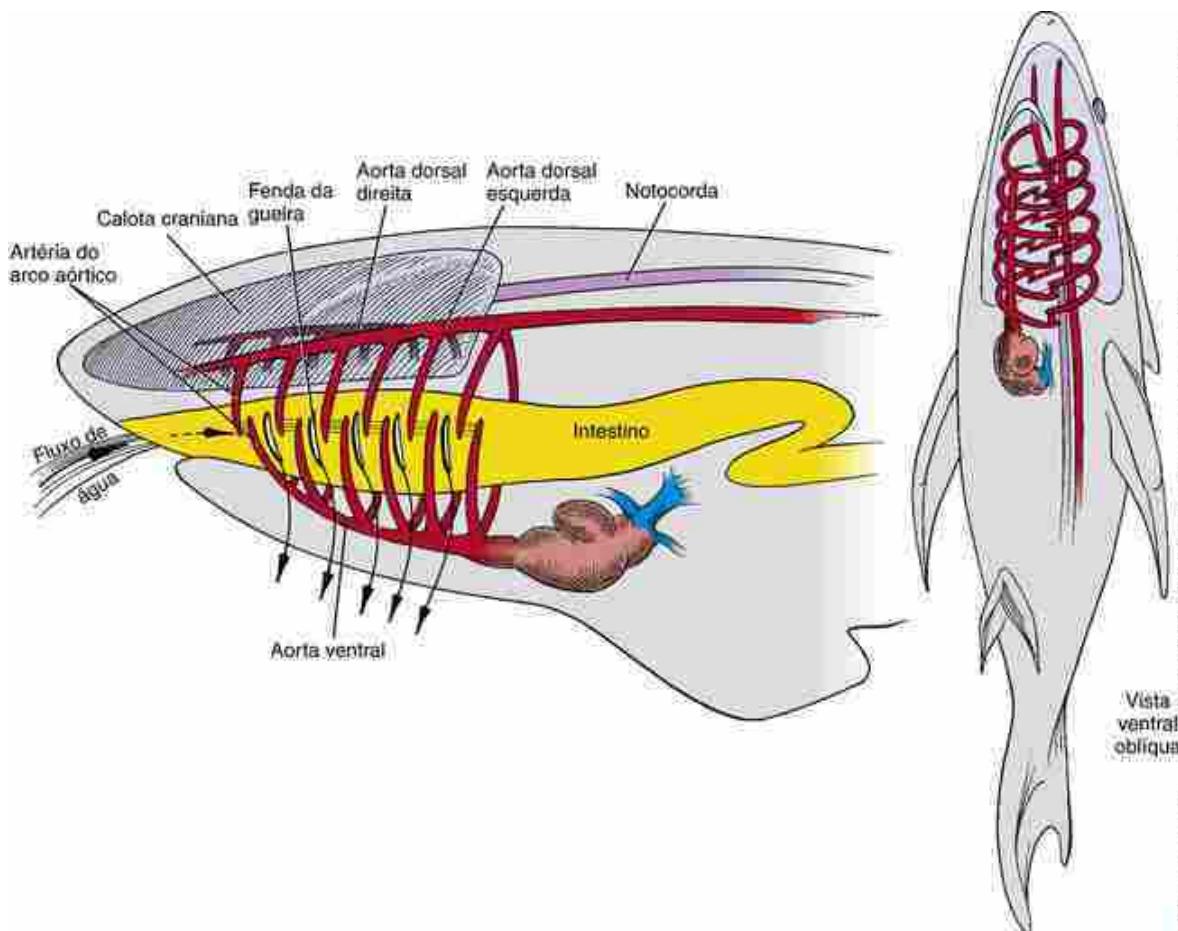
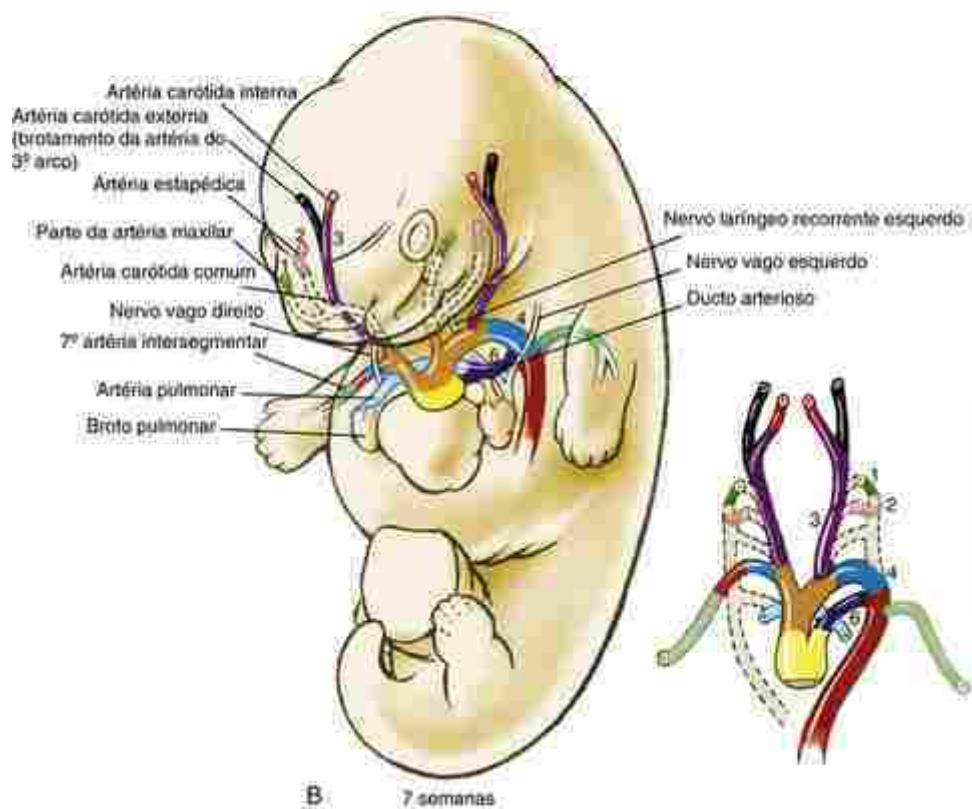
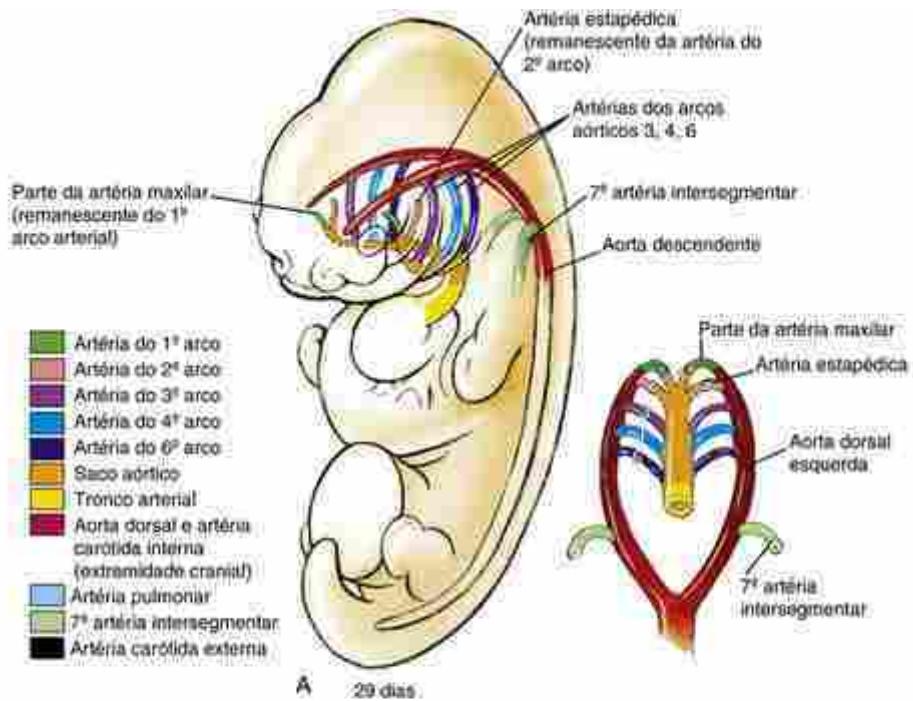


FIGURA 13-11 Vista esquemática do sistema arterial do arco branquial de um tubarão. As artérias do arco faríngeo dos seres humanos evoluíram das artérias do arco braquial de protocordados e peixes. As artérias do arco branquial ocupam as barras das gueiras, envolvendo a faringe como uma cesta. As artérias suprem sangue para as gueiras, que extraem oxigênio da água que flui através das suas respectivas fendas.

Nos embriões de vertebrados superiores e seres humanos, quatro pares de condensações mesenquimais se desenvolvem em cada lado da faringe, correspondendo aos arcos branquiais 1, 2, 3, 4 e, possivelmente, 6 do peixe ancestral. O quinto arco nunca se desenvolve por completo ou se forma brevemente e regide, ao passo que as evidências para a existência de um sexto arco são questionadas. Os componentes mesodérmicos, ectodérmicos e endodérmicos dos arcos foram modificados ao longo da evolução, e, nos seres humanos, formam as estruturas da parte inferior da face e do pescoço e derivados do intestino anterior faríngeo. Por isso, essas estruturas são mais adequadamente denominadas **arcos faríngeos** em vez de arcos branquiais. O desenvolvimento dos arcos faríngeos é detalhado no [Capítulo 17](#); o texto a seguir é limitado ao desenvolvimento das artérias do arco aórtico.

As artérias do arco aórtico nos seres humanos surgem em sequência craniocaudal e formam uma cesta de artérias em torno da faringe

Conforme abordado no [Capítulo 12](#), o primeiro par de artérias do arco aórtico é formado entre o 22º e o 24º dia. Nessa etapa do desenvolvimento, o processo de dobramento corporal, que leva o tubo cardíaco primitivo em formação para o futuro tórax, também posiciona as extremidades craneais das aortas em uma alça dorsoventral ([Fig. 12-4](#)). O primeiro par de artérias do arco aórtico resultante se situa no mesênquima espesso do primeiro par de arcos faríngeos em ambos os lados da faringe em desenvolvimento. Ventralmente, as artérias do arco aórtico surgem do **saco aórtico**, uma expansão situada na extremidade distal do trato de saída cardíaca ([Fig. 13-12A](#)). Dorsalmente, elas se conectam às aortas dorsais esquerda e direita. As aortas dorsais bilaterais se situam adjacentes à notocorda. As artérias dorsais permanecem separadas na região dos arcos aórticos, mas, durante a 4ª semana, fundem-se desde o quarto segmento torácico até o quarto segmento lombar para formar uma **aorta dorsal** na linha média.



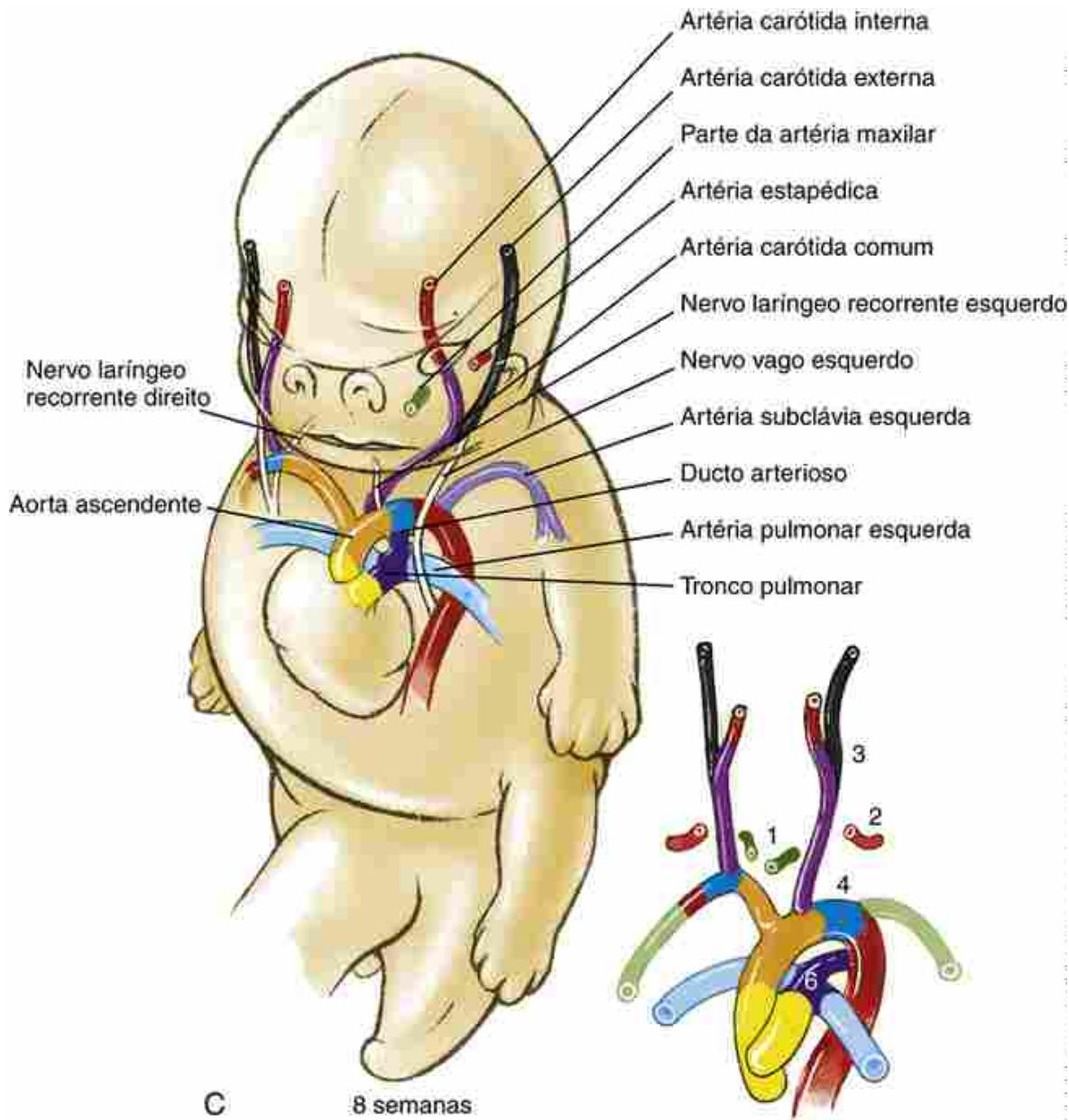


FIGURA 13-12 Desenvolvimento do sistema aórtico. *A*, A formação do primeiro arco está concluída até o 24º dia, mas regide quando o segundo arco se forma, no 26º dia. Os 3º e 4º arcos se formam no 28º dia; o segundo arco sofre degeneração quando a artéria do sexto arco aórtico se forma, no 29º dia. *B*, Desenvolvimento dos arcos no 2º mês. Note que as artérias que surgem a partir dos três primeiros pares de artérias do arco aórtico são bilaterais, enquanto os vasos derivados do 4º e do 6º arco se desenvolvem assimetricamente. *C*, Oitava semana. Observe o desenvolvimento assimétrico dos ramos laríngeos recorrentes do nervo vago, que inervam os músculos laríngeos. À medida que a laringe é deslocada cranialmente com relação ao sistema de arco, os nervos laríngeos recorrentes ficam situados sob o arco mais caudal remanescente em cada lado. Portanto, o nervo laríngeo recorrente direito forma uma alça sob a artéria subclávia direita, enquanto o nervo laríngeo recorrente esquerdo forma uma alça sob o ducto arterioso.

Estudos em embriões de galinha sugerem que a perda de chordin, liberado pela notocorda ao longo do eixo craniocaudal, junto com a presença contínua de fatores promotores de vascularização (p. ex., Vegfs), promove a fusão das aortas dorsais. Ainda não se conhece a maneira pela qual a expressão de chordin é regulada ao longo desse eixo.

Entre o 26º e o 28º dia, as artérias dos arcos aórticos dois, três e quatro se desenvolvem por vasculogênese e angiogênese nos seus respectivos arcos faríngeos, incorporando EPCs que migram do mesoderma adjacente (Figs. 13-12 e 13-13). As células mesenquimais derivadas da crista neural dentro dos arcos faríngeos também desempenham uma função significativa no desenvolvimento normal das artérias dos arcos, embora as células da crista neural não contribuam para o endotélio desses vasos (consulte, mais adiante, o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Interações Teciduais Direcionam a Remodelação das Artérias do Arco Aórtico”). Um plexo de vasos também se forma

das EPCs no interior do mesoderma esplâncnico em posição caudal relativa ao quarto arco faríngeo e acabam por formar um canal composto de um vaso sanguíneo entre a aorta dorsal e o saco aórtico até o 29º dia. Classicamente, a literatura se refere a esse vaso sanguíneo como a artéria do sexto arco aórtico, embora haja incertezas quanto à existência de um sexto arco faríngeo nos vertebrados superiores. Entretanto, para facilitar a discussão, ainda chamaremos esse vaso de artéria do sexto arco aórtico.

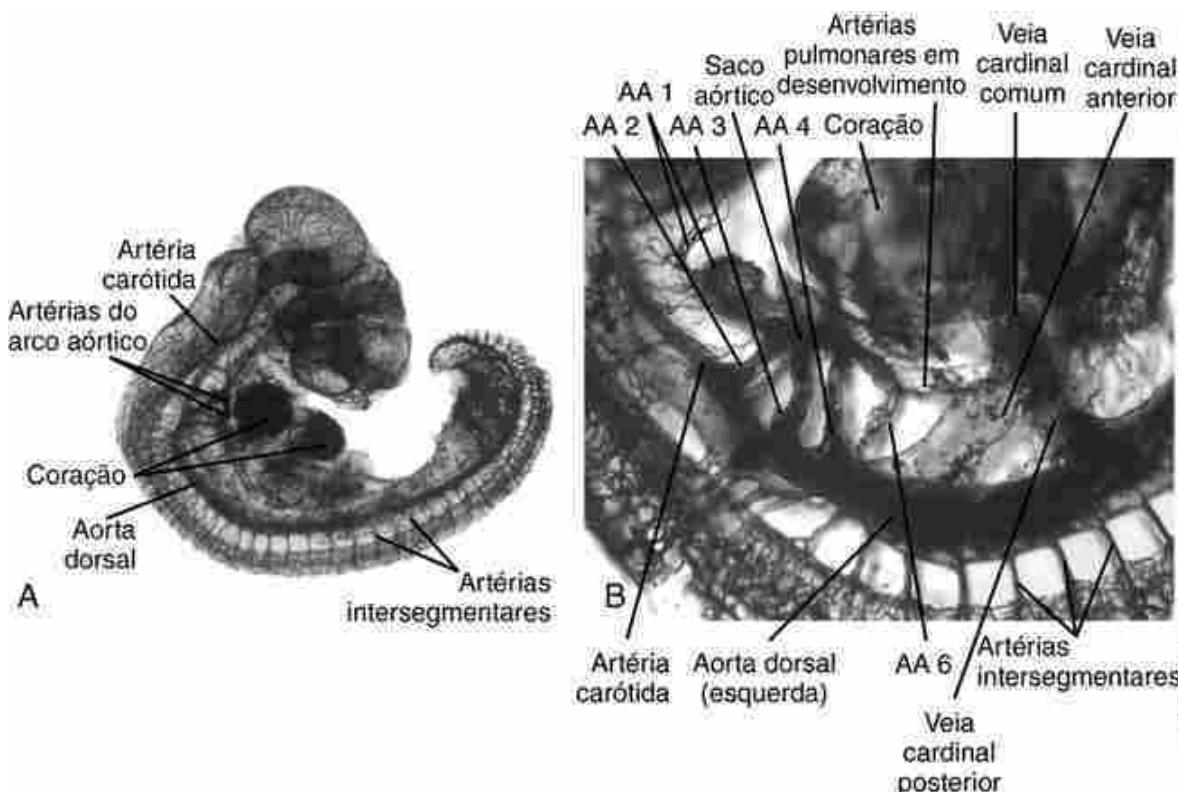


FIGURA 13-13 Vasculatura de embrião de galinha revelada pela injeção intravenosa de tinta em um embrião vivo, seguida pela fixação e clarificação do embrião. *A*, Vasculatura de um embrião de galinha de 3,5 dias de vida. *B*, Ampliação da região do arco faríngeo em um embrião similar. Várias das artérias do arco aórtico (AAs), além de outras grandes artérias, são visíveis. As veias cardinais comuns podem ser identificadas entrando no polo venoso do coração. Observe dois ramos: veias cardinais anterior e posterior.

As duas primeiras artérias dos arcos regredem quando os arcos posteriores se formam. A artéria do segundo arco surge no segundo arco faríngeo até o 26º dia e cresce para conectar o saco aórtico às aortas dorsais. Simultaneamente, o primeiro par de artérias do arco aórtico começa a regredir completamente (exceto, possivelmente, pequenos remanescentes que podem originar porções das **artérias maxilares**) (Fig. 13-12A, B). No 28º dia, enquanto o primeiro arco está regredindo, formam-se as artérias do 3º e 4º arcos aórticos. Finalmente, no 29º dia, formam-se as artérias do sexto arco e as artérias do segundo arco regredem, exceto um pequeno remanescente que origina parte da **artéria estapédica** (Figs. 13-12B, C e 13-13) essa artéria fornece sangue ao primórdio do osso do estribo (estapédio) na orelha em desenvolvimento (o desenvolvimento da orelha é discutido no Cap. 18).

Artérias do arco aórtico dão origem a importantes vasos da cabeça, pescoço e parte superior do tórax

Por volta do 35º dia, os segmentos da aorta dorsal que conectam as artérias do terceiro e quarto arco aórtico desaparecem em ambos os lados do corpo, de modo que as extensões craniais das aortas dorsais que alimentam a cabeça recebem sangue inteiramente através do terceiro arco aórtico (Fig. 13-12B). As artérias do terceiro arco aórtico dão origem às **artérias carótidas comuns** direita e esquerda (Figs. 13-12B, C e 13-14A) e à porção proximal das **artérias carótidas internas** direita e esquerda. A porção distal das artérias carótidas esquerdas se origina das extensões craniais das aortas dorsais e as **artérias carótidas externas** direita e esquerda brotam das carótidas comuns (Fig. 13-12B, C).

Até a 7ª semana, a aorta dorsal direita perde suas conexões com a aorta dorsal fundida da linha média e com a artéria do sexto arco aórtico direito, enquanto permanece conectada à artéria do quarto arco direito (Fig. 13-12B, C). Enquanto isso, ela também adquire uma ramificação, a **sétima artéria intersegmentar cervical direita**, que se desenvolve no interior da região do broto do membro superior. A **artéria subclávia direita** definitiva que alimenta o membro superior

é derivada do (1) quarto arco direito, de (2) um pequeno segmento da aorta dorsal direita e (3) da sétima artéria intersegmentar direita. A região do saco aórtico conectada à artéria do quarto arco é modificada para formar o ramo da aorta em desenvolvimento denominado **artéria braquiocefálica** ([Fig. 13-12C](#)).

A artéria esquerda do quarto arco aórtico mantém sua conexão com a aorta dorsal fundida e, com um pequeno segmento do saco aórtico, ela se torna o **arco aórtico (arco da aorta ou aorta ascendente)** e a porção mais proximal da **aorta descendente**. O restante da aorta descendente, a partir do quarto nível torácico em direção caudal, é originário das aortas dorsais fundidas. A **sétima artéria segmentar esquerda**, que se forma no mesoderma paraxial e na região do membro, origina a **artéria subclávia esquerda** que alimenta o membro superior esquerdo ([Fig. 13-12B, C](#)). O desenvolvimento das **artérias coronárias** é descrito no [Cap. 12](#).

Os sextos arcos esquerdo e direito surgem da extremidade proximal do saco aórtico, mas o desenvolvimento, a seguir, é assimétrico ([Figs. 13-12B, C, 13-13B e 13-14B](#)). Até a 7^a semana, a conexão distal da artéria do sexto arco aórtico direito com a aorta dorsal direita desaparece. Por outro lado, a artéria do sexto arco aórtico esquerdo permanece completa e sua porção distal forma o **ducto arterioso**, que permite o fluxo de sangue do tronco pulmonar para a aorta descendente durante toda a gestação ([Fig. 13-12B, C](#)). Esse desvio se fecha no nascimento e é, posteriormente, transformado no **ligamento arterioso**, que conecta o tronco pulmonar ao arco da aorta. As alterações na circulação que ocorrem no nascimento serão discutidas em detalhes próximo ao fim deste capítulo.

Conforme mostrado na [Figura 13-12B e C](#), o desenvolvimento assimétrico das artérias direita e esquerda do sexto arco aórtico é responsável pela curiosa assimetria dos **nervos laríngeos recorrentes direito e esquerdo**, que se ramificam dos nervos vagos. Os nervos laríngeos surgem originalmente abaixo do nível da artéria do sexto arco aórtico e passam sob as artérias esquerda e direita do sexto arco aórtico para inervar músculos intrínsecos da laringe. Durante o desenvolvimento, a laringe é deslocada cranialmente em relação às artérias do arco aórtico. O nervo laríngeo recorrente esquerdo fica localizado sob o sexto arco no lado esquerdo e forma uma alça sob o futuro ligamento arterioso. Como a artéria distal direita do sexto arco aórtico desaparece (e porque não se desenvolve uma quinta artéria do arco aórtico), o nervo laríngeo recorrente direito se localiza sob a artéria do quarto arco aórtico, que forma parte da artéria subclávia direita.

Embora as artérias pulmonares passem a se conectar às artérias do sexto arco e, finalmente, ao tronco pulmonar, diversas observações clássicas, além de experiências mais recentes, sugerem que as artérias pulmonares se desenvolvem como ramos da artéria do quarto arco aórtico e, a seguir, estabelecem uma conexão secundária com as artérias do sexto arco aórtico antes de perderem sua conexão com as artérias do quarto arco aórtico ([Figs. 13-13B e 13-14B](#)). Nos pulmões, as extremidades distais das artérias pulmonares formam anastomoses com a vasculatura que se desenvolve no mesênquima adjacente aos brotos brônquicos (assunto discutido no [Cap. 11](#)).

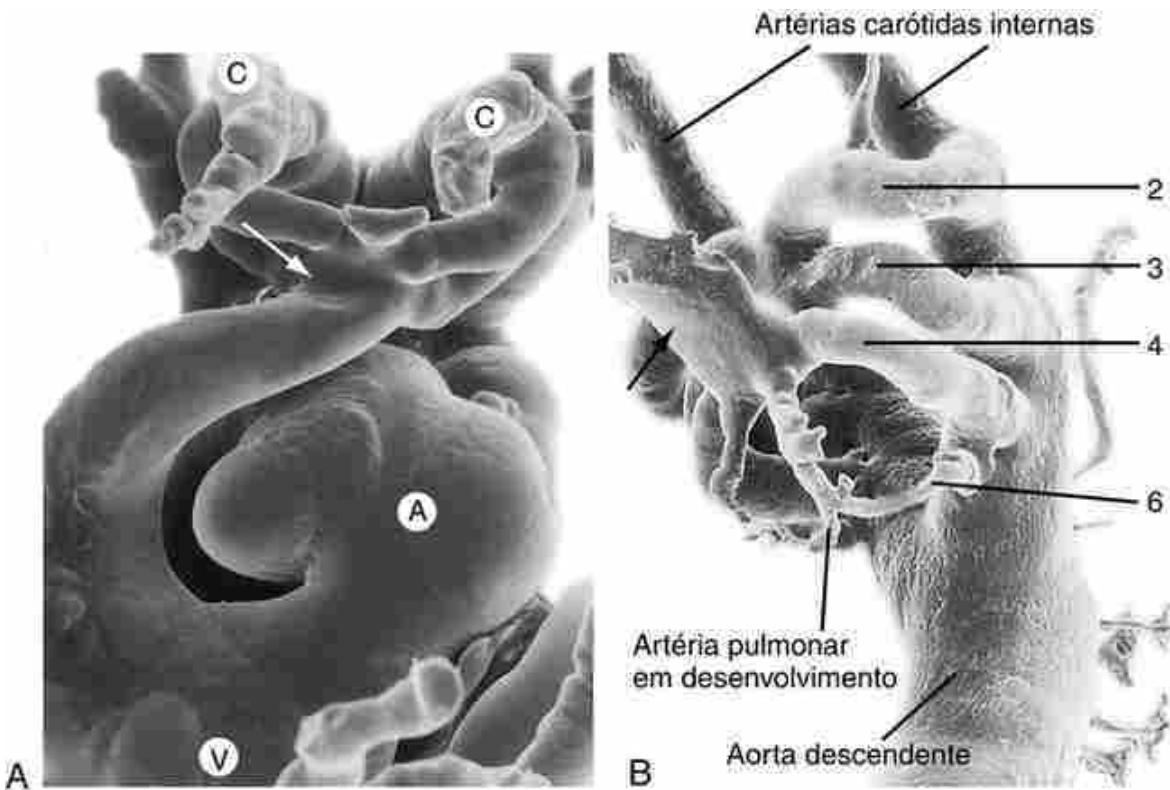


FIGURA 13-14 Moldes vasculares: A, Vista frontal de um molde das artérias do arco aórtico. As artérias carótidas comuns esquerda e direita (C) estão crescendo na direção do observador, provenientes dos terceiros arcos. As artérias do 3º e do 4º arcos aórticos surgem do saco aórtico (seta). A, Átrio primitivo; V, ventrículo. B, Vista inferolateral de um molde das artérias do arco aórtico. As artérias 2, 3 e 4 dos arcos aórticos estão totalmente desenvolvidas e o sexto par está começando a se formar. Uma seta marca a via de saída distal.

No Laboratório de Pesquisa

Interações teciduais direcionam a remodelação das artérias do arco aórtico

Conforme mostrado no Capítulo 17, o mesênquima derivado de mesoderma e da crista neural dos arcos faríngeos é revestido internamente por endoderma e externamente por ectoderma. Cada arco faríngeo é separado dos adjacentes por ranhuras (fendas ou sulcos ectodérmicos faríngeos) e por expansões internas do intestino anterior (bolsas endodérmicas faríngeas), e a região do assoalho ventral dos arcos faríngeos também serve como local do segundo campo cardíaco cranial (abordado no Cap. 12). Dentro de cada arco faríngeo, forma-se uma artéria do arco aórtico que é subsequentemente remodelada em grandes vasos maduros. Experiências com quimeras galinha-codorna mostram que as células da crista neural se diferenciam em músculo liso vascular e nas células de tecido conjuntivo que formam as túnica desses grandes vasos. Se as células das cristas neurais forem suprimidas ou se sua migração do tubo neural para os arcos faríngeos for perturbada, ainda serão formadas as artérias iniciais dos arcos aórticos, mas a regressão e a persistência das artérias dos arcos faríngeos serão anormais; o mesênquima remanescente derivado do mesoderma é incompetente para sustentar o crescimento e o desenvolvimento contínuos das artérias depois que o fluxo sanguíneo é iniciado. Consequentemente, as células da crista neural não apenas fornecem o mesênquima para as túnica desses vasos, mas elas também têm um importante papel na padronização das artérias dos arcos faríngeos.

Com base em recentes estudos em embriões de aves e camundongos, está se tornando claro que interações tecido-tecido entre o mesênquima derivado da crista neural e o ectoderma e o endoderma faríngeos desempenham funções essenciais na mediação do desenvolvimento de artérias do arco aórtico. Segundo mencionado no Capítulo 12, níveis específicos da sinalização de Fgf8 modulam a proliferação, sobrevivência e diferenciação de células no segundo campo cardíaco. O Fgf8 é expresso especificamente no ectoderma e no endoderma da região faríngea, mas não no mesoderma do arco faríngeo ou no mesênquima originário da crista neural. Ainda assim, parece que as células da crista neural, de alguma forma, medeiam os níveis de sinalização de Fgf8 nessa região. Além de o desenvolvimento do coração ser sensível à sinalização de Fgf8 nos arcos faríngeos, o desenvolvimento

vascular faríngeo também depende da sinalização de Fgf8 nos embriões de galinha e camundongo. Em camundongos, hipomorfos de Fgf8 (um animal com mutação de perda de função parcial, p. ex., em que a expressão de Fgf8 no hipomorfo é diminuída, mas não eliminada por completo) mostram fenótipos similares a muitos dos defeitos cardíacos e das artérias do arco aórtico observados na **síndrome da deleção de 22q11.2** em seres humanos (essa síndrome é discutida com mais profundidade nos [Caps. 4, 12 e 17](#)), embora FGF8 esteja localizado no cromossoma humano 10q25. Se o Fgf8 for especificamente nocauteado no ectoderma do arco faríngeo de embriões de camundongos em desenvolvimento, a artéria do quarto arco cardíaco será perdida, acarretando defeitos no desenvolvimento da aorta e da artéria subclávia na ausência de malformações cardíacas. Por outro lado, a perda de expressão de Fgf8 no endoderma do terceiro e do quarto arco faríngeo gera defeitos no desenvolvimento glandular (p. ex., tireoide, paratireoide e timo; o desenvolvimento desses órgãos é discutido no [Cap. 17](#)) e na formação da valva semilunar aórtica. A sinalização notch na crista neural parece mediar a sinalização de Fgf8. A perda de sinalização notch na crista neural cardíaca não apenas perturba o desenvolvimento do trato de saída, mas também causa malformações em artérias do arco aórtico.

Nos seres humanos, mutações em TBX1 (fator de transcrição codificado na região 22q11.2 afetada) também podem causar defeitos em artérias do arco aórtico que produzem fenocópias da síndrome de deleção completa, incluindo anomalias de artérias do arco aórtico, particularmente as que envolvem a artéria do quarto arco aórtico (p. ex., arco aórtico interrompido, origem aberrante da artéria subclávia direita e origem aberrante do arco aórtico direito). Em camundongos, Tbx1 é fortemente expresso no endoderma da quarta bolsa e no mesoderma do quarto arco faríngeo. Conforme discutido no [Capítulo 12](#), a perda da expressão de Tbx1 nessa região causa a diminuição dos níveis de Fgf8 e sua inativação heterozigótica em camundongos gera o mesmo espectro de malformações observadas em seres humanos com a deleção de TBX1. Consequentemente, alterações na atividade de Tbx1 e modificações subsequentes na sinalização de Fgf8 podem ser parcialmente responsáveis pelos defeitos observados em pacientes com mutações em TBX1. A perda completa de vários genes diferentes expressos nos arcos faríngeos causa defeitos similares, mas Fgf8 e Tbx1 são os únicos genes identificados até hoje que o fazem com uma perda heterozigótica.

As endotelinas representam um grupo de peptídeos importantes para a regulação da pressão arterial nos adultos. Durante o desenvolvimento embrionário, as endotelinas e seus receptores têm uma importante função na mediação do desenvolvimento das células da crista neural. Camundongos *knockout* para o receptor de endotelina, Eta, ou para a enzima de conversão que proteoliticamente gera endotelinas ativas, a enzima conversora de endotelina 1 (Ece1), apresentam defeitos relacionados às células da crista neural no desenvolvimento cardíaco, das artérias do arco faríngeo e dos gânglios entéricos. Nos arcos faríngeos, a endotelina-1 (Et1) é expressa pelo ectoderma e pelo endoderma do arco faríngeo, mas não pelas células da crista neural; o receptor Eta só é expresso por células da crista neural nos arcos faríngeos. O *knockout* de Ece1 ou do receptor Eta em camundongos leva à formação de um arco aórtico interrompido ou à ausência da artéria subclávia direita. Esses camundongos *knockout* também apresentam alterações na expressão de outros genes importantes para o desenvolvimento dos arcos faríngeos, incluindo Dlx2, Dlx3, EphA3, MsxE e Hand2. Esses e outros estudos sugerem que, mesmo com a perda da sinalização de Eta, as células da crista neural ainda migram para os arcos faríngeos e que o padrão de desenvolvimento das artérias iniciais do arco aórtico ainda ocorre. Entretanto, parece haver um decréscimo no número de células da crista neural nos arcos faríngeos, resultando em hipoplasia e remodelação anormal de artérias do arco aórtico.

Obviamente, o desenvolvimento das artérias do arco aórtico é assimétrico. Portanto, ele provavelmente é influenciado pela expressão gênica responsável pela determinação da lateralidade. Em camundongos, Pitx2c (isoforma de Pitx2) é expresso mais prevalentemente no saco aórtico esquerdo e no segundo campo cardíaco do que no direito. Camundongos *knockout* para Pitx2c apresentam defeitos na remodelação das artérias do arco aórtico, além de malformações cardíacas que podem ser previstas por conta de uma perturbação da lateralidade do segundo campo cardíaco (discutido no [Cap. 12](#)). Aproximadamente 30% desses camundongos têm arco aórtico direito, cerca de 14% têm arcos aórticos duplos e alguns apresentam ventrículos direitos com dupla saída. Mais uma vez, a migração de células da crista neural parece normal nesses camundongos, e as artérias dos arcos faríngeos inicialmente apresentam quantidades similares de mesênquima adjacentes aos seus endotélios. Não se sabe como Pitx2c pode mediar a remodelação assimétrica das artérias do arco aórtico, mas foi sugerido que Pitx2c pode, de alguma forma, manter ou recrutar células de suporte de artérias do arco aórtico para o lado esquerdo.

A inervação do nervo craniano dos arcos faríngeos também pode influenciar o desenvolvimento das artérias do arco aórtico. Camundongos *knockout* para Tgf β 2 apresentam aumentos anormais na apoptose do mesênquima da artéria do quarto arco aórtico e desenvolvem um quarto arco aórtico interrompido e vasos subclávios direitos aberrantes. Embora a migração e diferenciação de células da crista neural em musculatura vascular lisa pareça normal nesses camundongos, os defeitos coincidem com a perda da inervação do quarto arco faríngeo.

Em resumo, o mesênquima do arco faríngeo derivado da crista neural tem uma importante função na

manutenção da integridade de certas artérias do arco aórtico em vez de na formação inicial da vasculatura do arco faríngeo. Eventos subsequentes de remodelação parecem envolver interações parácrinas complexas entre células da crista neural faríngea; endoderma, ectoderma e mesoderma do arco faríngeo; e endotélio das artérias do arco aórtico. Essas interações ainda não foram completamente compreendidas.

A aorta dorsal desenvolve ramos ventrais, laterais e posterolaterais

Artérias vitelinas originam o suprimento arterial do trato gastrointestinal

Os vasos sanguíneos que se originam na parede do saco vitelínico se diferenciam para formar as artérias e veias do **sistema vitelino**. Quando o saco vitelínico encolhe com relação ao embrião que está se dobrando, os plexos vitelinos direito e esquerdo se unem para formar diversas artérias principais que formam anastomoses com os plexos vasculares do futuro intestino e com a superfície ventral da aorta dorsal ([Fig. 13-15A](#)). Esses vasos, no final, perdem sua conexão com o saco vitelínico, tornando-se as artérias que fornecem sangue da aorta dorsal para o trato gastrointestinal.

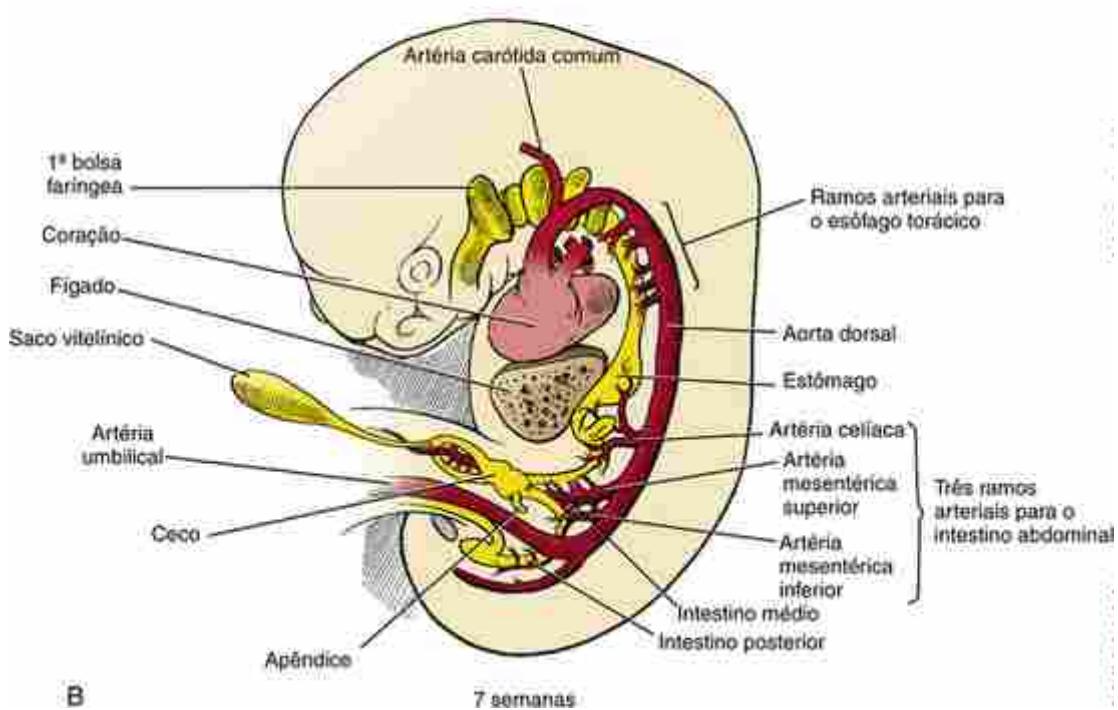
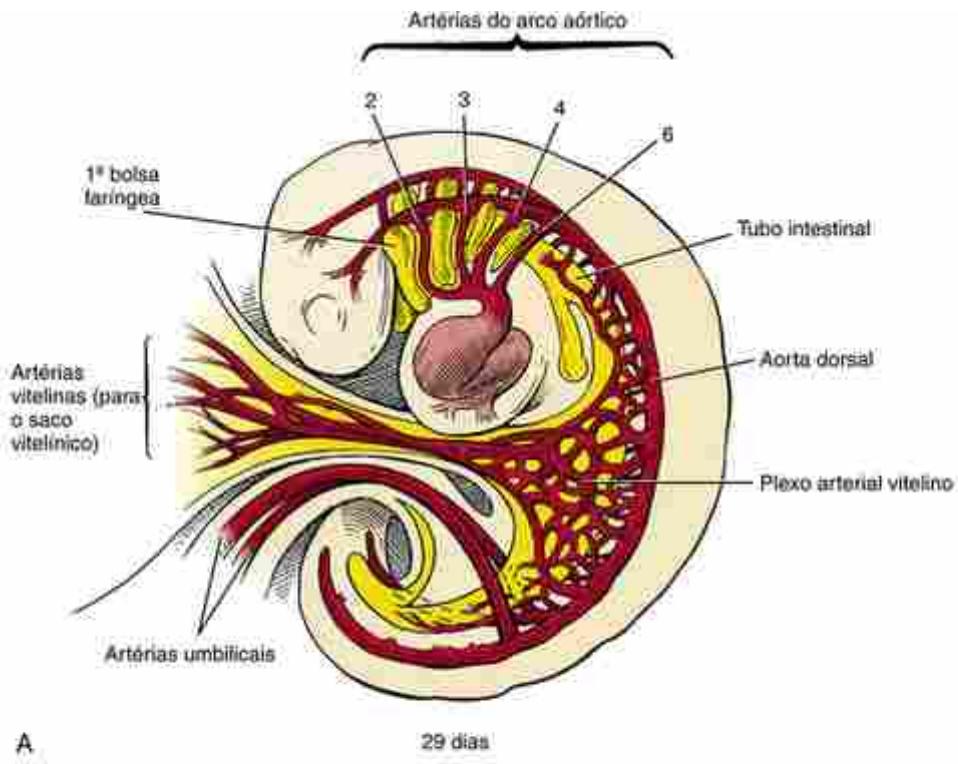


FIGURA 13-15 Desenvolvimento dos ramos aórticos ventrais que alimentam o tubo intestinal e derivados.

A, Na 4^a semana, diversas artérias vitelinas surgem das superfícies ventrais das aortas dorsais para alimentar o saco vitelínico. B, Depois que as aortas dorsais pareadas se fundem no final da 4^a semana, muitos dos canais vitelinos desaparecem, reduzindo o número final para aproximadamente cinco na região torácica e três (artéria celíaca, mesentérica superior e mesentérica inferior) na região abdominal.

Em posição cranial ao diafragma, cerca de cinco pares dessas artérias geralmente se desenvolvem e formam anastomoses com a aorta dorsal em níveis variáveis para alimentar o esôfago torácico. Em posição caudal ao diafragma, três pares de grandes artérias se desenvolvem para alimentar regiões específicas do intestino abdominal em desenvolvimento (Fig. 13-15B). Os campos de vascularização dessas três artérias constituem a base para a divisão do trato gastrointestinal abdominal em três regiões embriológicas: **intestino abdominal anterior**, **intestino médio** e **intestino posterior**.

A mais superior dessas três artérias abdominais, a **artéria celíaca**, inicialmente se junta à aorta dorsal no

sétimo nível cervical. Essa conexão, subsequentemente, desce para o 12º nível torácico. Nesse local, a artéria celíaca desenvolve ramos que vascularizam não apenas a parte abdominal do intestino anterior, desde o esôfago abdominal até o segmento descendente do duodeno, mas também as diversas protuberâncias do intestino anterior, o fígado, o pâncreas e a vesícula biliar. A artéria celíaca também produz um grande ramo que vasculariza o baço, que se desenvolve no mesoderma do mesogástrico dorsal (discutido no [Cap. 14](#); o mesogástrico dorsal é a porção do mesentério dorsal que suspende o estômago).

A segunda artéria vitelina abdominal, a **artéria mesentérica superior**, inicialmente se junta à aorta dorsal no segundo nível torácico; essa conexão, posteriormente, migra para o primeiro nível lombar. Essa artéria alimenta o intestino médio em desenvolvimento — o intestino que abrange o segmento descendente do duodeno até a região do cólon transverso próximo à flexura cólica esquerda.

A terceira e final artéria vitelina abdominal, a **artéria mesentérica inferior**, inicialmente se junta à aorta dorsal no 12º nível torácico e, posteriormente, desce para o terceiro nível lombar. Ela supre o intestino posterior: a porção distal do cólon transverso, o cólon descendente e o sigmoide e o reto superior. Segundo mostrado no [Capítulo 14](#), a extremidade inferior do canal anorrectal é vascularizado por ramificações das artérias ilíacas.

Brotamentos laterais da aorta vascularizam as glândulas adrenais, gônadas e rins

As glândulas suprarrenais (adrenais), as gônadas e os rins são vascularizados por ramos laterais da aorta descendente. Todavia, conforme ilustrado na [Figura 13-16](#), esses três órgãos e suas artérias têm históricos de desenvolvimento diferentes. As glândulas adrenais se formam na parede corporal posterior entre o 6º e o 12º segmento torácico e se tornam vascularizadas principalmente por um par de ramos aórticos que surgem em um nível lombar superior. As glândulas adrenais também adquirem ramos da artéria renal e da artéria frênica inferior, mas as **artérias suprarrenais** que se desenvolvem desses ramos aórticos constituem a principal alimentação para as glândulas. Essas glândulas e seus ramos aórticos se desenvolvem no lugar. As futuras gônadas se tornam vascularizadas pelas **artérias gonadais** que surgem inicialmente no décimo nível torácico. As gônadas desem desempenham durante o desenvolvimento, mas a origem das artérias gonadais fica fixa no 3º ou 4º nível lombar. Quando as gônadas (principalmente os testículos) desem desempenham mais ainda, as artérias gonadais se alongam. Por outro lado, os rins definitivos surgem na região sacral e migram para cima para a região lombar logo abaixo das glândulas adrenais. À medida que eles migram, são vascularizados por uma sucessão de ramos aórticos transitórios que aparecem em níveis progressivamente mais elevados. Essas artérias não se alongam para seguir os rins em ascensão; em vez disso, elas sofrem degeneração e são substituídas. O par final de artérias nessa série se forma na região lombar superior, tornando-se as **artérias renais** definitivas. Ocionalmente, um par mais inferior de artérias renais persiste como artérias renais acessórias. O deslocamento das glândulas adrenais, gônadas e rins à medida que eles se desenvolvem é discutido mais profundamente nos [Capítulos 15 e 16](#).

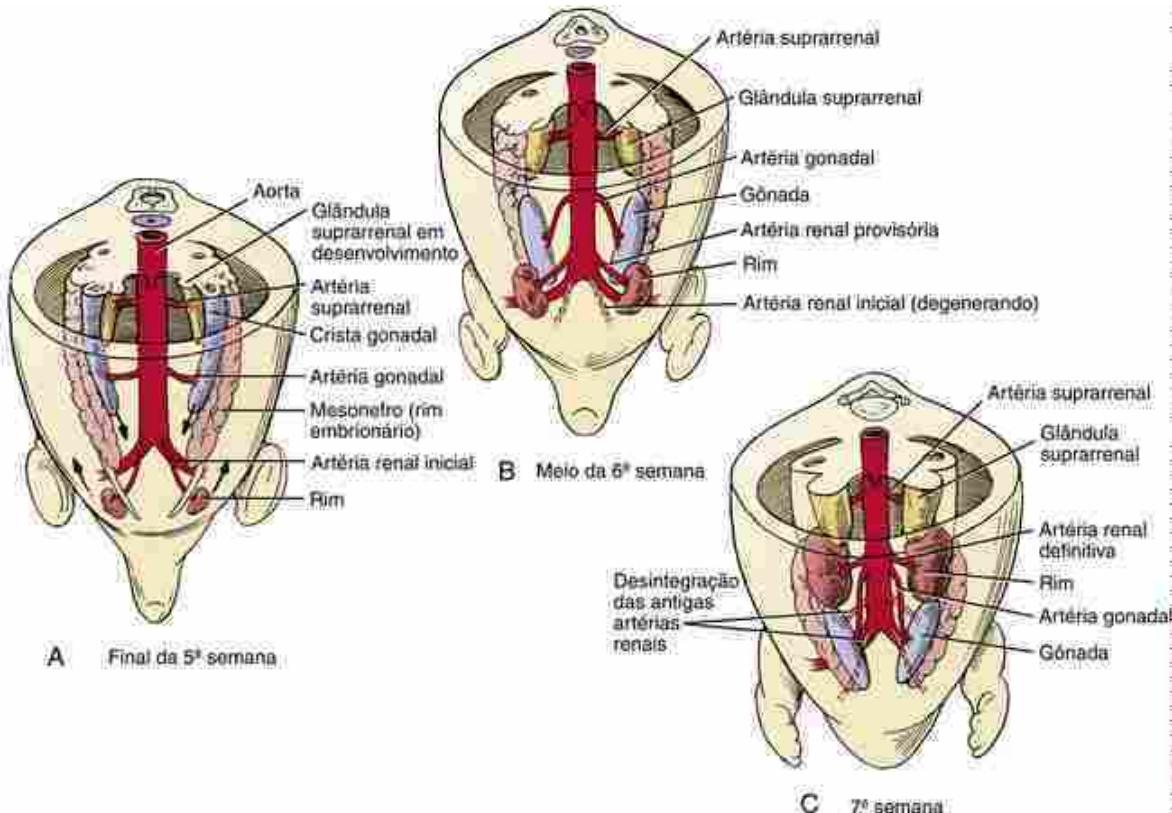


FIGURA 13-16 Desenvolvimento dos ramos laterais da aorta abdominal. **A.** Brotamentos laterais da aorta vascularizam as glândulas suprarrenais, gônadas e rins. Durante a 6^a semana, as gônadas começam a descer, enquanto os rins sobem (setas). **B, C.** A artéria gonadal se alonga durante a migração da gônada, mas o rim em ascensão é vascularizado por uma sucessão de novos brotamentos adôrticos mais craniais. As artérias suprarrenais permanecem no lugar.

Ramos intersegmentares surgem do mesoderma paraxial e se juntam à aorta dorsal

No final da 3^a semana, pequenos ramos posterolaterais surgem por vasculogênese entre os somitos em desenvolvimento, desde o nível cervical até o sacral e se conectam à aorta dorsal (Fig. 13-13). Nas regiões **cervical**, **torácica** e **lombar**, um ramo dorsal de cada um desses vasos intersegmentares vasculariza o tubo neural em desenvolvimento e os epímeros que formarão os músculos profundos do pescoço e das costas (Fig. 13-17A; epímeros e hipômeros são discutidos no Cap. 8). Ramos cutâneos dessas artérias também alimentam a pele dorsal. O ramo ventral de cada vaso intersegmentar alimenta os músculos hipoméricos em desenvolvimento e a pele associada. Na região **torácica**, esses ramos ventrais se tornam as **artérias intercostais** e seus ramos cutâneos. Nas regiões lombar e sacral, elas se transformam nas artérias **lombar** e **sacrais laterais**. A curta continuação da aorta dorsal além dessa bifurcação para as artérias ilíacas comuns é denominada **artéria sacral mediana**.

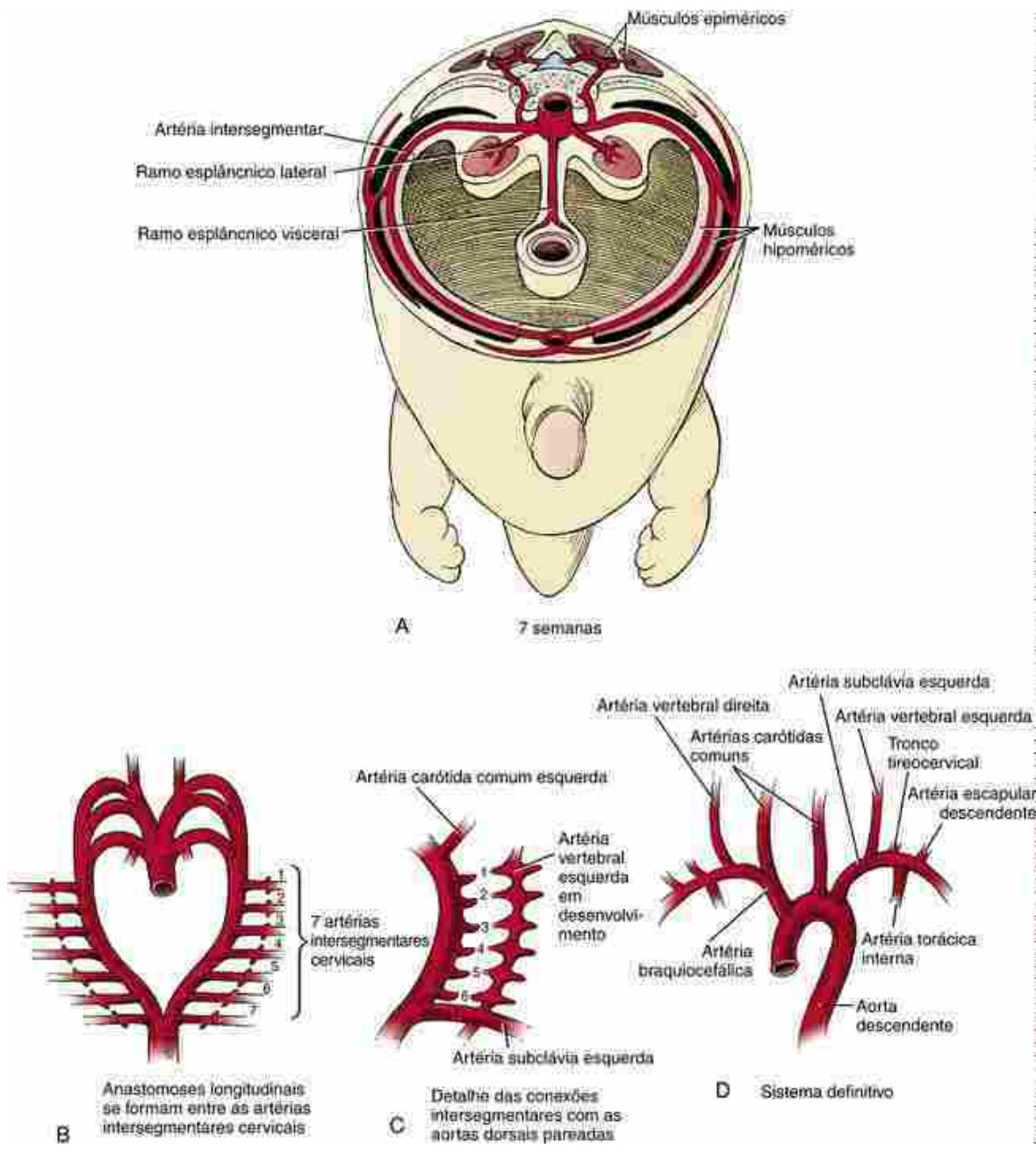


FIGURA 13-17 Desenvolvimento do suprimento arterial para a parede corporal. **A.** Sistema de artérias segmentares na região do tronco. Ramos das artérias intersegmentares pareadas alimentam a parede e a musculatura corporal posterior, lateral e anterior, a coluna vertebral e a medula espinhal. **B-D.** A artéria vertebral é formada por anastomoses longitudinais da 1^a à 7^a artéria intersegmentar.

Na região cervical, os ramos intersegmentares formam anastomoses uns com os outros para formar um padrão mais complexo de vascularização (Fig. 13-17B-D). As **artérias vertebrais** pareadas se originam de ramos longitudinais que se juntam para formar um vaso longitudinal e, secundariamente, perdem suas conexões intersegmentares para a aorta. As **artérias cervicais profundas, cervicais ascendentes, intercostais superiores, torácicas internas** e as **artérias epigástricas superior e inferior** também se originam de anastomoses das artérias intersegmentares.

As artérias umbilicais inicialmente se unem às aortas dorsais, mas deslocam sua origem para as artérias ilíacas internas

As **artérias umbilicais** direita e esquerda se desenvolvem no pedúculo de conexão no início da 4^a semana, estando, portanto, entre as primeiras artérias embrionárias a surgir. Essas artérias formam uma conexão inicial com as artérias dorsais pareadas na região sacra (Fig. 13-15A). Entretanto, durante a 5^a semana, essas conexões são obliteradas quando as artérias umbilicais desenvolvem uma nova conexão com o quinto par de ramos da artéria intersegmentar lombar denominadas **artérias ilíacas internas**. As artérias ilíacas internas vascularizam os órgãos pélvicos e (inicialmente) os

brotos dos membros inferiores. Segundo será discutido posteriormente, as quintas artérias intersegmentares lombares também originam as **artérias ilíacas externas**. Em posição proximal a esses ramos, a raiz da quinta artéria intersegmentar é denominada **artéria ilíaca comum** (Fig. 13-18).

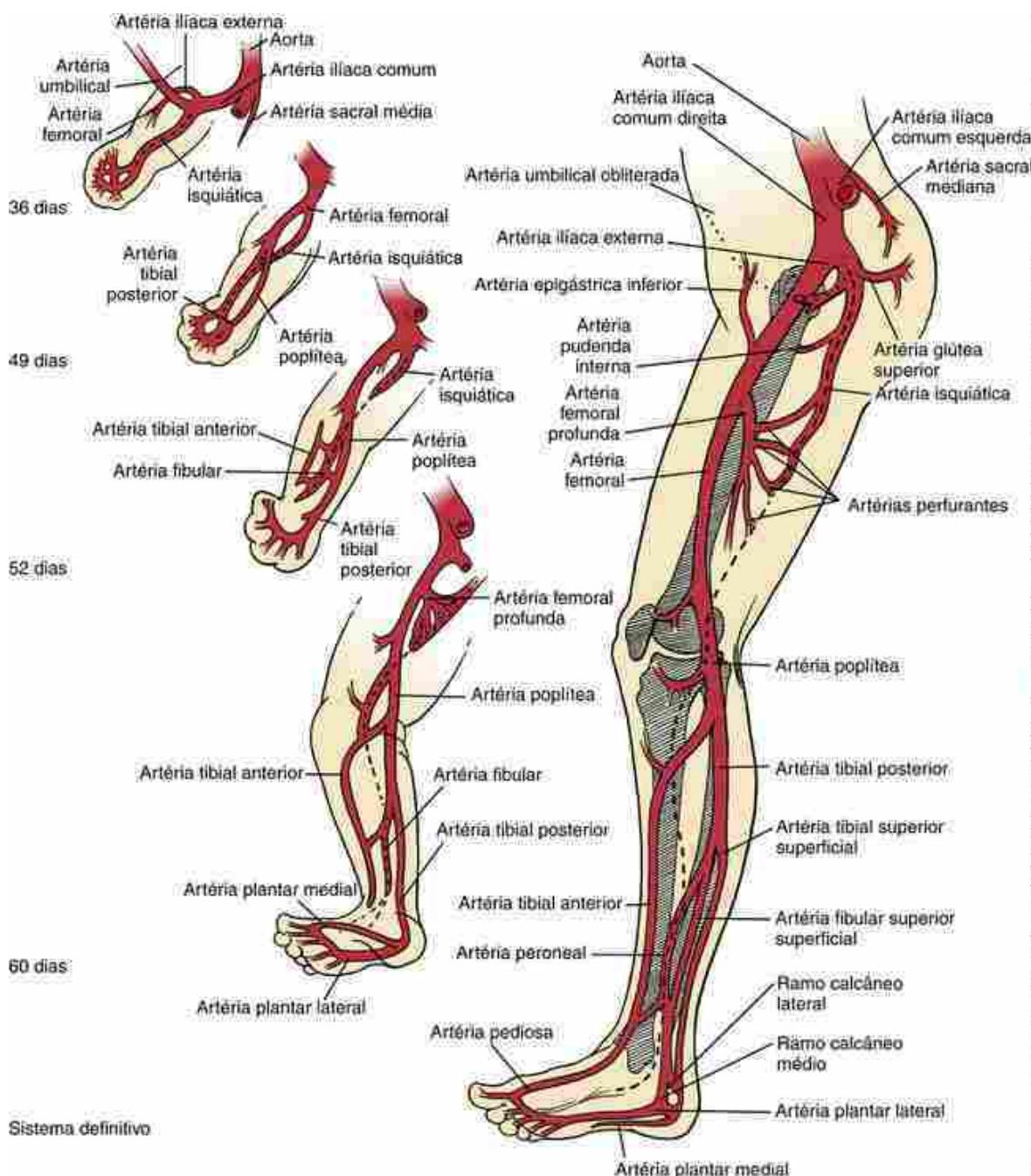


FIGURA 13-18 Desenvolvimento do sistema arterial dos membros inferiores. A quinta artéria intersegmentar lumbar se junta à artéria axial que se forma no membro inferior. Os únicos remanescentes da artéria axial no membro inferior do adulto são a artéria isquiática, uma pequena porção da artéria poplitea e a artéria peroneal.

As artérias dos membros são formadas pela remodelação de ramos arteriais intersegmentares

Como indicado anteriormente, as artérias dos membros superiores e inferiores em desenvolvimento são derivadas, principalmente, da sétima artéria intersegmentar cervical e da quinta artéria intersegmentar lumbar, respectivamente. Essas artérias inicialmente alimentam o broto de cada membro unindo uma **artéria de eixo** ou **axial** que se desenvolve ao longo do eixo central do broto do membro (Figs. 13-18 e 13-19). No membro superior, a artéria axial se desenvolve

na **artéria braquial** da parte superior do braço e na **artéria interóssea anterior** do antebraço, continuando a ser a principal fonte de sangue para o membro (Fig. 13-19). Na mão, uma pequena porção da artéria axial persiste como **arco palmar profundo**. As outras artérias do membro superior, incluindo as **artérias radial, mediana e ulnar**, se desenvolvem, em parte, como brotamentos da artéria axial.

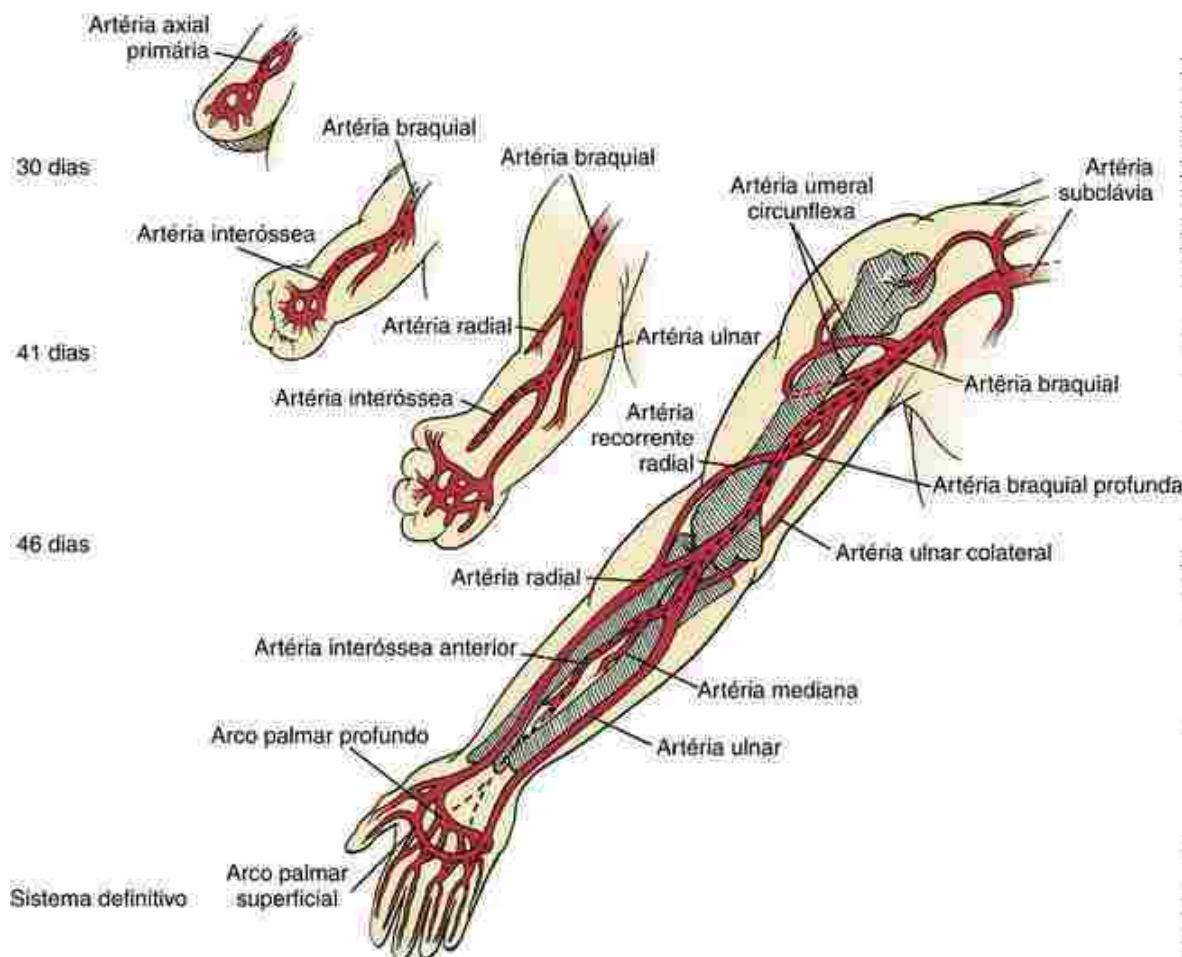


FIGURA 13-19 Desenvolvimento do sistema arterial do membro superior. As séptimas artérias intersegmentares cervicais crescem para o interior dos brotos dos membros para se unir às artérias axiais dos membros superiores em desenvolvimento. A artéria axial origina as artérias subclávia, axilar, braquial e interóssea anterior e o arco palmar profundo. Outras artérias dos membros superiores se desenvolvem como brotamentos da artéria axial.

Por outro lado, no membro inferior, a artéria axial, que se origina como a continuação distal da artéria ilíaca interna, se degenera quase completamente, e o suprimento definitivo é realizado quase por completo pela **artéria ilíaca externa**, que, conforme mencionado anteriormente, surge como um novo ramo da quinta artéria intersegmentar lombar (Fig. 13-18). A artéria axial permanece como três remanescentes: a pequena **artéria ciática (isquiática)**, que alimenta o nervo ciático na parte posterior da coxa; um segmento da **artéria poplítea**; e uma seção da **artéria fibular (peroneal)** na perna. Praticamente todas as outras artérias dos membros inferiores se desenvolvem como brotamentos da artéria ilíaca externa.

Na Clínica

Anomalias vasculares surgindo de erros na remodelação de grandes vasos

O sistema vascular bilateralmente simétrico do embrião precoce sofre uma complicada sequência de regressões, remodelações e anastomoses para produzir o padrão adulto de grandes veias e artérias. A regressão afeta principalmente o lado esquerdo do sistema venoso (a ser discutido posteriormente neste capítulo; consulte também o Cap. 12) e, reciprocamente, o lado direito das artérias do arco aórtico. Como resultado, o retorno do sistema venoso é canalizado para o átrio direito, enquanto a artéria esquerda do quarto arco aórtico original se torna o arco

da aorta definitiva. Podem surgir malformações vasculares congênitas em vários estágios durante esse processo. Malformações vasculares podem resultar da falha de algum elemento primitivo em se submeter à regressão ou, em alternativa, da regressão inadequada de algum elemento.

Formação de “anéis vasculares” que estreitam o esôfago e a traqueia

As artérias do arco aórtico e a aorta dorsal inicialmente formam uma cesta vascular que circunda por completo o intestino faríngeo (Figs. 13-13, 13-14 e 13-15A). No desenvolvimento normal, a regressão da aorta dorsal direita abre essa cesta do lado direito, de forma que o esôfago não é envolvido por derivados de artérias do arco aórtico. Entretanto, ocasionalmente, a aorta dorsal direita persiste e mantém sua conexão com a aorta dorsal, resultando em um **arco aórtico duplo** que forma um **anel vascular** que envolve a traqueia e o esôfago (Fig. 13-20). Esse anel pode estreitar a traqueia e o esôfago, interferindo com a respiração e a deglutição.

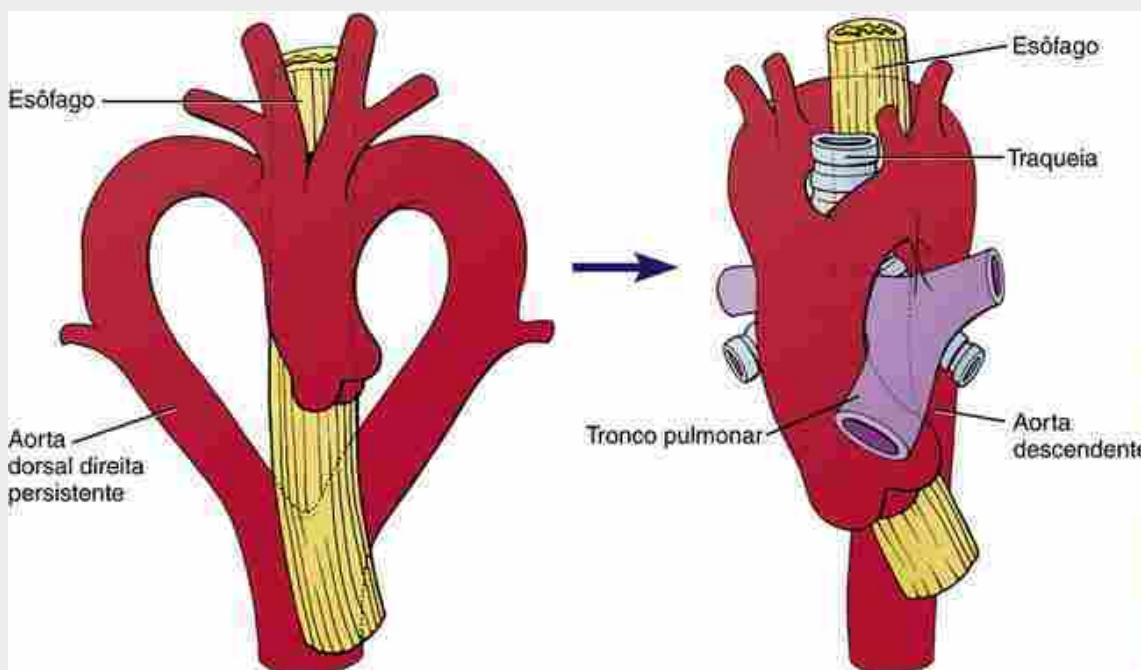


FIGURA 13-20 Um arco aórtico duplo resulta de falha na regressão da aorta dorsal direita na região do coração. Tanto o esôfago quanto a traqueia são envolvidos pelo duplo arco resultante.

Outra malformação que pode causar dificuldades na deglutição (**disfagia**) e, possivelmente, **dispneia** (dificuldade de respirar) resulta do desaparecimento anormal da artéria do quarto arco aórtico. Se o quarto arco aórtico direito regredir, a sétima artéria intersegmentar (futura artéria subclávia direita), que normalmente se conecta à artéria do quarto arco aórtico direito, em vez disso, formará uma conexão com a aorta descendente (Fig. 13-21). Portanto, a sétima artéria intersegmentar cruza a linha média, geralmente posterior ao esôfago, formando uma **artéria subclávia direita aberrante** (observada em quase 1% da população geral e em quase 40% dos pacientes com **síndrome de Down** que apresentam malformações cardíacas congênitas). Depois da maturação das grandes artérias, o esôfago pode ser pinçado entre o arco da aorta e a artéria subclávia direita anormal. Em geral, é um quadro assintomático. Entretanto, em alguns indivíduos, a artéria subclávia direita aberrante comprime o esôfago, causando disfagia, e o esôfago, reciprocamente, pode comprimir a artéria subclávia direita, reduzindo a pressão arterial no membro superior direito.

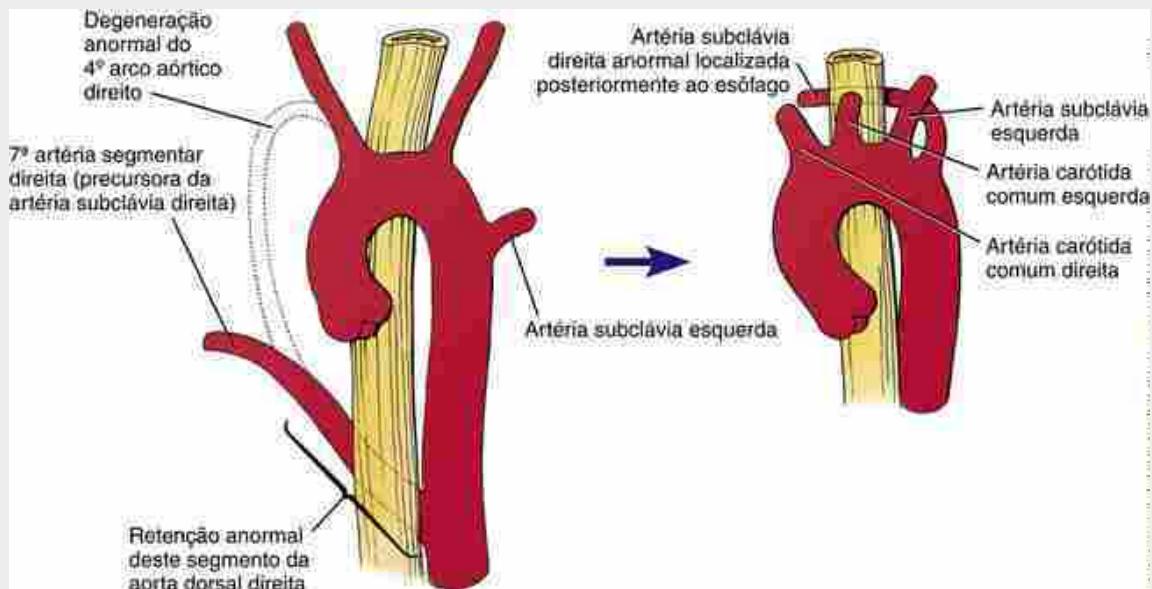


FIGURA 13-21 Formação de uma artéria subclávia direita anômala. A retenção da aorta dorsal direita no nível da sétima artéria intersegmentar associada à regressão anormal da artéria do quarto arco aórtico pode gerar uma artéria subclávia direita anômala que passe posteriormente ao esôfago.

Outro defeito comum das artérias do arco aórtico é um **arco aórtico do lado direito**. Nessa anomalia, o segmento da aorta dorsal direita entre a futura artéria subclávia direita e a futura aorta torácica (ou seja, o oitavo segmento aórtico dorsal direito) é mantido, enquanto o quarto arco aórtico esquerdo é perdido (Fig. 13-22A). Essa anormalidade é observada em 13% a 35% dos pacientes com tetralogia de Fallot e em cerca de 8% dos pacientes com transposição dos grandes vasos. Em casos de arco aórtico do lado direito, o ducto arterioso (ligamento arterioso depois do seu fechamento pós-natal) se alonga na direção do lado direito na frente ou atrás do esôfago e da traqueia. Se ele passar por trás do esôfago, poderá causar o estreitamento do esôfago e da traqueia, causando disfagia e/ou dispneia.

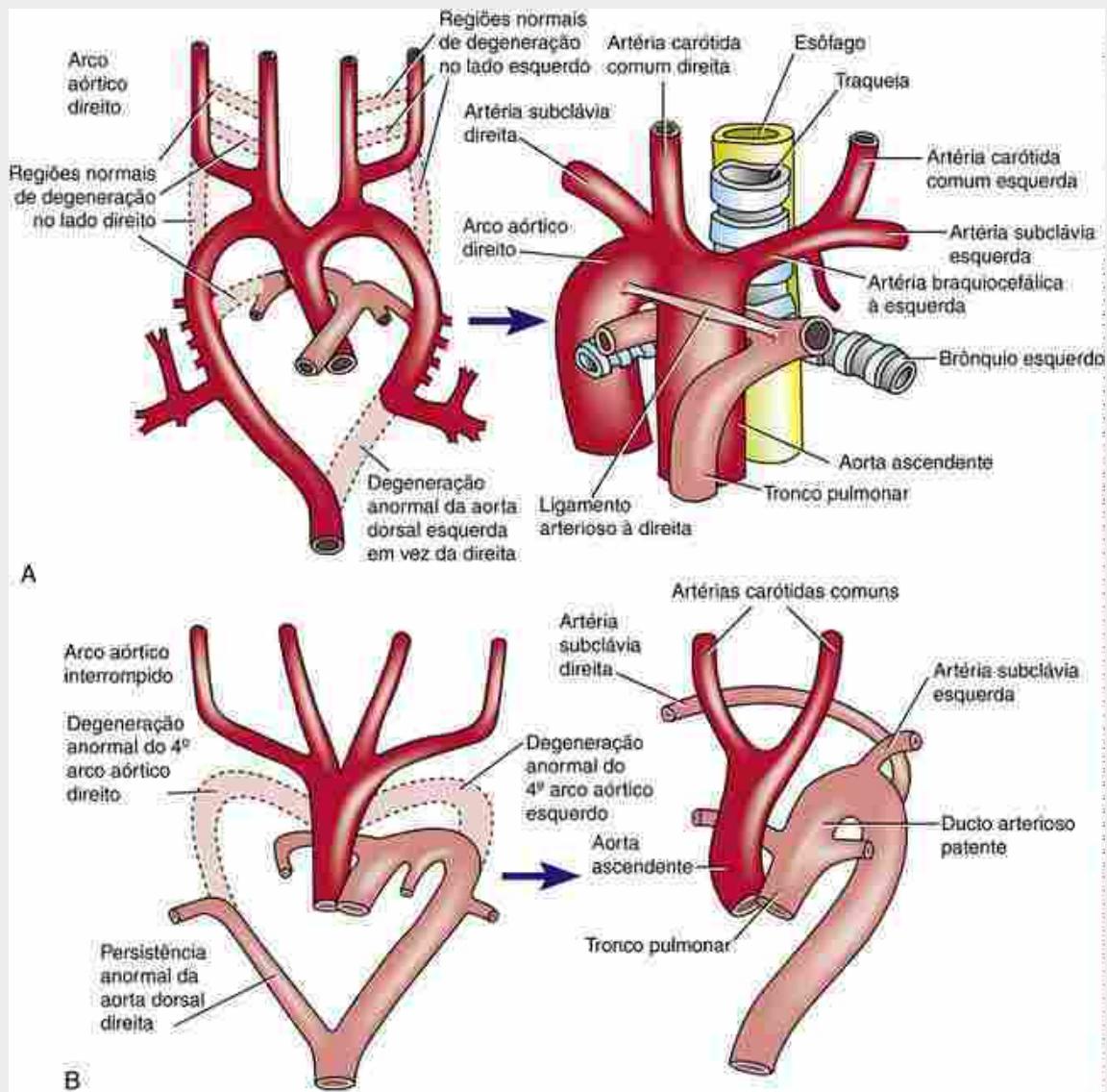


FIGURA 13-22 A, Arco aórtico direito. A aorta dorsal esquerda abaixo da origem da artéria subclávia esquerda está obliterada, ao passo que a contraparte do lado direito é mantida. Podem ocorrer sintomas dependendo da posição em que o ligamento arterioso passar, ventral ou dorsal ao esôfago e à traqueia. B, Arco aórtico interrompido. As artérias esquerda e direita do quarto arco aórtico sofrem degeneração, mas a aorta dorsal distal direita é mantida. Depois do nascimento, a aorta ascendente alimenta a cabeça, os membros superiores e o corpo, mas a parte inferior do corpo e os membros inferiores são alimentados pelo tronco pulmonar (sangue insuficientemente oxigenado) por meio de um ducto arterioso patente.

O **arco aórtico interrompido** é gerado quando as artérias esquerda e direita do quarto arco aórtico são obliteradas, enquanto a aorta dorsal distal direita é mantida (Fig. 13-22B). Depois do nascimento, a aorta alimenta a cabeça, os membros superiores e o corpo, mas a parte inferior do corpo e os membros inferiores são alimentados pelo tronco pulmonar (sangue insuficientemente oxigenado) por meio de um **ducto arterioso patente**.

Coarctação da aorta

Coarctação da aorta é uma malformação congênita em que um espessamento anormal da parede aórtica causa um estreitamento severo da aorta na região do ducto arterioso. Essa malformação ocorre aproximadamente em 0,3% de todos os bebês nascidos vivos. Ela é mais comum no sexo masculino do que no feminino e é a anomalia cardiovascular mais comum na **síndrome de Turner**. A patogênese da coarctação da aorta ainda não foi entendida, embora a malformação possa ser disparada por fatores genéticos ou teratógenos. Foram propostas duas ideias para explicar a coarctação: (1) migração anormal de células para a parede aórtica próximo do ducto arterioso e (2) hemodinâmica anormal, resultando no crescimento anormal da artéria esquerda do quarto arco aórtico.

A coarctação aórtica ocorre mais comumente em uma posição justaductal (ou seja, adjacente ao ducto arterioso), mas também pode ocorrer mais proximalmente (pré-ductal, ou acima) ou distalmente (pós-ductal, ou abaixo) (Fig. 13-23A, B). A **coarctação pós-ductal** pode ser assintomática em neonatos se for estabelecida uma circulação

colateral proveniente das artérias subclávias, torácica interna, cervical transversa, supraescapular, epigástrica superior, intercostal e lombares durante os períodos embrionário e fetal (Fig. 13-23C, D). Entretanto, com a **coarctação pré-ductal**, a circulação colateral não se desenvolve porque sangue suficientemente enriquecido com oxigênio e nutrientes, vindo da placenta, atinge a porção inferior do corpo através do **ducto arterioso**. Esses bebês normalmente desenvolvem problemas depois do nascimento quando o canal arterial se fecha. Isso causa **cianose diferencial**, em que a parte superior do corpo e a cabeça têm boa perfusão, mas a parte inferior do corpo é cianótica. Os efeitos clínicos da coarctação são variáveis e dependem do grau do estreitamento. Tipicamente, a coarctação requer de reparo cirúrgico no período neonatal.

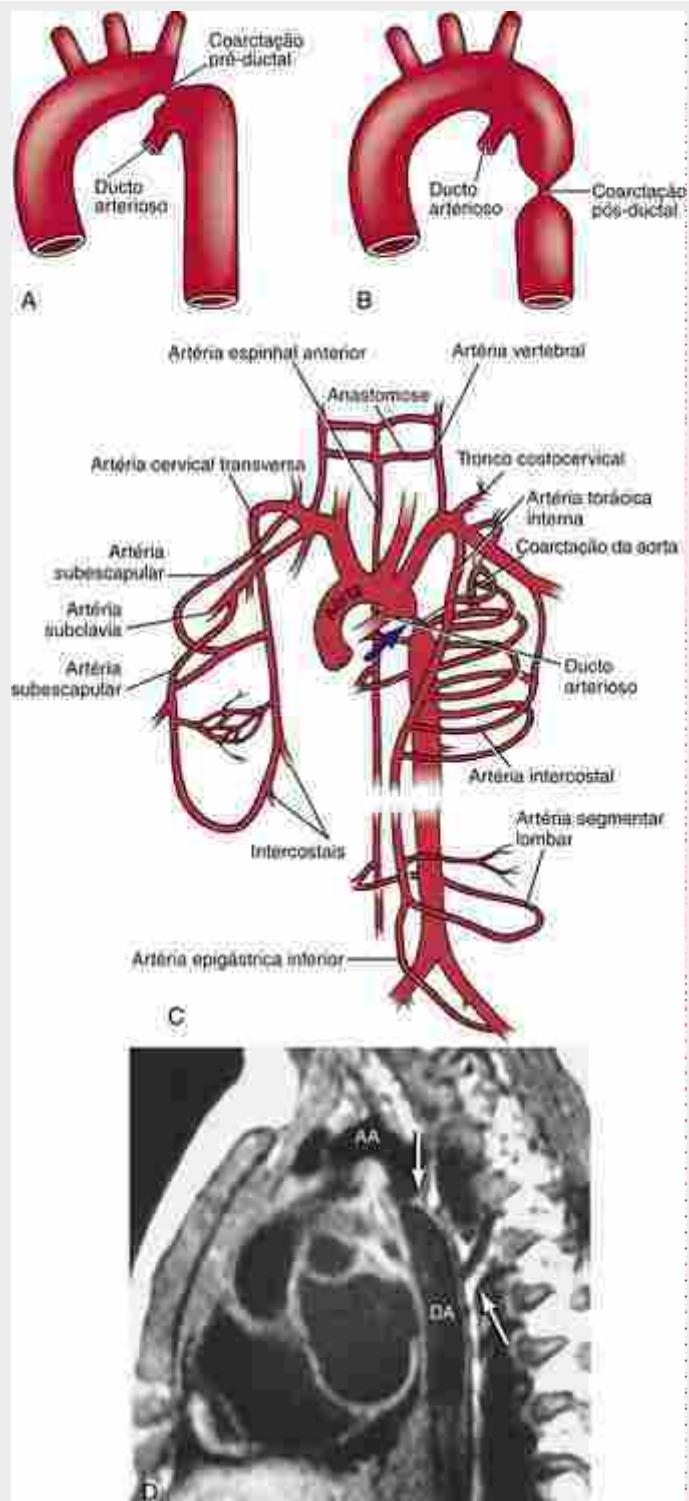


FIGURA 13-23 Coarctação da aorta. *A, B*, Coarctação pré-ductal e pós-ductal da aorta. *C*, Desenvolvimento de circulação colateral na coarctação pós-ductal da aorta. A constrição aórtica (seta) bloqueia parcial ou totalmente o fluxo sanguíneo na aorta descendente. O tronco e os membros inferiores recebem sangue através de vasos colaterais aumentados que se desenvolvem em resposta ao bloqueio. A circulação colateral estabelecida antes do nascimento pode usar artérias torácicas internas ou o tronco tireocervical para fornecer sangue à aorta descendente pelas artérias segmentares do tronco. *D*, Imagem de ressonância magnética em incidência lateral mostrando o local da coarctação pós-ductal (seta superior) e um grande vaso colateral penetrando na aorta descendente (seta inferior). AA, arco da aorta; AD, artéria descendente.

Conforme mencionado nos [Capítulos 3, 5, 12 e 14](#), pacientes com **síndrome de Alagille** apresentam uma aparência facial característica, escassez de ductos biliares, malformações cardíacas e vertebrais e estenose arterial (geralmente estenose do tronco/artéria pulmonar, às vezes incluindo coarctação da aorta abdominal). Foram identificadas mutações em JAGGED1 e NOTCH2 na maioria desses pacientes. Hey2 (ou Herp) é um fator de

transcrição *basic HLH* importante para a mediação da sinalização notch. Em peixe-zebra, mutantes do homólogo de Hey2, *gridlock*, apresentam defeitos na aorta semelhantes à coarctação em seres humanos. Entretanto, em camundongos *knockout* para Hey2 não desenvolvem coarctação da aorta. Em vez disso, eles desenvolvem outras anomalias cardíacas (como defeitos do septo ventricular). Aproximadamente 10% dos pacientes com **síndrome de Noonan** (também discutida no [Cap. 12](#)) apresentam coarctação da aorta, uma síndrome vinculada a mutações no PTPN11 (gene que codifica uma TIROSINA FOSFATASE não receptora envolvida na transdução de sinal intracelular; abordada no [Cap. 12](#)). Entretanto, em um estudo com 157 pessoas com coarctação da aorta (que excluiu pacientes com síndrome de Noonan), a mutação de PTPN11 foi encontrada em apenas um paciente, sugerindo que mutações em PTPN11 não constituem a principal causa de coarctação isolada.

O sistema venoso embrionário primitivo é dividido em sistemas vitelino, umbilical e cardinal

O embrião apresenta três sistemas venosos principais que executam diferentes funções. O **sistema vitelino** drena o trato gastrointestinal e os derivados do intestino; o **sistema umbilical** leva sangue oxigenado da placenta; e o **sistema cardinal** drena a cabeça, o pescoço e a parede corporal. Todos os três sistemas são inicialmente simétricos bilateralmente e convergem para os cornos direito e esquerdo do seio venoso ([Figs. 13-24A](#) e [13-25](#); também a [Fig. 12-17](#)). Entretanto, o deslocamento do retorno sistêmico venoso para o átrio direito (abordado no [Cap. 12](#)) inicia uma remodelação radical que reformata esses sistemas para gerar os padrões adultos.

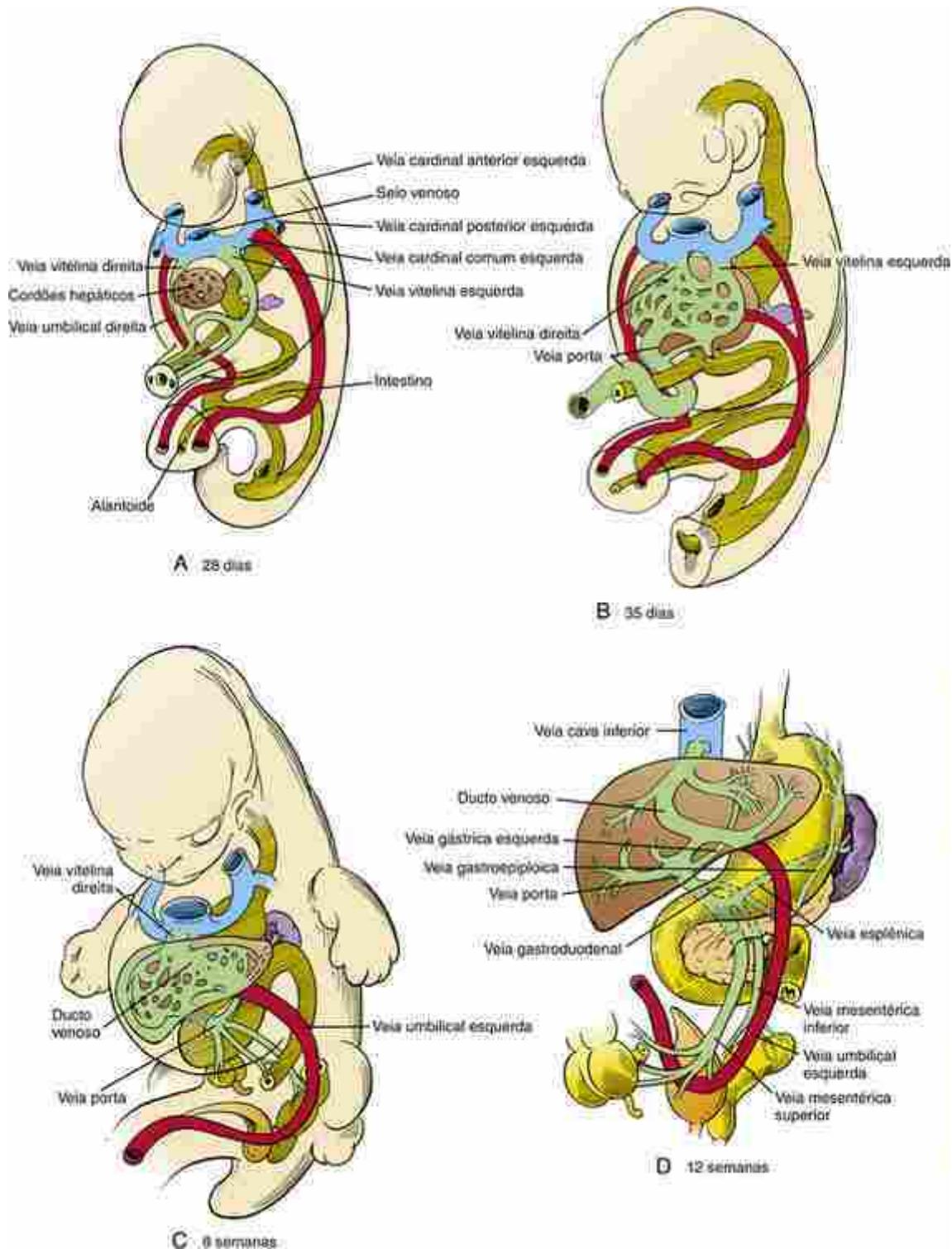
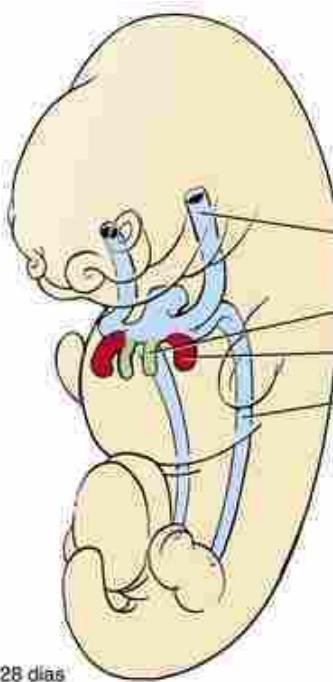
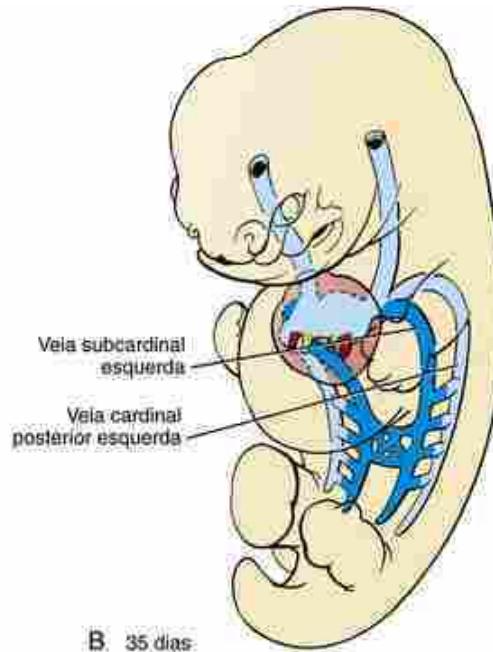


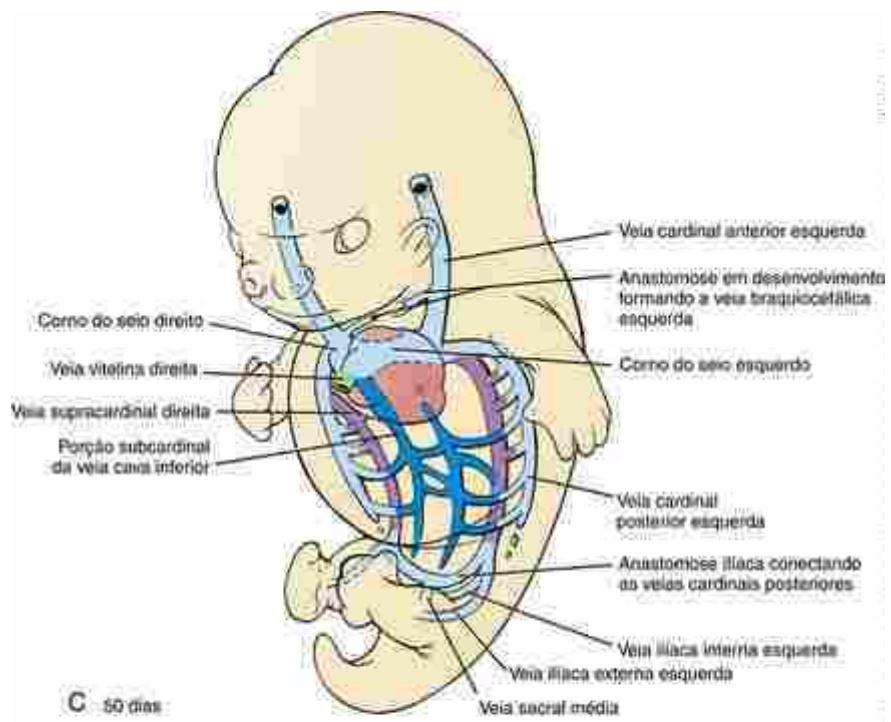
FIGURA 13-24 Destino das veias vitelinas e umbilicais. A-D, As veias vitelinas direita e esquerda formam um sistema portal que drena sangue do intestino abdominal anterior, do intestino médio e da parte superior do canal anorrectal. A veia umbilical direita desaparece, mas a veia umbilical esquerda forma uma anastomose com o ducto venoso no fígado, enviando sangue placentário oxigenado para a veia cava inferior e para o lado direito do coração.



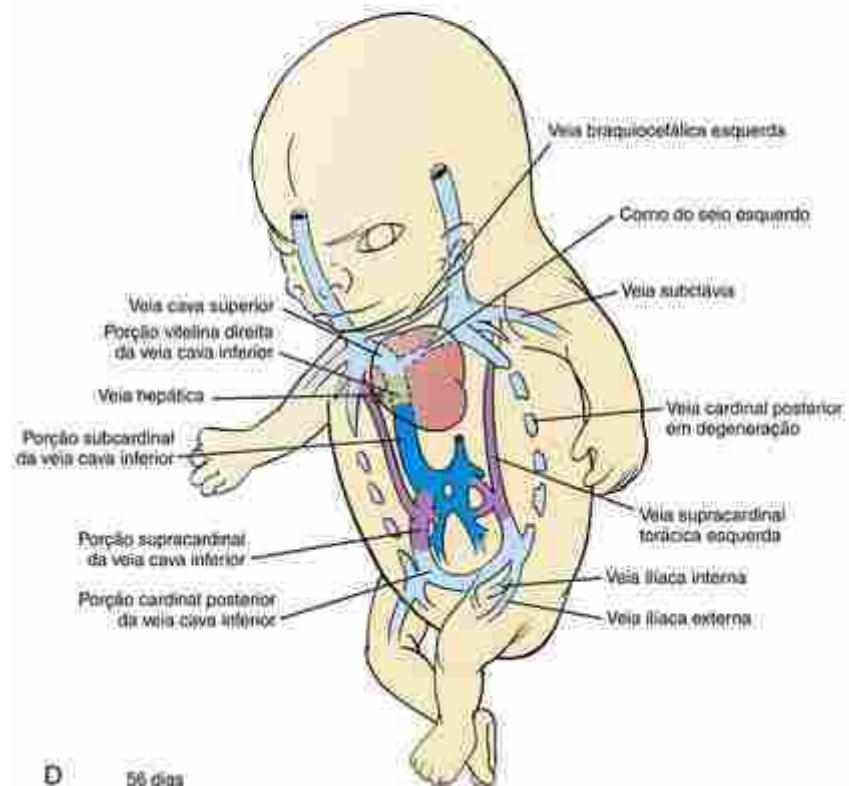
A: 28 días



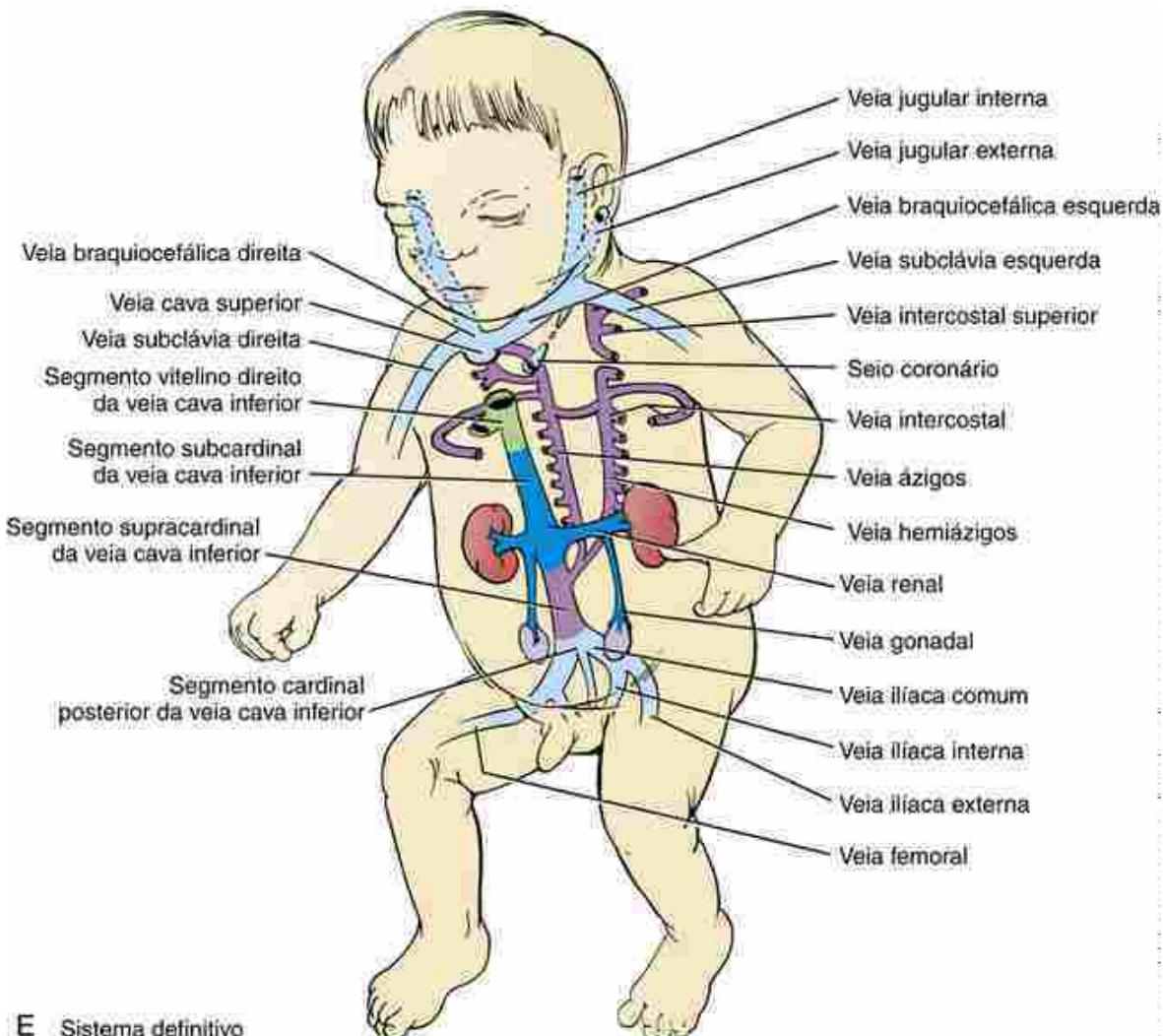
B: 35 días



C 50 dias



D 56 dias



E Sistema definitivo

FIGURA 13-25 Desenvolvimento do sistema venoso sistêmico a partir dos quatro sistemas de veias cardinais bilateralmente simétricos. A-E. Esses sistemas são remodelados para drenar sangue de ambos os lados da cabeça, pescoço e corpo para o átrio direito. A cabeça e o pescoço são inicialmente drenados por um sistema cardinal anterior e o tronco é drenado por um sistema cardinal posterior. Os vasos cardinais posteriores são substituídos por um conjunto de veias cardinais e por um conjunto de veias supracardinais.

O sistema vitelínico origina os sinusoides hepáticos, o sistema portal e uma parte da veia cava inferior

Assim como as artérias vitelinas, as veias vitelinas se originam dos plexos capilares da parede do saco vitelínico e formam parte da vasculatura do intestino em desenvolvimento e de seus derivados. Inicialmente, o sistema vitelino drena para os cornos dos seios do coração por um par de **veias vitelinas** simétricas (Fig. 13-24A). Os plexos vitelinos direito e esquerdo também se desenvolvem no septo transverso e se conectam às veias vitelinas. Os vasos desses plexos são cercados pelos cordões hepáticos em desenvolvimento e originam os **sinusoides hepáticos**, uma densa rede de espaços venosos em anastomose (Fig. 13-24A, B). À medida que o corno do seio esquerdo regrediu para formar o seio coronário, a veia vitelina esquerda também diminui. Até o 3º mês, a veia vitelina esquerda terá desaparecido por completo na região do seio venoso. O sangue do lado esquerdo das vísceras abdominais agora drena através da veia vitelina direita por meio de uma série de anastomoses transversas que se formaram na substância do fígado e em torno da porção abdominal do intestino anterior (Fig. 13-24C).

Depois que a veia vitelina esquerda perde sua conexão com o coração, o sangue de todo o sistema vitelino drena para o coração pela veia vitelina direita agora aumentada (Fig. 13-24C). A porção cranial dessa veia (a porção entre o fígado e o coração) torna-se a **porção terminal da veia cava inferior** (Fig. 13-24C; também 13-25D, E). Enquanto isso, um único canal oblíquo entre as anastomoses hepáticas se torna dominante e drena diretamente para a veia cava inferior nascente. Conforme descrito a seguir, esse canal, o **ducto venoso**, é essencial durante a vida fetal, pois recebe sangue oxigenado do sistema umbilical e o envia diretamente para a veia vitelina direita e, assim, para o átrio direito.

As veias vitelinas caudais ao fígado regridem durante o 2º e o 3º meses, com exceção da porção da veia vitelina direita caudal ao fígado em desenvolvimento e de algumas anastomoses vitelinas esquerda-direita proximais (Fig. 13-24B, C). Essas veias se tornam os principais canais do **sistema portal**, que drenam sangue do trato gastrointestinal para os sinusoides hepáticos. O segmento da veia vitelina direita caudal ao fígado torna-se a **veia porta** e a **veia mesentérica superior** (Fig. 13-24C, D). Os ramos remanescentes colhem sangue do intestino abdominal anterior (incluindo esôfago abdominal, estômago, vesícula biliar, duodeno e pâncreas) e do intestino médio. Anastomoses vitelinas esquerdas-direitas proeminentes são remodeladas para fornecer sangue para a extremidade distal da veia porta através de duas veias: a **veia esplênica**, que drena o baço, parte do estômago e o omento maior (discutido no Cap. 14), e a **veia mesentérica inferior**, que drena o intestino posterior.

A veia umbilical direita desaparece e a veia umbilical esquerda forma uma anastomose com o ducto venoso

Ao contrário das veias vitelinas, em que a esquerda regredie e a direita permanece, durante o 2º mês a veia umbilical direita fica totalmente obliterada e a veia umbilical esquerda permanece (Fig. 13-24). Simultaneamente, com a formação do fígado e a remodelação dos vasos nessa área, a veia umbilical esquerda perde sua conexão com o corno do seio esquerdo e forma uma nova anastomose com o ducto venoso. Sangue oxigenado da placenta, consequentemente, chega ao coração por meio da única veia umbilical e do ducto venoso. Conforme será abordado no final do capítulo, o ducto venoso se estreita logo depois do nascimento, eliminando esse desvio venoso através do fígado.

O sistema cardinal posterior é aumentado e, depois, substituído pelas veias subcardinais e supracardinais pareadas

Conforme mostrado na Figura 13-25A, o sistema de veias cardinais bilateralmente simétrico que se desenvolve na 3ª e na 4ª semanas para drenar a cabeça, o pescoço e a parede corporal inicialmente consiste em **veias cardinais posteriores (caudais)** e **anteriores (craniais)** pareadas, que se unem próximo ao coração para formar as curtas **veias cardinais comuns** que drenam para os cornos dos seios. As veias cardinais posteriores são suplementadas e, posteriormente, substituídas por dois pares adicionais de veias, as **veias subcardinais e supracardinais**, que se desenvolvem na parede do corpo em posição medial às veias cardinais posteriores. Como as veias cardinais posteriores e anteriores, esses dois sistemas são, de início, bilateralmente simétricos, mas sofrem uma extensa remodelação durante o desenvolvimento.

As veias subcardinais esquerda e direita brotam da base das cardinais posteriores até o final da 6ª semana e crescem caudalmente na parte medial da parede corporal dorsal (Fig. 13-25B). Até a 7ª e a 8ª semana, essas veias subcardinais se conectam umas às outras por numerosas anastomoses medianas e formam algumas anastomoses laterais com as cardinais posteriores. Entretanto, os segmentos longitudinais da veia subcardinal esquerda logo regredem, de modo que, na 9ª semana, as estruturas do lado esquerdo do corpo alimentadas pelo sistema subcardinal drenarão unicamente através de canais anastomóticos transversos para a veia subcardinal direita. Enquanto isso, a veia subcardinal direita perde sua conexão original com a veia cardinal posterior e desenvolve uma nova anastomose com o segmento da veia vitelina direita logo abaixo do coração para formar a porção da veia cava inferior entre o fígado e os rins (Fig. 13-25C-E). Através desse processo de remodelação, o sangue dos órgãos originalmente drenados pelas veias subcardinais direita e esquerda retornará agora para o átrio direito pela VCI.

Enquanto o sistema subcardinal está sendo remodelado, um novo par de veias, as **veias supracardinais**, brotam da base das cardinais posteriores e se desenvolvem caudal e medialmente às veias cardinais posteriores (Fig. 13-25C). Essas veias drenam o sangue da parede corporal pelas **veias intercostais**, assumindo, portanto a função das veias cardinais posteriores. As porções abdominal e torácica das veias supracardinais geram componentes venosos separados no adulto e, portanto, serão descritas separadamente.

Durante o desenvolvimento das veias supracardinais, as veias cardinais posteriores são obliteradas ao longo de quase todo o comprimento (Fig. 13-25C, D). As porções mais caudais das veias cardinais posteriores (incluindo uma grande anastomose mediana) permanecem, mas perdem sua conexão original com o coração e formam uma nova anastomose com as veias supracardinais. Esse remanescente caudal das cardinais posteriores se desenvolve nas veias ilíacas comuns e na porção mais caudal, sacral, da VCI. As veias ilíacas comuns, por sua vez, geram as veias ilíacas interna e externa, que crescem para drenar os membros inferiores e os órgãos pélvicos.

Na região abdominal, a remodelação do sistema supracardinal começa com a obliteração da porção inferior da veia supracardinal esquerda (Fig. 13-25D, E). O segmento abdominal remanescente da veia supracardinal direita forma uma anastomose com a veia subcardinal direita para criar um segmento da VCI logo abaixo dos rins.

A porção torácica do sistema supracardinal drena a parede corporal torácica por meio de uma série de **veias intercostais**. As porções torácicas das supracardinais originalmente drenam para as cardinais posteriores esquerda e direita e são conectadas umas às outras por anastomoses medianas (Fig. 13-25C). Entretanto, a veia supracardinal torácica esquerda, denominada **veia hemiázigos**, logo perde sua conexão com a veia cardinal posterior esquerda e com

o corno do seio esquerdo, e subsequentemente drena para o sistema supracardinal direito. A porção remanescente da veia supracardinal inferior direita também perde sua conexão original com a veia cardinal posterior e forma uma nova anastomose com o segmento da **veia cava superior** originário da veia cardinal anterior. Esta última, por sua vez, drena para o coração por um segmento que representa um pequeno remanescente da veia cardinal comum. A veia supracardinal direita é, então, denominada **veia ázigos**. As veias hemiázigos e ázigos drenam para o átrio direito pela veia cava superior ([Fig. 13-25D, E](#)).

A [Figura 13-25E](#) mostra as origens das quatro porções da VCI. De cima para baixo, (1) a veia vitelina direita origina o segmento terminal da VCI, (2) a veia subcardinal direita gera um segmento entre o fígado e os rins, (3) a veia supracardinal direita dá origem a um segmento abdominal inferior aos rins e (4) as veias cardinais posteriores direita e esquerda, junto com a anastomose mediana que as conecta, originam o segmento sacral da VCI.

O sangue é drenado da cabeça e do pescoço pelas veias cardinais anteriores

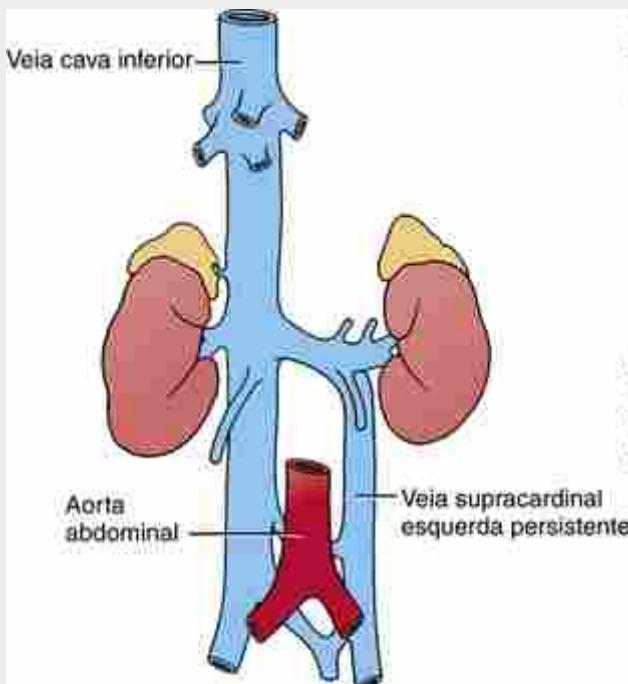
As veias cardinais anteriores esquerda e direita originalmente drenam sangue para os cornos dos seios por meio das veias cardinais comuns direita e esquerda ([Fig. 13-25A-D](#)). Entretanto, a conexão proximal da veia cardinal anterior esquerda com o corno do seio esquerdo logo regride ([Fig. 13-25E](#)), deixando apenas um pequeno remanescente, denominado **veia oblíqua do átrio esquerdo**, diretamente no coração ([Fig. 12-17](#)). Esse pequeno remanescente coleta sangue da região atrial esquerda do coração e o retorna diretamente para o seio coronário, que é um vestígio do corno do seio esquerdo.

As porções craneais das veias cardinais anteriores na região cervical em desenvolvimento dão origem às **veias jugulares internas**; plexos capilares na face se conectam a esses vasos para formar as **veias jugulares externas**. Simultaneamente, desenvolve-se uma anastomose conectando as veias cardinais anteriores esquerda e direita ([Fig. 13-25C-E](#)). Quando a veia cardinal anterior esquerda perde sua conexão com o coração, todo o sangue do lado esquerdo da cabeça e do pescoço é levado para a veia cardinal anterior direita através dessa anastomose. A **veia subclávia**, originária do plexo venoso do broto do membro superior esquerdo, também drena para a veia cardinal anterior esquerda proximal. Consequentemente, a anastomose intercardinal leva sangue do membro superior esquerdo e também do lado esquerdo da cabeça, e é denominada **veia braquiocefálica esquerda** ([Fig. 13-25C-E](#)). A veia braquiocefálica esquerda entra na veia cardinal anterior direita em sua junção com a **veia braquiocefálica direita**, drenando o broto do membro superior direito e a cabeça. O pequeno segmento da veia cardinal anterior direita entre a junção das veias braquiocefálicas direita e esquerda e o átrio direito torna-se a veia cava superior ([Fig. 13-25E](#)). Portanto, até o final da 8^a semana, a veia cava superior definitiva drena sangue de (1) ambos os lados da cabeça, (2) de ambos os membros superiores e (3) da parede corporal torácica (pela veia ázigos).

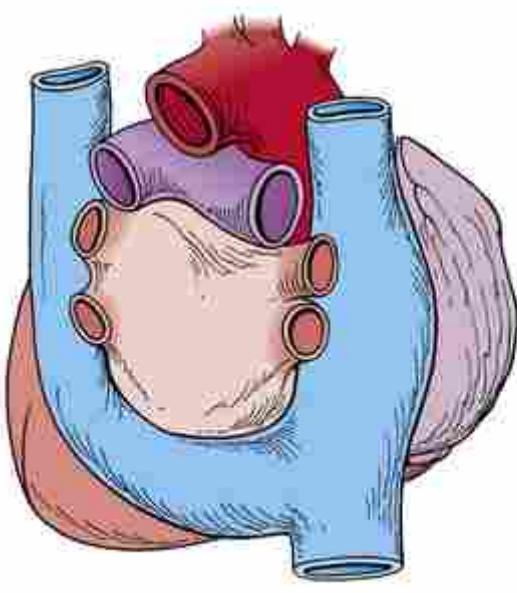
Na Clínica

Anomalias da veia cava

Uma anomalia relativamente rara denominada **veia cava inferior dupla** ocorre quando a porção caudal do sistema supracardinal esquerdo não regide, originando uma VCI esquerda anormal ([Fig. 13-26A](#)). O sangue que entra nesse vaso acaba por drenar para a VCI direita por meio da veia renal esquerda ou para a hemiázigos originária da parte torácica do sistema supracardinal.



A Veia cava inferior dupla



B Veia cava superior dupla

FIGURA 13-26 Anomalias venosas causadas por falha na regressão normal das veias cardinais à esquerda. A, A preservação da veia supracardinal esquerda inferior ao rim pode originar uma dupla veia cava inferior. B, A preservação da veia cardinal anterior esquerda no nível do coração pode originar uma veia cava superior dupla (vista posterior). A veia cava superior esquerda anômala drena para o seio coronário.

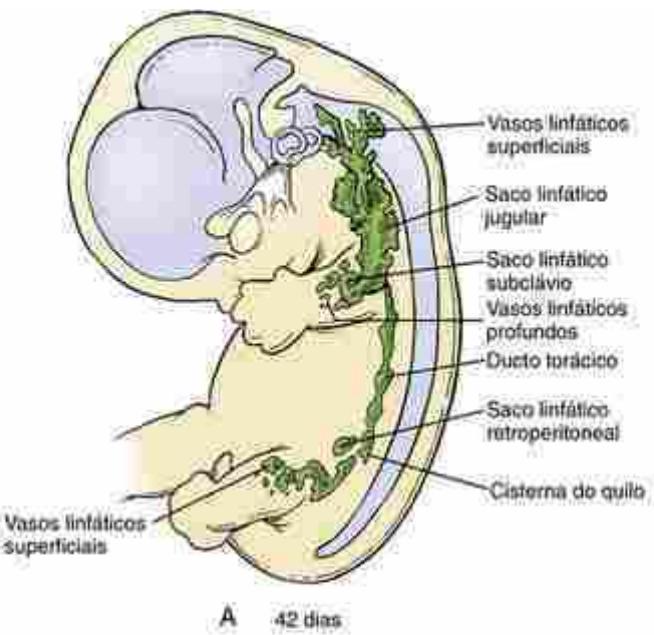
Ocasionalmente, a veia cardinal anterior esquerda persists e mantém sua conexão com o seio venoso esquerdo (incidência de 0,3% a 0,5% da população geral), o que resulta em uma **veia cava superior esquerda (dupla) persistente** (Fig. 13-26B) ou em uma **veia cava superior esquerda única**. Em 65% desses casos, a veia braquiocefálica esquerda também está ausente ou é muito pequena. No caso da veia cava superior esquerda persistente, o sangue do lado esquerdo da cabeça, do pescoço e do membro superior esquerdo drena através da veia cava superior esquerda anormal para o seio coronário. Uma única veia cava superior esquerda se desenvolve quando a veia cardinal anterior esquerda persists e a direita é obliterada. Nesse caso, a veia cardinal anterior

esquerda origina uma veia cava superior que drena o sangue de toda a cabeça e do pescoço, de ambos os membros superiores e do sistema ázigos, direcionando-o para o seio coronário e o átrio direito. Entretanto, em um subgrupo de veias cavas superiores duplas e à esquerda, a veia cava superior do lado esquerdo drena diretamente para o átrio esquerdo (mais comum em casos de heterotaxia).

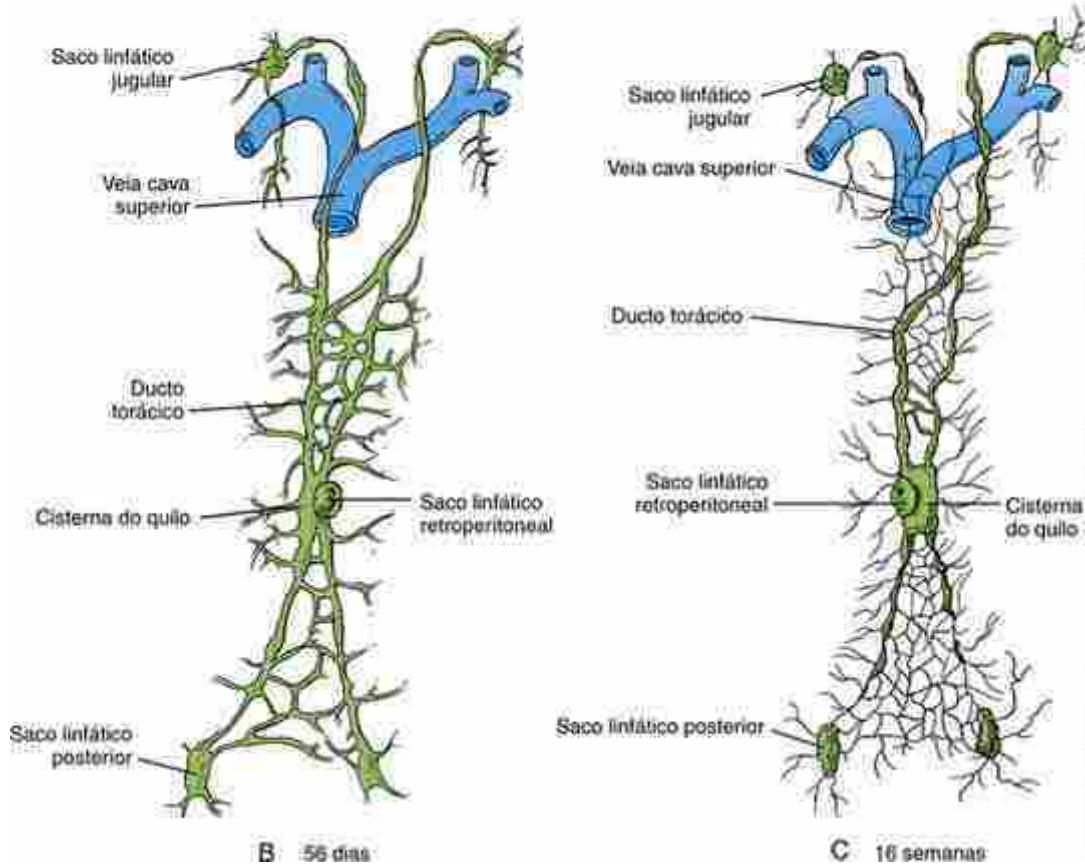
Desenvolvimento do sistema linfático

A vasculatura linfática desempenha uma função essencial em condições normais e patológicas. Ela é necessária para a manutenção da homeostase e dos níveis de líquido tecidual, fornece uma via para células imunes e células apresentadoras de抗ígenos para os órgãos linfáticos e transporta lipídios e nutrientes para o trato digestivo, além de exercer outras funções excessivamente numerosas para serem mencionadas aqui.

Os canais linfáticos são gerados por vasculogênese e angiogênese a partir de células precursoras venosas. Nos seres humanos, a **linfangiogênese** começa com a formação de brotamentos bilaterais das veias cardinais anteriores em torno do 42º dia de desenvolvimento. Esses brotamentos, no final, formam um par de dilatações, os **sacos linfáticos jugulares**, que irão coletar líquido dos vasos linfáticos dos membros superiores, da parte superior do tronco, da cabeça e do pescoço ([Fig. 13-27](#)). Na 6ª semana, quatro sacos linfáticos adicionais se formam para coletar linfa do tronco e dos membros inferiores: o **saco linfático retroperitoneal**, a **cisterna do quilo** e **sacos linfáticos posteriores** pareados associados às junções das veias ilíacas externa e interna.



A 42 dias



B 56 dias

C 16 semanas

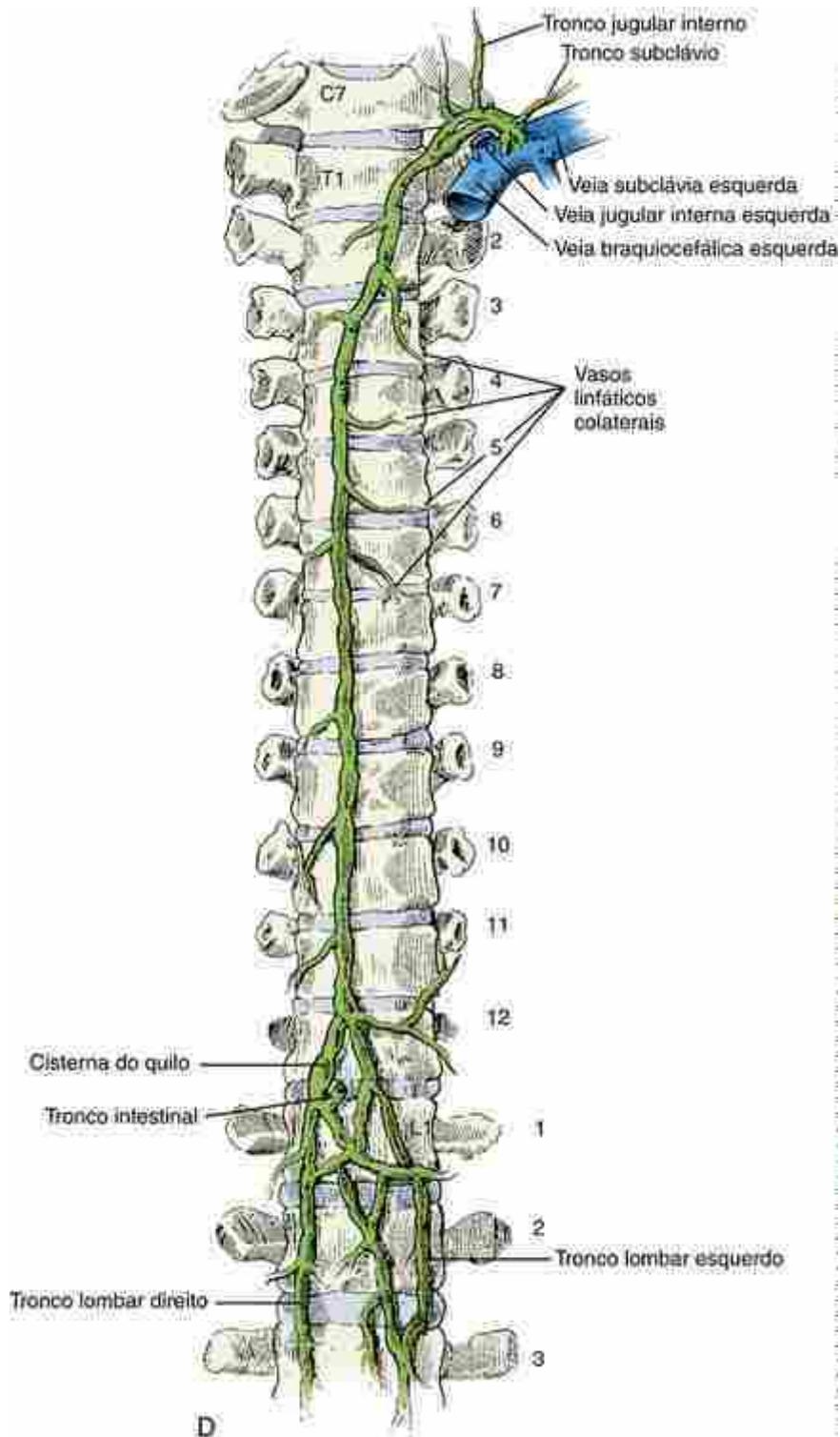


FIGURA 13-27 Desenvolvimento do sistema linfático. *A*, Diversos ductos e sacos linfáticos se desenvolvem por linfangiogênese e acabam por drenar líquido dos espaços teciduais em todo o corpo. *B-D*, O ducto torácico único que drena a cisterna do quilo e a parede torácica superior é originário de partes dos ductos torácicos direito e esquerdo e suas anastomoses.

A cisterna do quilo inicialmente drena para um par simétrico de ductos linfáticos torácicos que drenam para a circulação venosa nas junções das veias jugular interna e subclávia. No entanto, durante o desenvolvimento, porções de ambos os ductos são obliteradas e o **ducto torácico** definitivo é proveniente da porção caudal do ducto direito, da porção cranial do ducto esquerdo e de uma anastomose mediana.

Mecanismos moleculares do desenvolvimento linfático

Embora a existência do sistema linfático seja conhecida há muitos séculos, a origem embriológica deste importante sistema somente agora está se tornando clara. Em camundongos, um subgrupo de células endoteliais pertencentes às veias cardinais migra e forma os vasos linfáticos iniciais. Essas células endoteliais precursoras linfáticas em migração expressam o fator de transcrição *prospero-related homeobox-1* (Prox1), cujos homólogos foram encontrados em seres humanos, galinhas, salamandras, rãs, *Drosophila* e peixe-zebra. Inicialmente, todas as células endoteliais das veias cardinais parecem ter competência linfática. Entretanto, somente um subgrupo dessas células endoteliais é induzido para iniciar a expressão de Prox1, formando os sacos linfáticos rudimentares, e para começar a expressar marcadores linfáticos mais específicos. Recentes estudos sugerem que a expressão de Sox18 (um fator de transcrição relacionado ao SRY), em combinação com Coup-tfII, ativa a expressão de Prox1 em um subgrupo de células endoteliais, e que Prox1 é responsável pela especificação linfática nessas células (Fig. 13-28). Quando camundongos são nocauteados para Sox18 ou Prox1, os embriões resultantes são incapazes de desenvolver um sistema linfático. Nos camundongos com deficiência de Prox1, ainda ocorre a migração dessas células endoteliais. No entanto, elas nunca expressam marcadores de determinação linfática (p. ex., Nrp2 e podoplanina; esta última é uma mucoproteína transmembrana específica para o sistema linfático). Em vez disso, as células retêm marcadores endoteliais de vasos sanguíneos, como Cd34 e laminina. Portanto, Sox18 e Prox1 são necessários para a especificação de células linfáticas em camundongos, e sua expressão pode ser a chave-mestra na programação do destino celular endotelial linfático. Na realidade, a expressão ectópica de Prox1 no endotélio vascular sanguíneo pode redirecionar as células do endotélio vascular para uma linhagem linfática.

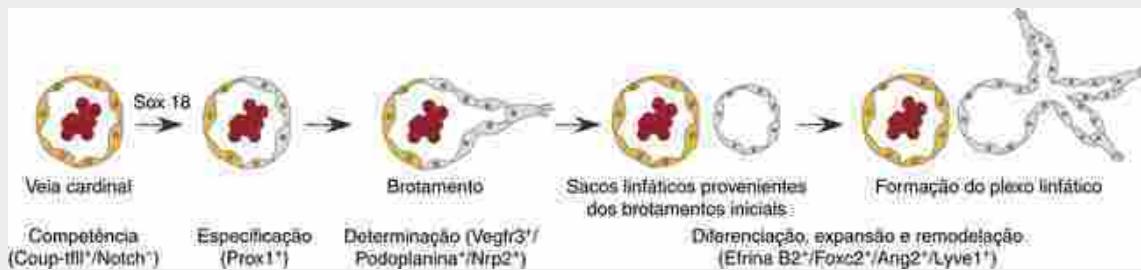


FIGURA 13-28 Etapas postuladas na geração de vasos linfáticos com base em estudos em camundongos. Células endoteliais da veia cardinal tornam-se competentes para a formação de vasos linfáticos (ou seja, expressam Coup-tfII e não apresentam sinalização notch). A expressão de Sox18 em combinação com Coup-tfII ativa a expressão de Prox1 em um subgrupo de células endoteliais responsáveis pela especificação linfática nessas células e, em seguida, pela determinação (ou seja, começam a expressar Vegfr3, podoplanina e Nrp2). Essas células endoteliais linfáticas migram a seguir, formam sacos linfáticos, passam por expansão e remodelação e, por fim, expressam outros marcadores linfáticos (p. ex., Lyve1⁺).

Na Clínica

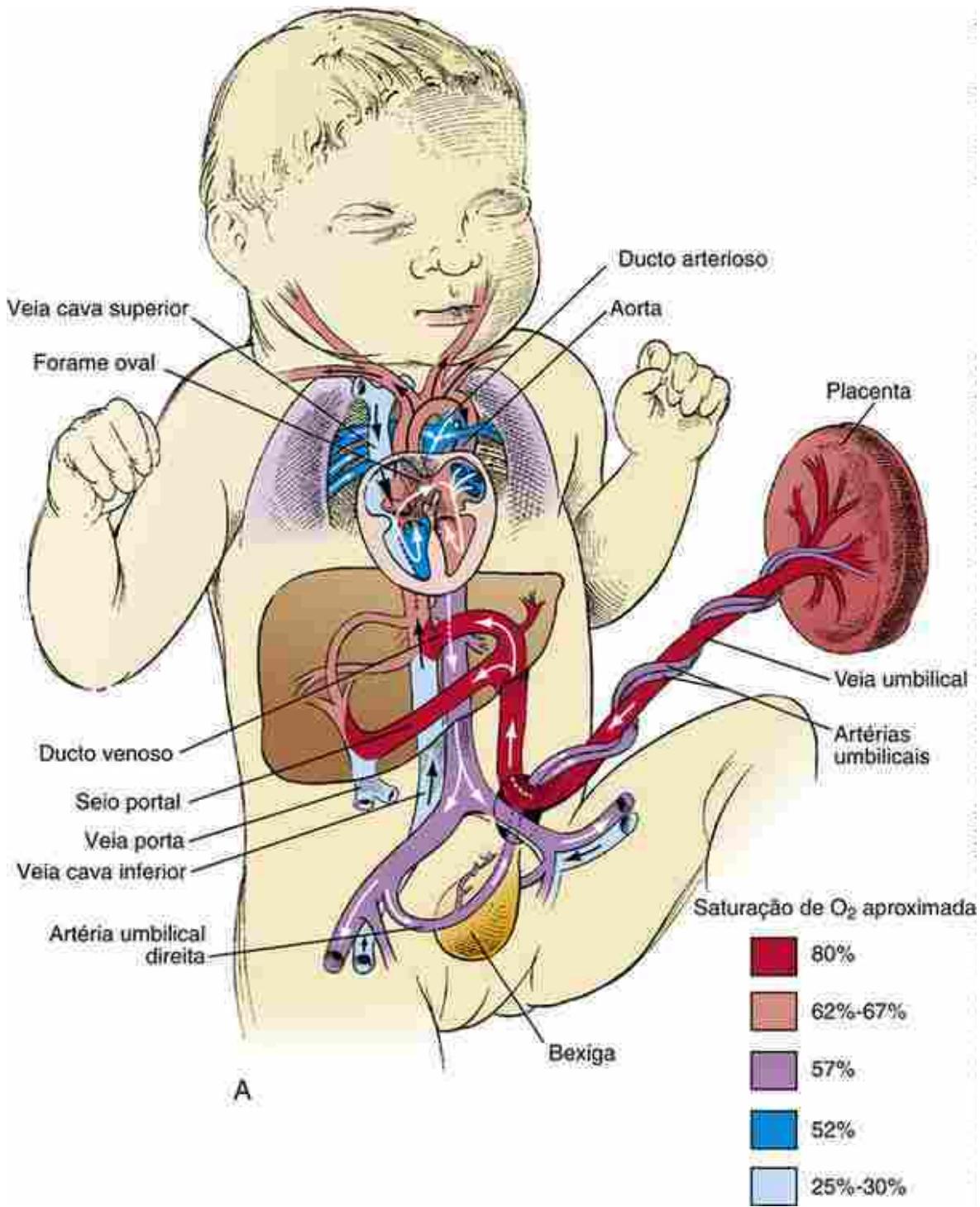
O linfedema pode resultar de hipoplasia linfática

Uma das principais doenças congênitas hereditárias do sistema linfático é o **linfedema hereditário** (ou linfedema primário, edema da vasculatura linfática), causado por hipoplasia do sistema linfático. Essa doença pode ou não estar associada a outras anormalidades. O edema geralmente ocorre nas pernas, porém, no caso de linfedema associado à **síndrome de Turner**, o bloqueio dos ductos linfáticos do pescoço e da parte superior do tronco também pode causar o desenvolvimento de cistos preenchidos com líquido linfático (higromas císticos). Esses cistos podem desaparecer se a drenagem linfática melhorar durante o desenvolvimento subsequente. A **doença de Milroy**, uma síndrome primária de linfedema, foi vinculada a mutações no gene VEGFR3. Outras formas mais raras de linfedema foram vinculadas ao gene FOXC2, membro da família *forkhead* de fatores de transcrição. Mutações de SOX18 também foram associadas às formas hereditárias dominantes e recessivas de linfedema. Diversos outros genes potenciais identificados em modelos de camundongos que, quando sofrem perda ou mutação, desenvolvem linfedema incluem Ang2, Nrp2, Met (um proto-oncogene), podoplanina e Syk (uma tirosina quinase).

Alterações dramáticas ocorrem no sistema circulatório ao nascimento

Desde o nascimento, as circulações pulmonar e sistêmica são completamente separadas e organizadas em série. Essa organização teria sido impraticável no feto, pois o sangue oxigenado entra no feto pela veia umbilical e um volume pequeno de sangue pode fluir pelos pulmões colapsados. Portanto, as câmaras cardíacas do feto e os tratos de saída contêm forames e ductos que levam o sangue oxigenado que entra no átrio direito para o ventrículo esquerdo e para o arco aórtico, desviando-se, consequentemente, da circulação pulmonar em desenvolvimento. Essas comunicações se fecham ao nascimento, separando abruptamente as duas circulações.

A transição da dependência fetal do suporte materno por meio da placenta para a existência relativamente independente do bebê no mundo externo no momento do nascimento desencadeia alterações dramáticas no padrão da circulação sanguínea no neonato. Na circulação fetal ([Fig. 13-29A](#)), o sangue oxigenado entra no corpo pela veia umbilical esquerda. No **ducto venoso**, esse sangue se mistura com um pequeno volume de sangue portal desoxigenado e, a seguir, penetra na VCI, onde se mistura com o sangue desoxigenado que retorna do tronco e das pernas. No átrio direito, esse fluxo de sangue, ainda altamente oxigenado, é transportado através do forame oval para o átrio esquerdo. O sangue oxigenado que entra no átrio direito do feto pela VCI e o sangue desoxigenado que entra pela veia cava superior formam correntes hemodinamicamente distintas e se misturam muito pouco no átrio. Essa separação de correntes é realizada, em parte, pelo formato e posicionamento da valva da VCI.



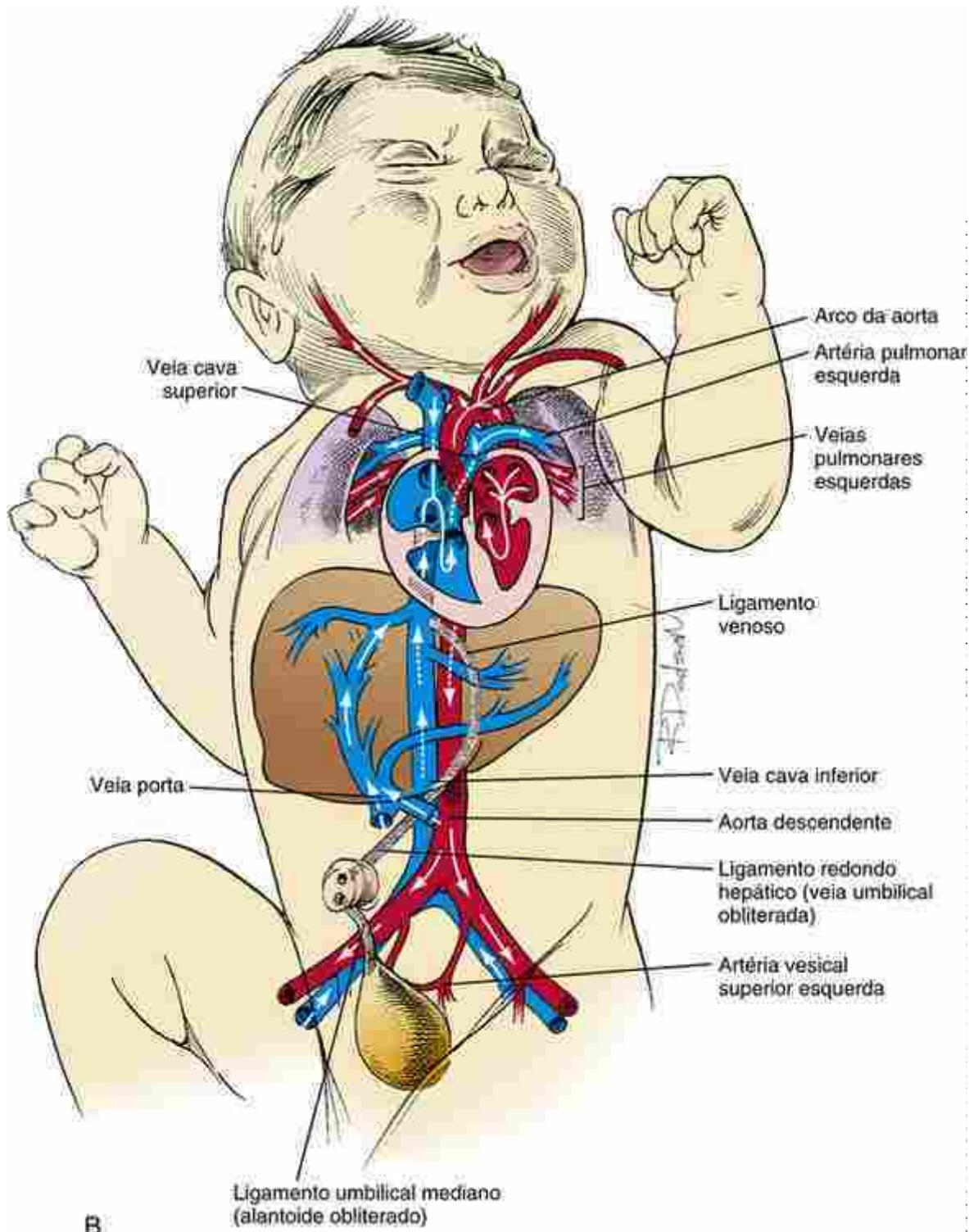


FIGURA 13-29 Conversão do padrão de circulação fetal no respiratório. Ao nascimento, o circuito único da circulação fetal é rapidamente convertido em dois circuitos (pulmonar e sistêmico) configurados em série. *A*, Padrão do fluxo sanguíneo no feto e na placenta antes do nascimento. *B*, Padrão do fluxo sanguíneo logo depois do nascimento.

No átrio esquerdo, o sangue oxigenado do átrio direito se mistura com o pequeno volume de sangue que retorna dos pulmões pelas veias pulmonares. Pouco sangue flui pela circulação pulmonar durante a vida fetal, pois a resistência vascular dos pulmões fetais colapsados é muito elevada. O sangue oxigenado do ventrículo esquerdo é levado para a aorta para ser distribuído inicialmente para a cabeça, pescoço e braços e, em seguida, pela aorta descendente, para o tronco e os membros. À medida que o sangue entra na aorta descendente, mistura-se com o sangue menos oxigenado que chega pelo ducto arterioso. Esse sangue consiste, principalmente, no sangue que entra no átrio direito vindo da veia cava superior e é expelido pelo ventrículo direito e pelo tronco pulmonar. Consequentemente, o sangue transportado para cabeça, pescoço e braços pela circulação fetal é mais oxigenado do que o sangue fornecido para o

tronco e membros inferiores. Depois que a aorta descendente distribui o sangue ao tronco e aos membros inferiores, o sangue remanescente entra nas artérias umbilicais e retorna à placenta para oxigenação.

O padrão de circulação fetal funciona durante todo o processo de nascimento. Entretanto, assim que o neonato respira pela primeira vez, importantes modificações convertem a circulação para a configuração adulta, na qual os circuitos pulmonar e sistêmico são separados (Fig. 13-29B). Quando os alvéolos se enchem de ar, os vasos pulmonares constrictos se abrem e a resistência da vasculatura pulmonar diminui abruptamente. Em modelos de animais mamíferos, os níveis do óxido nítrico sintase aumentam drasticamente na vasculatura pulmonar no instante do nascimento, aumentando o potencial de produção de **óxido nítrico** e dilatando esses vasos. Acredita-se que a abertura dos vasos pulmonares seja uma resposta direta ao oxigênio, pois a hipóxia em neonatos pode causar a constrição dos vasos pulmonares. Ao mesmo tempo, a constrição espontânea (ou o clampeamento obstétrico) dos vasos umbilicais interrompe o fluxo originário da placenta.

A abertura da circulação pulmonar e a interrupção do fluxo umbilical criam alterações em pressão e fluxo que causam a constrição do ducto arterioso e o fechamento do **forame oval**. Quando a circulação pulmonar se abre, a queda resultante de pressão no tronco pulmonar supostamente causa uma pequena reversão de fluxo do sangue aórtico oxigenado através do **ducto arterioso**. Esse aumento na tensão local de oxigênio aparentemente induz a musculatura lisa vascular do ducto arterioso a se contrair e a impedir o fluxo de sangue através dele. O mecanismo exato pelo qual as alterações na tensão do oxigênio iniciam a contração dessas células ainda é obscuro (a ser discutido mais detalhadamente no quadro “Na Clínica” intitulado “Um Ducto Arterioso Patente Causa Insuficiência Cardíaca se Não For Corrigido”), mas a constrição do ducto arterioso normalmente ocorre em até 1 dia depois do nascimento em bebês nascidos a termo.

Ao contrário do que ocorre no ducto arterioso, o fechamento inicial do **forame oval** é, principalmente, um efeito mecânico da inversão na pressão entre os dois átrios. A abertura da vasculatura pulmonar e a interrupção do fluxo umbilical reduzem a pressão no átrio direito, enquanto o aumento súbito no retorno venoso pulmonar aumenta a pressão no átrio esquerdo. A alteração de pressão resultante força o septo primário flexível contra o septo secundário mais rígido, fechando, funcionalmente, o forame oval. O septo primário e o septo secundário normalmente se fundem em até cerca de 3 meses após o nascimento.

O **ducto venoso** também se fecha logo após o nascimento. Entretanto, a rápida constrição do ducto venoso não é essencial para o bebê, pois o sangue não está mais fluindo pela veia umbilical. As **prostaglandinas** (hormônios com efeitos dilatadores sobre a musculatura vascular lisa) parecem desempenhar uma função na manutenção da patência do ducto venoso durante a vida fetal, mas o sinal que dispara a constrição aparentemente ativa este canal depois do nascimento ainda não foi totalmente entendido. No entanto, uma circulação portal normal poucos dias depois do nascimento suplanta o fluxo de sangue hepático vindo da placenta.

Na Clínica

Um ducto arterioso patente causa insuficiência cardíaca se não for corrigido

Em bebês a termo, o ducto arterioso se contrai em resposta a um aumento na tensão de oxigênio. Entretanto, durante a vida fetal, o ducto é mantido patente, parcialmente pelas prostaglandinas circulantes. Estudos em camundongos mostram que o receptor da prostaglandina E₂ subtipo 4 é expresso no músculo liso vascular do ducto arterioso. Quando esse receptor é nocauteado, os camundongos desenvolvem um **ducto arterioso patente**. Modelos animais mostram que aumentos nos níveis de oxigênio diminuem os níveis circulantes de prostaglandinas, sinalizam a liberação de endotelinas (vasoconstridores liberados por células endoteliais), alteram a atividade de canais de íons K⁺ no músculo liso vascular e aumentam os níveis intracelulares de íons cálcio, e todos esses fatores promovem a contração do músculo liso vascular no ducto arterioso. A importância do aumento da tensão de oxigênio no fechamento do ducto arterioso é confirmada pela observação de que um ducto arterioso patente é mais prevalente em pacientes que vivem em condições hipóxicas (ou seja, grandes altitudes). Por motivos não esclarecidos, a incidência de ducto arterioso patente também é mais elevada em casos de **infecção materna por rubéola**.

Estudos recentes sugerem que a vasoconstrição por si só é insuficiente para o fechamento completo. Além disso, o fechamento exige a formação de um tampão de plaquetas, provavelmente em resposta ao dano endotelial causado pela constrição do lúmen e pela hipóxia isquêmica. Na realidade, bebês pré-termo que nascem com plaquetopenia (baixa contagem de plaquetas) apresentam um risco dez vezes mais elevado de apresentar um ducto arterioso patente do que os que apresentam contagem plaquetária normal. Embora contrariamente ao que se imaginaria, recentes estudos sugerem que baixos níveis de prostaglandinas podem ser antitrombóticos *in vivo* pela mediação da sensibilidade das plaquetas a seus ativadores. Portanto, a diminuição dos níveis de prostaglandina ao nascimento promoveria a vasoconstrição e a formação de um tampão de plaquetas no ducto arterioso.

Bebês com malformações cardiovasculares nos quais um ducto arterioso patente é essencial à vida (consulte o “Caso Clínico” do Cap. 12) podem ser tratados com uma infusão de prostaglandinas para manter o ducto aberto até que a malformação possa ser corrigida cirurgicamente. Por outro lado, bebês prematuros nos quais o ducto arterioso não se contrai espontaneamente por vezes são tratados com inibidores de prostaglandina, como indometacina e ibuprofeno, para promover o fechamento. Em neonatos com ducto arterioso patente muito grande, cerca de um terço à metade do sangue é transportado da aorta de volta para a circulação pulmonar. Isso significa que, em seu retorno ao coração vindo dos pulmões, o mesmo sangue precisa ser bombeado novamente pelo ventrículo esquerdo (o que aumenta sua carga de trabalho em 2 a 3 vezes). Caso isso não seja corrigido, poderão ocorrer doença obstrutiva progressiva da vasculatura pulmonar, hipertensão pulmonar, dilatação atrial esquerda e hipertrofia ventricular e, ao final, insuficiência cardíaca. Esse padrão de fluxo sanguíneo anormal também aumenta o risco de **endocardite** bacteriana.

Embriologia na Prática

Manchas vermelhas

Um adolescente e sua mãe vão ao pediatra para discutir suas preocupações sobre a presença de múltiplas pequenas manchas vermelhas no rosto, membros e tronco. Nas consultas anteriores, a mãe mencionou essas manchas ao médico por acaso, mas, agora, as manchas são mais problemáticas, pois o rapaz está se tornando consciente sobre sua aparência. A mãe também está preocupada depois de ler, na Internet, que manchas como essas, em conjunto com frequentes sangramentos pelo nariz que o rapaz também apresenta, podem ser causadas por algo chamado “THH”.

No passado, o médico tinha considerado os sangramentos nasais como “muito comuns” e “coisa normal em adolescentes”, causados pela secura do ar local e pela “manipulação dos dedos”, e tinha recomendado tratar as fossas nasais com vaselina. A discussão durante a consulta continua a sugerir sangramentos benignos que ocorrem menos de uma vez por semana, principalmente no inverno. Entretanto, a curiosidade do médico é aguçada quando ele fica ciente de que o pai do rapaz tem manchas parecidas, mas sem outros sinais ou sintomas.

O médico examina o rapaz enquanto ouve a história e observa múltiplas manchas vermelhas que perdem a vermelhidão quando pressionadas, principalmente nos membros e no tronco do paciente. Um exame mais profundo não encontra lesões na mucosa oral ou nos leitos ungueais. O exame não revela qualquer preocupação adicional acerca de sintomas, como dispneia e fadiga. O médico também realiza uma medição de hematócrito e uma oximetria de pulso no consultório, ambas com resultados normais.

Ele diz à mãe e ao rapaz que está tranquilo com o histórico benigno de epistaxe e com a falta de outros sintomas cutâneos ou sistêmicos, e que o provável diagnóstico é **telangiectasia hereditária benigna**. Ele explica que esse quadro envolve manchas vermelhas na pele, comuns na família, mas não apresenta os graves sangramentos nasais e anormalidades sistêmicas dos vasos sanguíneos, denominadas malformações arteriovenosas (MAVs), observados na telangiectasia hemorrágica hereditária (THH). Ele acrescenta que podem ser feitos exames para descartar THH, incluindo testes genéticos, caso surjam outros sintomas.

Ao contrário da THH, descrita no “Caso Clínico” deste capítulo em uma menina de 14 anos que também apresentou telangiectases e epistaxe, a telangiectasia hereditária benigna não tem os achados adicionais de telangiectases nas mucosas ou sintomas associados a MAVs sistêmicas, como fadiga e dispneia.

Leituras sugeridas

- Adams, R. H., Alitalo, K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8:464–478.
- Adams, R. H., Eichmann, A. Axon guidance molecules in vascular patterning. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010; 2:a001875.
- Augustin, H. G., Koh, G. Y., Thurston, G., Alitalo, K. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-tie system. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009; 10:165–177.
- Boisset, J. C., van Cappellen, W., Andrieu-Soler, C., et al. In vivo imaging of haematopoietic cells emerging from the mouse aortic endothelium. *Nat*. 2010; 464:116–120.
- Brouillard, P., Viikula, M. Genetic causes of vascular malformations. *Hum Mol Genet*. 2007; 16(2):R140–R149.
- Coultas, L., Chawengsaksophak, K., Rossant, J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*. 438, 2005. [937–495].
- De Val, S., Black, B. Transcriptional control of endothelial cell development. *Dev Cell*. 2009; 16:180–195.
- Dejana, E. The role of wnt signaling in physiological and pathological angiogenesis. *Circ Res*. 2010; 107:943–952.
- Dzierzak, E., Speck, N. Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells. *Nat Immunol*. 2008; 9:129–136.

- Echtler, K., Stark, K., Lorenz, M., et al. Platelets contribute to postnatal occlusion of the ductus arteriosus. *Nat Med.* 2010; 16:75–82.
- Fraisl, P., Mazzone, M., Schmidt, T., Carmeliet, P. Regulation of angiogenesis by oxygen and metabolism. *Dev Cell.* 2009; 16:167–179.
- Gaengel, K., Genove, G., Armulik, A., Betsholtz, C. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29:630–638.
- High, F., Epstein, J. The multifaceted role of Notch in cardiac development and disease. *Nat Rev Genet.* 2008; 9:49–61.
- Jain, R., Rentschler, S., Epstein, J. Notch and cardiac outflow tract development. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1188:184–190.
- Lohela, M., Bry, M., Tammela, T., Alitalo, K. VEGFs and receptors involved in angiogenesis versus lymphangiogenesis. *Curr Opin Cell Biol.* 2009; 21:154–165.
- Oliver, G., Srinivasan, R. Endothelial cell plasticity: how to become and remain a lymphatic endothelial cell. *Development.* 2010; 137:363–372.
- Phng, L., Gerhardt, H. Angiogenesis: a team effort coordinated by notch. *Dev Cell.* 2009; 16:196–208.
- Rentschler, S., Jain, R., Epstein, J. Tissue-tissue interactions during morphogenesis of the outflow tract. *Pediatr Cardiol.* 2010; 31:408–413.
- Tavian, M., Biasch, K., Sinka, L., et al. Embryonic origin of human hematopoiesis. *Int J Dev Biol.* 2010; 54:1061–1065.
- You, L. R., Lin, F., Lee, C., et al. Suppression of Notch signalling by the COUP-TFII transcription factor regulates vein identity. *Nature.* 2005; 435:98–104.

Desenvolvimento do Trato Gastrointestinal

Resumo

O tubo gastrointestinal endodérmico, criado pelo dobramento do corpo do embrião durante a 4^a semana ([Cap. 4](#)), consiste em um **intestino anterior** cranial em fundo cego, um **intestino posterior** caudal, também em fundo cego, e um **intestino médio** aberto para o saco vitelínico através do ducto vitelínico. Como descrito no [Capítulo 13](#), o suprimento arterial para o tubo digestório se desenvolve por meio da consolidação e redução dos ramos ventrais da aorta dorsal que se anastomosam com os plexos vasculares que originalmente fornecem sangue ao saco vitelínico. Cerca de cinco desses derivados das artérias vitelinas vascularizam o intestino anterior (de localização torácica), e três – as **artérias celíaca, mesentérica superior e mesentérica inferior** – vascularizam o restante do intestino primitivo, de localização abdominal. Por convenção anatômica, os limites das porções dos intestinos anterior, médio e posterior do tubo digestório abdominal são determinados pelos respectivos territórios dessas três artérias. Entretanto, essas regiões e o local de alguns órgãos gastrointestinais já são demarcados por padrões de expressão gênica específicos antes que essa vascularização seja estabelecida e são refinados por subsequentes interações recíprocas entre o endoderma e o mesoderma.

Por volta da 5^a semana, as porções torácica e abdominal do intestino anterior estão visivelmente divididas na **faringe, esôfago, estômago** e região proximal do **duodeno**. O estômago é inicialmente fusiforme, e o crescimento diferencial das suas paredes dorsal e ventral produz as **curvaturas maior e menor**. Enquanto isso, os **divertículos hepático, cístico e pancreáticos dorsal e ventral** brotam a partir da região caudal do duodeno para dentro do **mesogastro** e dão origem, respectivamente, ao **fígado, vesícula biliar, ducto cístico e pâncreas**. Além disso, o **baço** se condensa a partir do mesenquima no mesogastro dorsal.

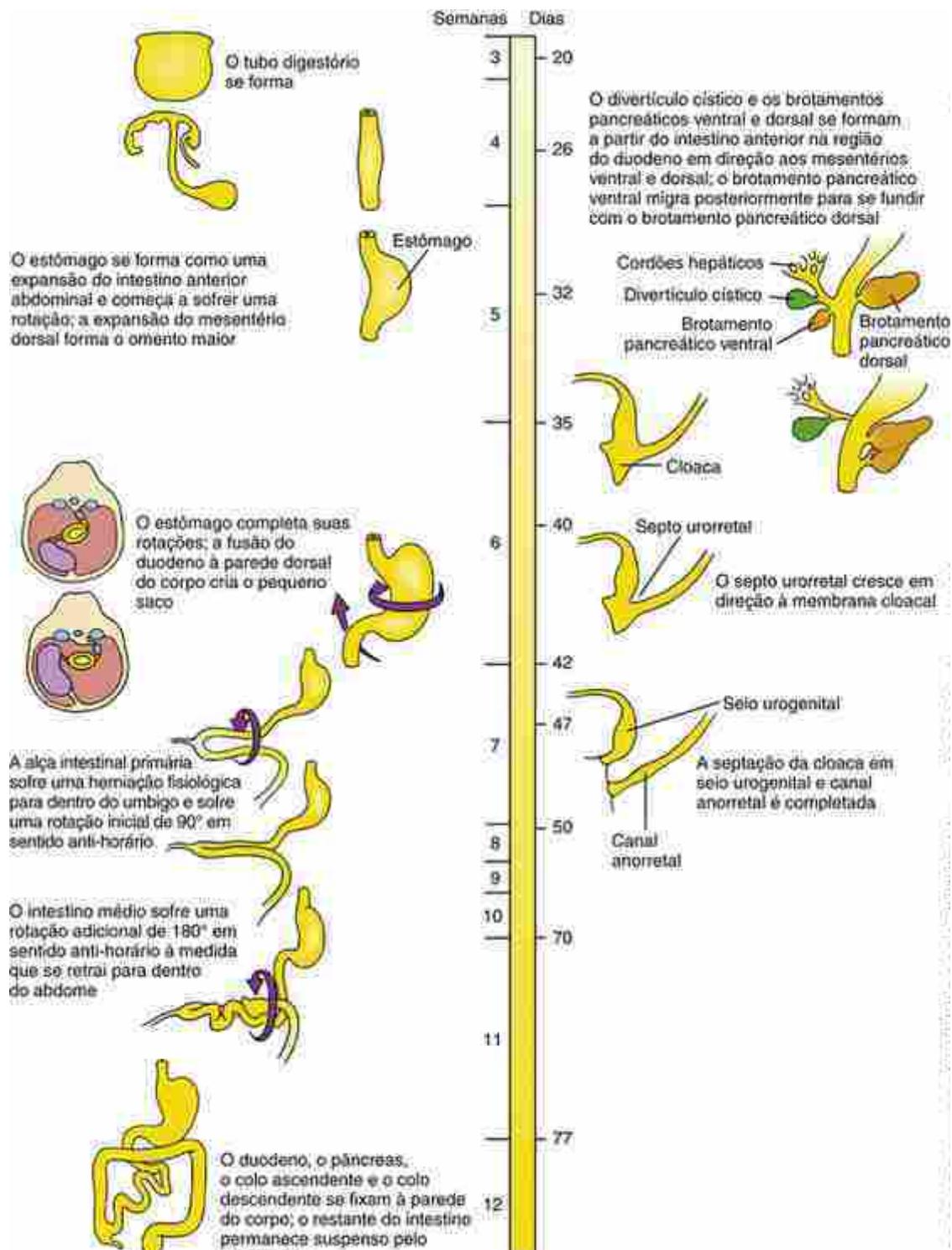
Durante a 6^a e a 7^a semanas, o estômago gira em torno dos eixos longitudinal e dorsoventral, de modo que a curvatura maior seja finalmente direcionada para a esquerda e em posição ligeiramente caudal. Esta rotação desloca o fígado para a direita na cavidade abdominal e traz o duodeno e o pâncreas em contato com a parede posterior do corpo, onde eles se fixam (*i. e.*, **secundariamente retroperitoneais**). Este evento converte o espaço dorsal ao estômago e mesogastro rodados em um recesso denominado **pequeno saco peritoneal**. A bolsa de mesogastro dorsal que forma o limite lateral esquerdo do pequeno saco subsequentemente sofre uma volumosa expansão, dando origem ao **omento maior**, semelhante a uma cortina, o qual pende da curvatura maior do estômago sobre as vísceras abdominais inferiores.

O intestino médio forma a região distal do **duodeno, jejuno, íleo, ceco, colo ascendente** e os dois terços proximais do **colo transverso**. O futuro íleo se alonga mais rapidamente do que pode ser acomodado pela cavidade peritoneal primitiva, de modo que, por volta da 5^a semana, o intestino médio se projeta como uma prega anteroposterior em formato de gancho, a **alça intestinal primária**, a qual sofre uma herniação em direção ao umbigo durante a 6^a semana. À medida que a alça intestinal primária sofre a herniação, ele gira em torno do seu longo eixo 90 graus em sentido anti-horário (como visto a partir da face ventral), de modo que o futuro íleo se posicione no lado direito do abdome e o futuro intestino grosso se posicione no lado esquerdo. Enquanto isso, o ceco e o apêndice vermiforme se diferenciam, e o jejuno e o íleo continuam a se alongar. Da 10^a à 12^a semana, a alça intestinal é retraiida para dentro da cavidade abdominal e sofre uma rotação adicional de 180 graus em sentido anti-horário, para produzir a configuração definitiva dos intestinos delgado e grosso.

O intestino posterior forma o terço distal do **colo transverso**, os colos **descendente e sigmoide**, e os dois terços superiores do **canal anorrectal**. Em posição imediatamente superior à membrana cloacal, o tubo digestório primitivo forma uma expansão denominada **cloaca**. Da 4^a à 6^a semana, um **septo urorrectal** em posição coronal divide a cloaca, dando origem ao **seio urogenital**, o qual dará origem a estruturas urogenitais e a um **canal anorrectal** em posição dorsal.

Da 6^a à 8^a semana, o epitélio do tubo digestório se torna espessado, forma lumens intraepiteliais que finalmente se

abrem no lúmen intestinal, e, juntamente com a formação de extensões mesodérmicas que se projetam para dentro do lúmen, forma os **vilos** dos intestinos. A citodiferenciação do epitélio do tubo gastrointestinal depende de interações com o mesoderma subjacente e é regionalmente especificada com base no eixo craniocaudal e no eixo radial (do lúmen para a túnica externa) do tubo digestório. Células da crista neural migratórias formam o **sistema nervoso entérico**.



Linha do tempo.
Desenvolvimento do tubo digestório e seus derivados.

Um bebê de 1 semana de idade do sexo masculino é examinado em uma clínica de saúde comunitária. Sua mãe diz que o menino não tem se alimentado há 2 dias e tem ficado irritado, especialmente após as mamadas. E na noite anterior, ele começou a vomitar um líquido escuro esverdeado compatível com a bile. Ao exame, o bebê chora inconsolavelmente e está fraco. Sua frequência cardíaca está elevada e suas extremidades estão frias: sintomas de desidratação. Seu abdome está um pouco distendido. Os goles de fluido de hidratação são devolvidos com vômito bilioso.

A hidratação intravenosa é iniciada, e uma sonda nasogástrica é colocada para descomprimir o abdome. O bebê é transferido de ambulância para o hospital infantil, onde uma série do trato gastrointestinal superior (GI superior) é solicitada (*i. e.*, sequências de raios X realizados após a ingestão de bário, um líquido radiopaco utilizado para revestir o interior do sistema digestório). Este estudo mostra um esvaziamento gástrico notavelmente retardado e a dilatação do duodeno com enchimento retardado do jejunio. À medida que o jejunio se enche com bário, ele assume uma aparência de “casca de maçã” (Fig. 14-1). Um exame de raios X subsequente mostra o enchimento parcial do intestino delgado, o qual se posiciona predominantemente no lado direito do abdome. O diagnóstico da má rotação intestinal com obstrução intestinal é feito, e a cirurgia de emergência é realizada. Na sala de cirurgia, os cirurgiões encontram um vólvulo do intestino médio (torção do intestino delgado), com o intestino isquêmico torcido em torno de um estreito pedículo mesentérico. Eles destorcem o intestino e o retornam para o abdome. Um dia depois, eles reexaminam o intestino e removem um segmento necrótico de 20 cm. Mais tarde, os segmentos do intestino delgado são reconectados e refixados, de modo que a torção não possa se repetir.

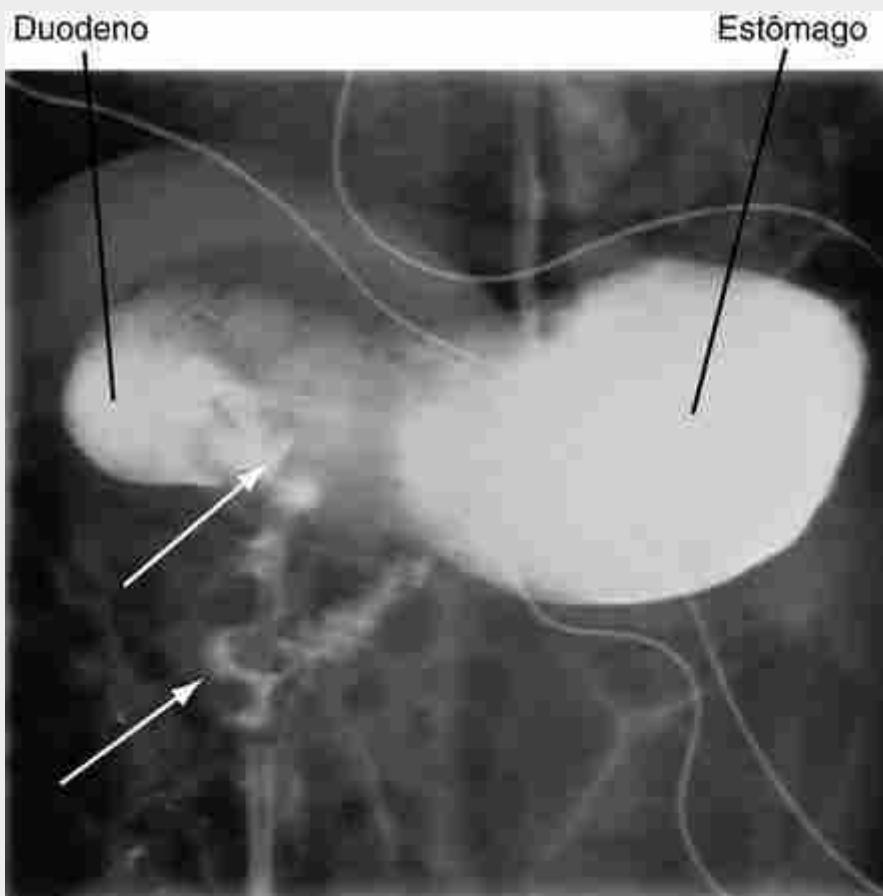


FIGURA 14-1 Má rotação do tubo digestório em uma criança. Exame de raios X com contraste de bário mostrando um estômago e a região proximal do duodeno dilatados, com um vólvulo mais distalmente. Observe o enchimento retardado do segmento digestório afetado (setas).

A má rotação intestinal ocorre quando o intestino médio falha em completar sua rotação da 10^a até a 12^a semana de desenvolvimento, à medida que ele retorna para a cavidade peritoneal a partir da herniação umbilical. Isso deixa o intestino delgado posicionado no lado direito do abdome e preso à vascularização mesentérica por um estreito mesentério. O intestino delgado pode sofrer uma torção ao redor desta estreita conexão, causando uma obstrução intestinal e interrompendo sua circulação, resultando em necrose. Isso usualmente se apresenta na infância, embora tenham sido relatados casos que se apresentam mais tarde, como em adultos jovens. A causa da má rotação intestinal é desconhecida.

Dobramento do corpo do embrião

Conforme descrito no [Capítulo 4](#), o dobramento longitudinal e transversal do embrião na 3^a e 4^a semanas converte o disco embrionário trilaminar plano em um cilindro trilaminar alongado ([Fig. 14-2](#)). Devido ao dobramento nas regiões cranial e caudal do corpo, duas bolsas endodérmicas – uma cranial e uma caudal – se formam ([Fig. 14-2A-F](#)). À medida que as bolsas cranial e caudal se alongam com o alongamento do embrião, as pregas laterais do corpo do embrião se encontram na linha média ventral e se fundem para gerar o cilindro corporal alongado ([Fig. 14-2G-H](#)). A camada externa é o ectoderma (a futura epiderme), o qual agora recobre toda a superfície externa do embrião, exceto na região umbilical, onde o saco vitelínico e o pedúculo do embrião emergem. A camada mais interna é o **tubo digestório primitivo** (ou **intestino primitivo**), de natureza endodérmica. Separando essas duas camadas encontra-se uma camada de mesoderma que contém o celoma. Deste modo, os três folhetos germinativos mantêm a mesma relação topológica fundamental entre si após o dobramento, da mesma forma que mantinham no disco embrionário plano.

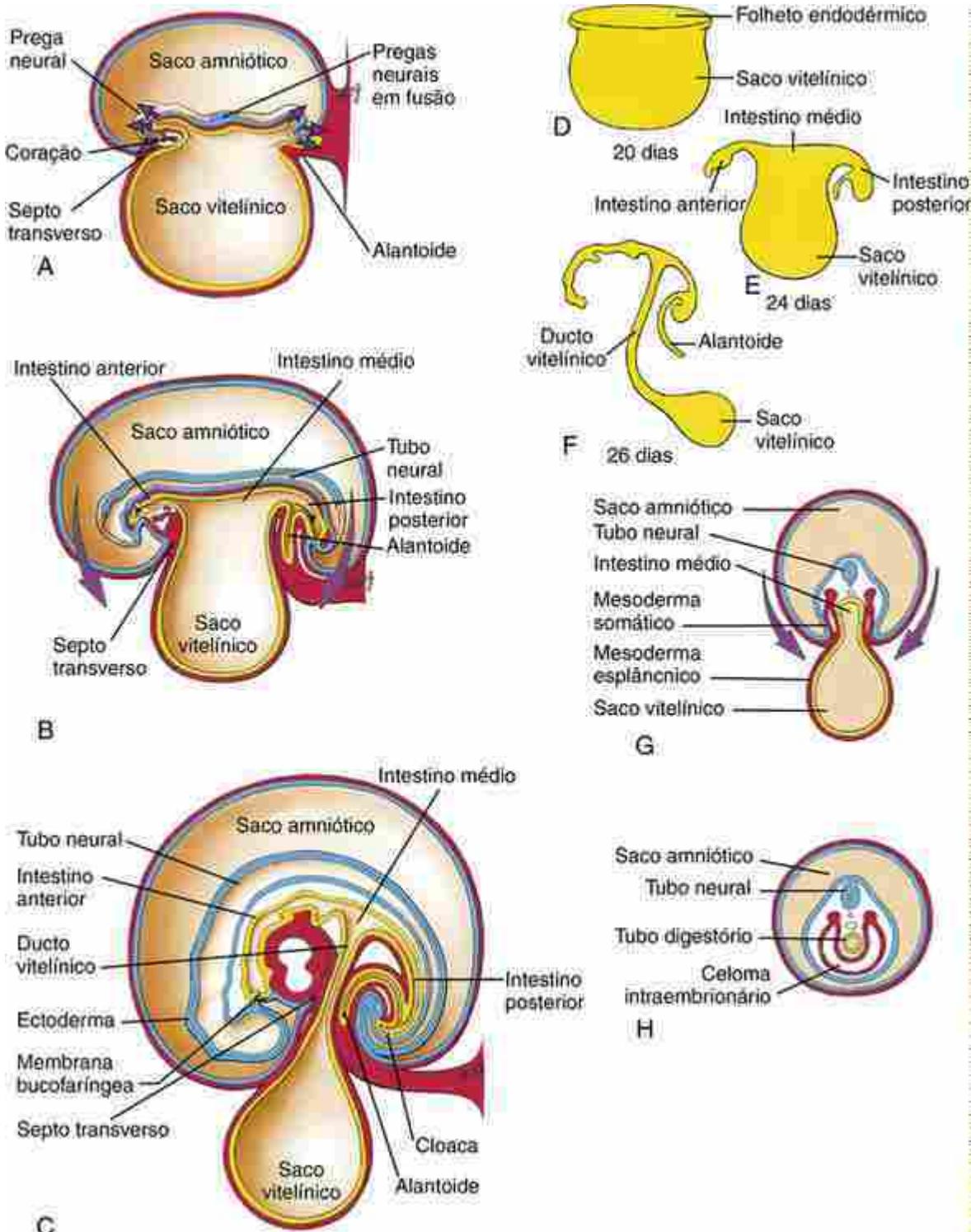


FIGURA 14-2 Formação do tubo digestório durante o dobramento do corpo do embrião. O intestino anterior, o intestino médio e o intestino posterior – os segmentos do tubo digestório primitivo – são formados pela ação combinada do crescimento diferencial e do dobramento lateral e craniocaudal do embrião, transformando-o de um disco achatado para uma forma corporal tridimensional, típica de vertebrados. À medida que o dobramento ocorre, o embrião cresce mais rapidamente do que o saco vitelínico, cuja cavidade permanece contínua com o tubo digestório em desenvolvimento através do estreito ducto vitelínico. O septo transverso se forma cranialmente à área cardiógena no disco embrionário (A) e é translocado para a futura região torácica inferior através do dobramento da extremidade cranial do embrião (B, C). O intestino anterior e o intestino posterior são tubos em fundo cego que terminam nas membranas bucofaringea e cloacal, respectivamente. O intestino médio é, inicialmente, completamente aberto para a cavidade do saco vitelínico (D, E). Entretanto, conforme o dobramento prossegue, esta conexão é estreitada para formar o delgado ducto vitelínico (E-G). A fusão do ectoderma, mesoderma, futuras cavidades celomáticas, e endoderma dos lados opostos é impedida nas imediações do ducto vitelínico (G), mas não nas regiões mais cranial e caudal (H).

O dobramento do embrião desempenha um papel essencial na internalização do endoderma, uma vez que mutações

em genes envolvidos no dobramento corporal exibem não apenas os defeitos no dobramento corporal, mas também defeitos no tubo endodérmico. No momento em que o dobramento corporal está quase terminado, o tubo digestório primitivo é composto por tubos cranial e caudal em fundo cego, os presumíveis **intestino anterior** e **intestino posterior**, e um **intestino médio** central, o qual ainda se abre ventralmente para o saco vitelínico. Cranialmente, o intestino anterior termina na **membrana orofaríngea** (ou membrana bucofaríngea); caudalmente, o intestino posterior termina na **membrana cloacal**. Como o embrião e o tubo digestório se alongam em relação ao saco vitelínico e o dobramento continua a converter o intestino médio aberto em um tubo, o colo do saco vitelínico se estreita até que ele se torne o delicado ducto vitelínico. O **ducto vitelínico** (ou **pedículo vitelínico**) e o saco vitelínico são finalmente incorporados ao cordão umbilical. A [Tabela 14-1](#) lista os órgãos e as estruturas que são derivados de forma definitiva a partir das três porções do intestino primitivo.

Tabela 14-1

Derivados do tubo digestório primitivo

Regiões do Tubo Digestório Diferenciado	Órgãos Acessórios Derivados do Endoderma do Tubo Digestório
Intestino Anterior	
Faringe	Derivados da bolsa faríngea (Cap. 17)
Região torácica do esôfago	Pulmões (Cap. 11)
Região abdominal do esôfago	
Estômago	
Metade proximal do duodeno (superior à ampola do ducto pancreático)	Parênquima do fígado e epitélio dos ductos hepáticos Vesícula biliar, ducto cístico e ducto biliar comum Pâncreas dorsal e ventral
Intestino Médio	
Metade distal do duodeno	
Jejuno	
Íleo	
Ceco	
Apêndice vermiciforme	
Colo ascendente	
Dois terços direitos do colo transverso	
Intestino Posterior	
Terço esquerdo do colo transverso	
Colo descendente	
Colo sigmoide	
Reto	Seio urogenital e derivados (Caps. 15 e 16)

Durante o processo de dobramento lateral do embrião, o revestimento endodérmico do intestino primitivo permanece recoberto por uma parede de mesoderma esplâncnico da placa lateral ([Fig. 14-2G-H](#)). Este mesoderma se condensa e se diferencia na lâmina própria, submucosa, túnica muscular, elementos vasculares e tecido conjuntivo do trato e órgãos gastrointestinais. Uma vez que as regiões básicas do tubo digestório sejam formadas, vários órgãos se desenvolvem em meio a regiões específicas que são delineadas pela expressão restrita de genes e interações entre tecidos.

O mesentério dorsal inicialmente mantém o intestino primitivo abdominal suspenso

Quando o celoma inicialmente se forma, o tubo digestório se encontra amplamente fixado à parede dorsal do corpo pelo mesoderma ([Fig. 14-3A](#)). Entretanto, na região das futuras vísceras abdominais (a partir da porção abdominal do esôfago até a porção mais proximal do futuro reto), o mesênquima em meio a esta região de inserção gradualmente se

dispersa durante a 4^a semana, resultando na formação de um delgado **mesentério dorsal** de dupla camada, que mantém as vísceras abdominais suspensas na cavidade celomática (Fig. 14-3B). Como o tubo digestório abdominal e seus derivados se encontram suspensos em meio a esta parte do celoma intraembrionário que mais tarde se torna a **cavidade peritoneal**, eles são denominados vísceras **intraperitoneais**.

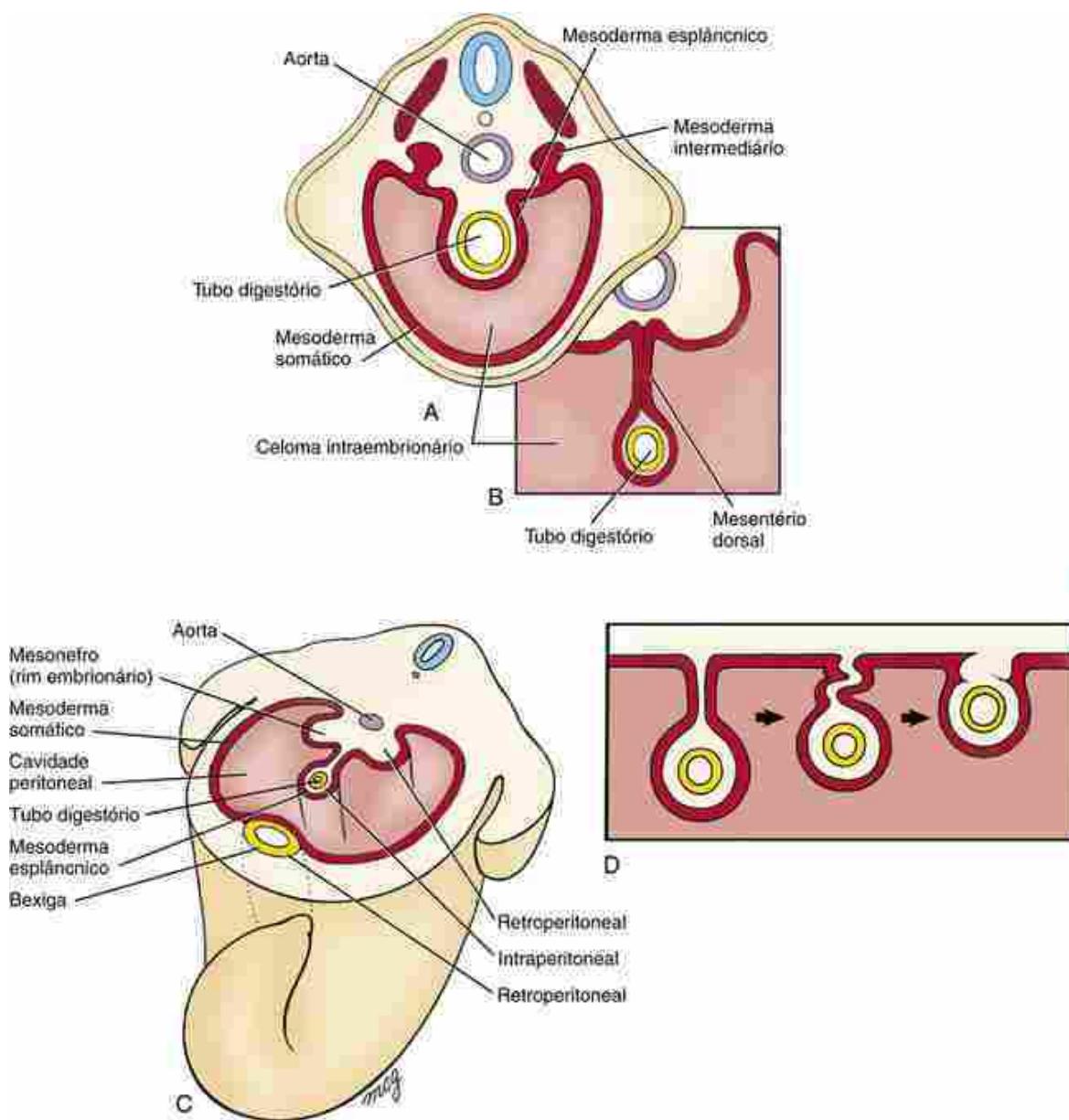


FIGURA 14-3 Formação do mesentério dorsal. A, O tubo digestório primitivo inicialmente pende a partir da parede posterior do corpo por uma ampla barra de mesênquima, mas (B) nas regiões inferiores ao septo transverso, esta conexão se adelgaça para formar um mesentério dorsal membranoso composto de peritônio refletido. C, Vísceras suspensas dentro da cavidade peritoneal por um mesentério denominadas intraperitoneais, enquanto os órgãos embutidos na parede do corpo e recobertos por peritônio são denominados retroperitoneais. D, O mesentério que suspende alguns órgãos intraperitoneais desaparece à medida que o mesentério e o órgão se fundem com a parede do corpo. Estes órgãos são, então, denominados secundariamente retroperitoneais.

Em contraste com a localização intraperitoneal da maior parte do tubo digestório primitivo e seus derivados, alguns dos órgãos viscerais se desenvolvem associados à parede do corpo e estão separados do celoma por uma cobertura formada pela membrana serosa (no caso, o peritônio) (Fig. 14-3C). Esses órgãos são denominados **retroperitoneais**. É importante perceber que a designação *retroperitoneal* significa que um órgão está localizado atrás do peritônio a partir de um ponto de vista no interior da cavidade peritoneal – não que esteja necessariamente localizado na parede *posterior* do corpo. Assim, os rins são retroperitoneais, da mesma forma que é a bexiga, a qual se desenvolve na parede anterior do corpo (Fig. 14-3C).

Para complicar ainda mais a distinção entre intraperitoneal e retroperitoneal, algumas partes do tubo digestório que

estão inicialmente suspensas pelo mesentério mais tarde se fundem à parede do corpo, assumindo assim a aparência de órgãos retroperitoneais (Fig. 14-3D). Esses órgãos, os quais incluem os colos ascendente e descendente, o duodeno e o pâncreas, são denominados **secundariamente retroperitoneais**.

Ao final da 4^a semana, quase todo o tubo digestório abdominal – a porção dentro da cavidade peritoneal, a partir da região abdominal do esôfago até a extremidade superior da cloaca em desenvolvimento – encontra-se suspenso pelo mesentério dorsal.

Exceto na região do estômago em desenvolvimento, as cavidades celomáticas no mesoderma da placa lateral a ambos os lados do disco embrionário coalescem durante o dobramento para formar uma única cavidade peritoneal contínua. Na região do estômago, o tubo digestório permanece conectado à parede ventral do corpo pelo espesso septo transverso. Por volta da 5^a semana, a porção caudal do septo transverso se adelgaça para formar o **mesentério ventral** que conecta o estômago e o fígado em desenvolvimento à parede ventral do corpo (Fig. 14-4).

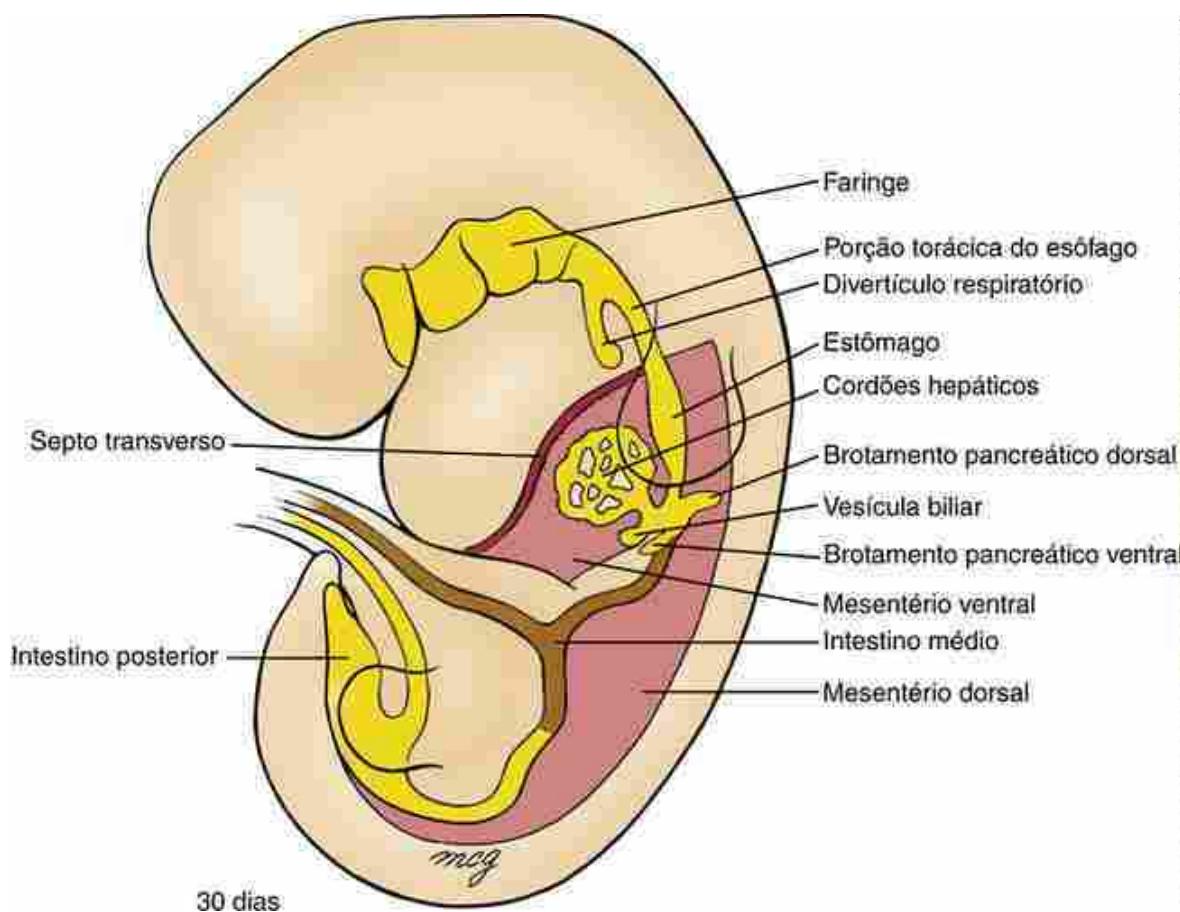


FIGURA 14-4 As três subdivisões do tubo digestório. O intestino anterior consiste na faringe (localizada cranialmente ao divertículo respiratório), na região torácica do esôfago e na porção abdominal do intestino anterior. A porção abdominal do intestino anterior forma a porção abdominal do esôfago, o estômago e metade do duodeno; ele também dá origem ao fígado, à vesícula biliar, ao pâncreas e seus ductos associados. O intestino médio forma metade do duodeno, o jejunum e o ileo, o colo ascendente e cerca de dois terços do colo transverso. O intestino posterior forma um terço do colo transverso, o colo descendente e o colo sigmoide e os dois terços superiores do canal anorrectal. A porção abdominal do esôfago, o estômago e a parte superior do duodeno são suspensos pelos mesentérios dorsal e ventral; o tubo digestório abdominal, com exceção do reto, é suspenso na cavidade abdominal por apenas um mesentério dorsal.

As três regiões do intestino primitivo

Por convenção, os termos *intestino anterior*, *intestino médio* e *intestino posterior* correspondem aos territórios das três artérias que suprem o tubo digestório abdominal. Conforme descrito no Capítulo 13, o tubo digestório e seus derivados são vascularizados por ramos ventrais ímpares da aorta descendente. Esses ramos se desenvolvem por um processo de consolidação e redução dos plexos das artérias vitelinas esquerda e direita que surgem no saco vitelínico, se disseminam para vascularizar o tubo digestório e se anastomosam com as aortas dorsais (Fig. 13-15). Cerca de cinco ramos aórticos definitivos suprem a parte torácica do intestino anterior (a faringe e a parte torácica do esôfago; o

desenvolvimento da parte faríngea do intestino anterior é descrito no Cap. 17). Três artérias servem o restante do tubo digestório: o **tronco celíaco**, o qual supre a porção abdominal do intestino anterior (porção abdominal do esôfago, estômago e a metade cranial do duodeno e seus derivados); o **tronco mesentérico superior**, o qual supre o intestino médio; e a **artéria mesentérica inferior**, a qual supre o intestino posterior. Os termos *intestino anterior* e *intestino posterior* são também usados para descrever as regiões endodérmicas cranial e caudal aos portais intestinais anterior e posterior, respectivamente.

Estudos moleculares mostram que diferentes segmentos endodérmicos são marcados por padrões específicos de expressão de genes segmentares e homeóticos no tubo digestório em desenvolvimento bem antes da formação das três artérias que suprem o tubo digestório e são usados por convenção para subdividi-lo em regiões de intestino anterior, intestino médio e intestino posterior (Fig. 14-5). Por exemplo, durante o estágio tardio da gastrulação do camundongo, Lhx1 (Lim homeobox-1), Hesx1 (*homeobox expressed in ES cells-1*) e Cerl (*cerberus-like*) são expressos no endoderma cranial definitivo, enquanto a expressão de Cdx (*caudal-type homeobox*) demarca o endoderma caudal.

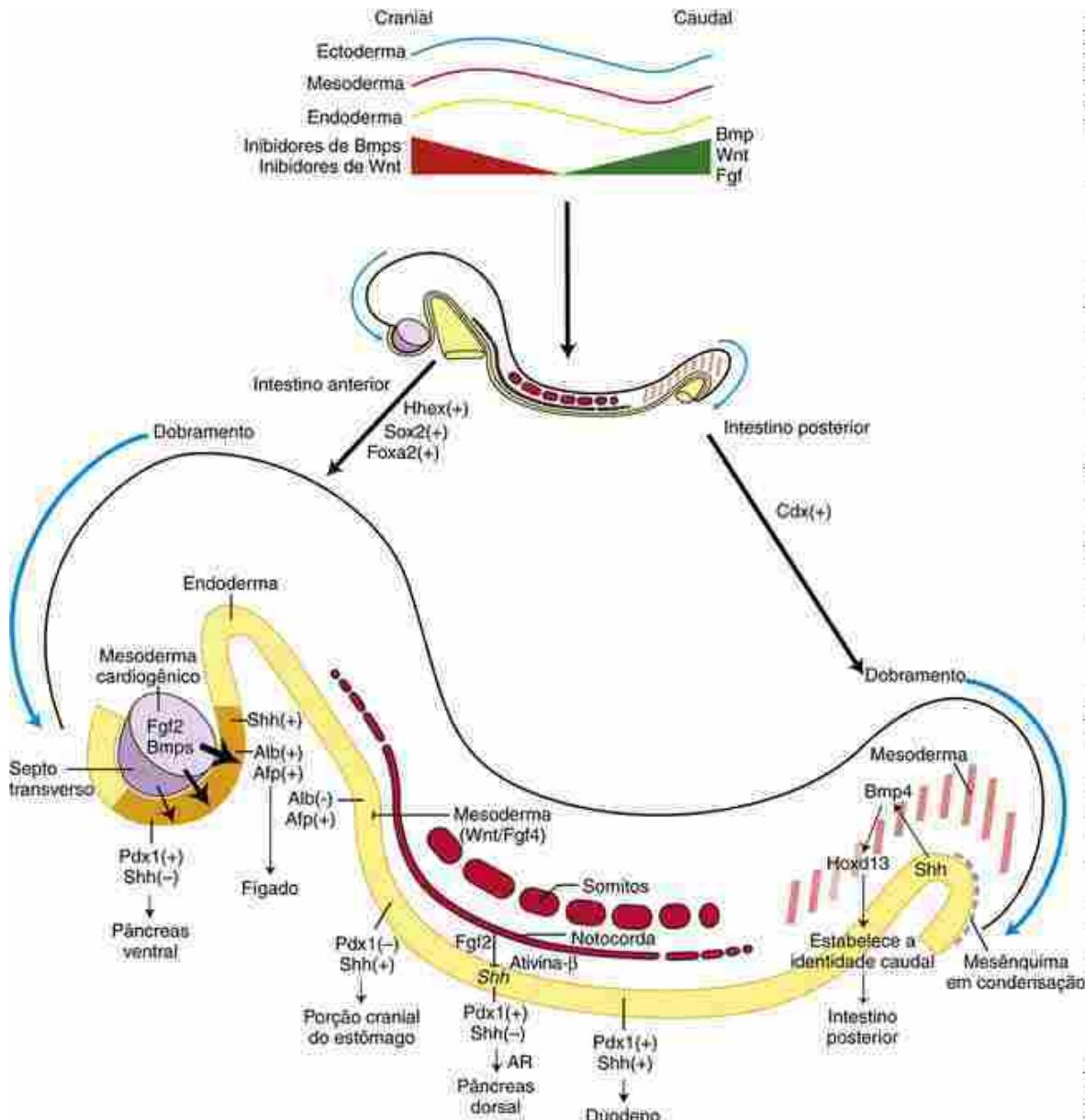


FIGURA 14-5 Sinais e fatores de transcrição importantes para o estabelecimento das diferenças regionais no desenvolvimento inicial do trato gastrintestinal. O desenho na parte de cima ilustra a padronização cranial-caudal inicial do endoderma durante o final da gastrulação. Gradientes de Wnt, antagonistas de Wnt, Bmps e Fgfs estabelecem padrões de expressão para os fatores de transcrição do intestino anterior e do intestino posterior (p. ex., Hhex, Cdx). Considera-se que o ácido retinoico regule os limites de expressão entre Pdx1 e Cdx e auxilie no estabelecimento da futura posição do pâncreas dorsal. Os dois desenhos na parte de baixo representam um embrião precoce de mamífero logo após o início do dobramento do corpo do embrião e mostra alguns dos eventos de sinalização e fatores de transcrição envolvidos na especificação do fígado, do pâncreas e do intestino posterior. Após o início do dobramento na região céfala do embrião, o endoderma da região ventral do intestino anterior está situado adjacente ao mesoderma cardiológico e ao septo transverso, ambos em posição caudal. As interações tecido-tecido entre o mesoderma cardiológico e o endoderma desempenham um papel fundamental. Bmps e altos níveis de Fgfs induzem a expressão de marcadores hepáticos no endoderma (p. ex., albumina, alfafetoproteína) enquanto reprimem o desenvolvimento do pâncreas ventral por meio do aumento da expressão de Shh. Baixos níveis de Fgfs permitem a expressão de Pdx, uma homeoproteína que atua como marcador pancreático/duodenal, o qual promove o desenvolvimento do pâncreas ventral. Grande parte do endoderma expressa Shh, mas este é reprimido pela liberação de Fgf2 e de ativina- β pela notocorda, demarcando a futura região do pâncreas dorsal. A expressão de Shh no endoderma do intestino posterior induz a expressão de Bmp4 e de Hoxd13 no mesoderma caudal. Shh e Bmp4 induzem apenas a expressão de Hoxd13 na porção caudal do tubo digestório, possivelmente devido à restrição caudal da expressão de Cdx estabelecida durante a gastrulação. Hoxd13 impõe uma identidade caudal ao intestino posterior. Afp, alfafetoproteína; Alb, albumina; AR, ácido retinoico.

No Laboratório de Pesquisa

A regionalização do tubo digestório demarca os locais de formação dos órgãos

A regionalização do tubo digestório desempenha um importante papel na demarcação dos locais de formação de órgãos. A especificação regional do endoderma e sua interação com o mesoderma, as células da crista neural, e o ectoderma desempenham papéis importantes na mediação do desenvolvimento dos arcos faríngeos e da vascularização da faringe, bem como na formação de órgãos na região cefálica (descrito nos [Caps. 13 e 17](#)). O texto a seguir está limitado ao desenvolvimento gastrointestinal caudal até os arcos faríngeos.

Como o endoderma primitivo obtém sua identidade cranial-caudal? Pouco se sabe a respeito da regionalização do endoderma primitivo em comparação ao que se sabe a respeito do ectoderma e do mesoderma. O ectoderma e o mesoderma adquirem grande parte de sua identidade regional durante a gastrulação, por meio de uma variedade de moléculas de sinalização derivadas da linha primitiva e do organizador primitivo (o nó primitivo em seres humanos) ([Cap. 3](#)). Essas mesmas moléculas de sinalização são agora conhecidas como partes envolvidas na regionalização do endoderma. Um dos primeiros marcadores conhecidos por delinear diferenças regionais do endoderma definitivo foi descoberto a partir de um trabalho em *Drosophila*, onde o gene caudal foi identificado e descoberto como necessário para a formação do tubo digestório ([Fig. 14-5](#)). Os homólogos do gene caudal em vertebrados incluem Cdx1, Cdx2 e Cdx4. Em vertebrados, o Cdx2 é expresso no endoderma, mesoderma e ectoderma caudais de embriões em estágio de linha primitiva antes da expressão da maioria dos genes Hox ([Fig. 14-5](#)). A perda da expressão do Cdx2 no endoderma de camundongos transforma o endoderma do intestino posterior distal em um epitélio semelhante ao do esôfago desenvolvido a partir do intestino anterior. A expressão do gene nodal na linha primitiva promove um destino para o endoderma anterior e expressão do Hhex, um gene do endoderma anterior. Camundongos nulos para o Hhex não conseguem formar um fígado e morrem durante a embriogênese. A sinalização caudal por Wnt também é necessária para a especificação inicial do intestino posterior, uma vez que camundongos nulos para alvos subsequentes da cascata deflagrada por Wnt, Tcf4 e Tcf1 exibem severos encurtamentos caudais. Outros genes importantes na regionalização inicial do tubo digestório incluem Shh, Fgfs, Bmps e antagonistas da via Wnt, de modo que, em torno do final da gastrulação, o endoderma seja dividido em amplas regiões ao longo do eixo craniocaudal.

Conforme indicado anteriormente, o processo de regionalização do tubo digestório nos intestinos anterior, médio e posterior é provavelmente iniciado por eventos que ocorrem durante a gastrulação. Entretanto, a regionalização do endoderma é subsequentemente refinada por interações tecido-tecido entre os folhetos germinativos. O ectoderma suprajacente e o mesoderma fornecem não apenas influências permissivas, mas também influências induktivas sobre o endoderma. Por exemplo, *in vitro*, o endoderma cranial de camundongo em embriões pré-somíticos pode ser reespecificado para expressar marcadores endodérmicos caudais por meio de interações com o mesoderma caudal. Entretanto, por volta do estágio somático inicial, o endoderma é mais restrito em seu potencial de desenvolvimento. Vários fatores de transcrição e morfógenos envolvidos no refinamento da regionalização do tubo digestório foram identificados; alguns deles estão ilustrados nas [Figuras 14-5 e 14-6](#) e são descritos brevemente a seguir.

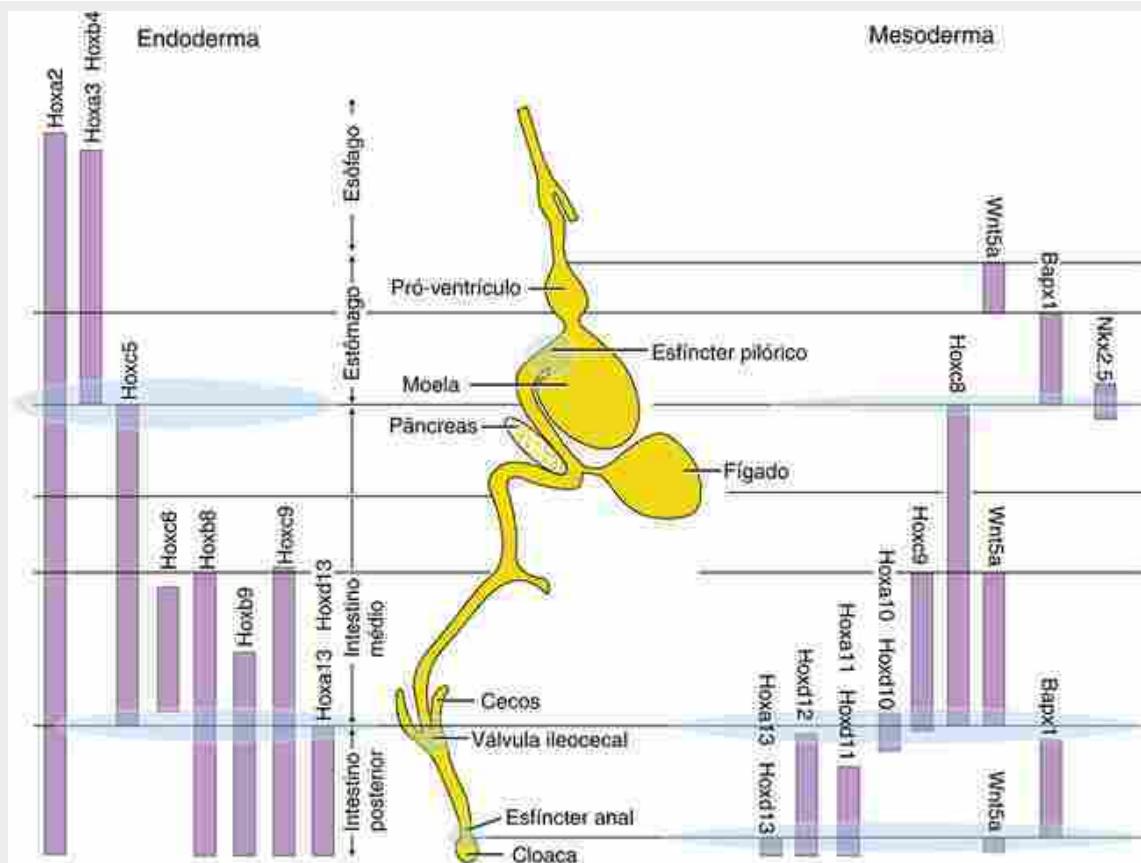


FIGURA 14-6 Limites de expressão do gene Hox no endoderma e no mesoderma durante o desenvolvimento inicial do tubo digestório de galinha. Combinações específicas da expressão do gene homeobox podem ser mapeadas para regiões específicas do trato gastrointestinal, e algumas combinações demarcam a posição dos esfínteres e dos órgãos. Os padrões de expressão regional de ortólogos de camundongos são semelhantes.

Após a iniciação do dobramento na região cefálica do embrião, o endoderma ventral do intestino anterior encontra-se adjacente ao mesoderma cardiógeno, em posição caudal. Em embriões de peixe, galinha e camundongo, o mesoderma cardiógeno – por meio da liberação de Bmps e Fgfs – estimula a expressão de Shh no endoderma ventral do intestino anterior, promovendo assim o desenvolvimento do fígado (expressão de marcadores hepáticos, albumina, e alfafetoproteína) e reprimindo o desenvolvimento do pâncreas (Fig. 14-5). Em regiões onde o endoderma ventral do intestino anterior é exposto a baixos níveis do Fgf2, o endoderma começa expressando Pdx1 (gene homeobox para a formação do pâncreas e do duodeno), o qual, por sua vez, reprime a expressão de Shh e sustenta o desenvolvimento do pâncreas. No endoderma dorsal do intestino anterior, de natureza não hepática, a expressão de marcadores hepáticos é reprimida pelo mesoderma axial dorsal sobrejacente (possivelmente através da sinalização por Wnt e Fgf4). Desse modo, as interações entre o mesoderma e o endoderma desempenham papéis cruciais em ditar o desenvolvimento regional de órgãos.

O endoderma do intestino anterior forma muitas regiões do trato gastrointestinal, incluindo o esôfago, estômago, pâncreas e duodeno. O Pdx1 é expresso no estômago primitivo e no endoderma pré-pancreático dorsal e ventral e pré-duodenal (Fig. 14-5). Em camundongos, o Shh é expresso ao longo de todo o comprimento dessas regiões endodérmicas, exceto no local de formação dos brotamentos pancreáticos. Perturbações na sinalização do Shh no endoderma que expressa o Pdx1 resultam na expressão ectópica de insulina no estômago e no duodeno, sugerindo que o Shh normalmente reprime a expressão do destino da célula pancreática em todo o endoderma Pdx1-positivo.

O endoderma dorsal do tubo digestório está em contato com a notocorda, e sua interação é necessária para o desenvolvimento do brotamento pancreático dorsal propriamente dito. Estudos em diversas espécies mostram que a notocorda reprime especificamente a expressão de Shh no endoderma pré-pancreático por meio da liberação de Fgf2 e ativina- β , consequentemente removendo seu efeito repressor sobre a expressão de Pdx1 e promovendo o desenvolvimento do brotamento pancreático dorsal (Fig. 14-5). A indução do brotamento pancreático dorsal também requer a sinalização do ácido retinoico, a qual parece regular os limites de expressão do Pdx1 e do Cdx, corroborando a posição do primódio dorsal do pâncreas.

A notocorda é finalmente deslocada da proximidade com o endoderma pancreático pela fusão com as aortas dorsais, e isso posiciona o endoderma pancreático sob a influência de células endoteliais. Recentes estudos *in vivo* e

in vitro em *Xenopus* e em camundongos mostram que o Vegf liberado pelas células endoteliais das aortas dorsais promove a especificação do destino das células endócrinas pancreáticas.

Os genes Hox também são expressos no endoderma do tubo digestório e desempenham papéis importantes na especificação regional e no desenvolvimento do tubo digestório (Figs. 14-5 e 14-6). Na galinha, a expressão do gene Hoxa3 é regionalmente restrita, demarcando os limites entre o intestino anterior e o intestino médio, sendo a expressão do Hoxd13 limitada ao mesoderma do intestino posterior em posição mais caudal. Interações entre o endoderma e o mesoderma do intestino posterior parecem ser responsáveis por restringir a expressão do Hoxd13. O Hoxd13 impõe a identidade caudal ao intestino posterior porque, quando mal expresso no mesoderma mais cranial de embriões de galinha, o endoderma do estômago pode ser transformado em endoderma intestinal. Os genes Hox também desempenham um papel na demarcação de regiões do trato gastrointestinal, particularmente especificando os locais de formação de esfíncteres que separam os segmentos do tubo digestório (Fig. 14-6). Por exemplo, camundongos nulos para Hoxd12 ou Hoxd13 apresentam graves defeitos musculares no esfíncter anal, e camundongos nulos para todo o grupo de genes Hoxd entre o Hoxd4 e Hoxd13 carecem de esfíncteres ileocecais e formam esfíncteres pilórico e anal anormais.

Desenvolvimento do intestino anterior abdominal

Formação e rotação do estômago

O estômago primeiramente se torna aparente durante a parte inicial da 4^a semana, à medida que o intestino anterior imediatamente caudal ao septo transverso se expande ligeiramente. Em cerca de 26 dias, a porção torácica do intestino anterior começa a se alongar rapidamente. Ao longo dos próximos 2 dias, o presumível estômago, agora muito mais distante dos brotamentos pulmonares, expande-se subsequentemente em uma estrutura fusiforme (do latim, “em forma de fuso”) que é prontamente distinguida das regiões adjacentes do tubo digestório (Fig. 14-7). Durante a 5^a semana, a parede dorsal do estômago cresce mais rápido do que a parede ventral, resultando na formação da **curvatura maior do estômago**. Ao mesmo tempo, a deformação da parede ventral do próprio estômago forma a **curvatura menor do estômago**. Ao final da 7^a semana, a expansão diferencial contínua da parte superior da curvatura maior resulta na formação do **fundo** e da **incisura cárдica**.

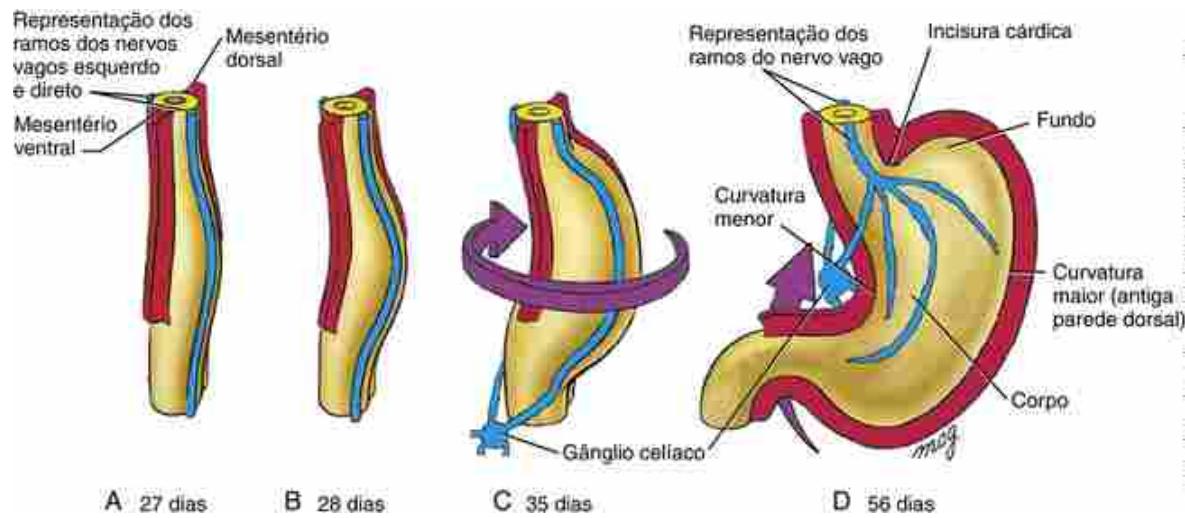


FIGURA 14-7 Rotação do estômago. A-C, Vistas frontais oblíquas. D, Vista frontal direta. A parede posterior do estômago se expande durante a 4^a e a 5^a semanas para formar a curvatura maior. Durante a 7^a semana, o estômago sofre uma rotação em sentido anti-horário em seu eixo longitudinal (quando observado de cima). As setas indicam as direções do movimento.

Durante a 7^a e 8^a semanas, o estômago em desenvolvimento sofre uma rotação de 90 graus em torno do seu eixo craniocaudal, de modo que a curvatura maior se posicione à esquerda e a curvatura menor se posicione à direita (Fig. 14-7D). Considera-se que alterações celulares e estruturais no **mesogastro dorsal** (a porção do mesentério dorsal fixada ao estômago) desempenham um papel nesta rotação (descrita adiante neste capítulo). Os plexos vagais direito e esquerdo, que originalmente seguem pelo mesoderma a ambos os lados do tubo digestório, por consequência rodam para se tornar os troncos vagais posterior (dorsal) e anterior (ventral) na região do estômago. Entretanto, fibras dos plexos vagais esquerdo e direito se misturam até certo ponto e também se conectam com o plexo celíaco, de forma que as porções caudais dos troncos vagais anterior e posterior contenham fibras das porções craneais de cada um dos

plexos vagais. O estômago também sofre uma ligeira rotação em torno de um eixo ventrodorsal, de modo que a curvatura maior fique ligeiramente voltada em direção caudal e a curvatura menor voltada ligeiramente em direção cranial ([Fig. 14-7D](#)).

As rotações do estômago dobram o presumível duodeno em um formato de C e o deslocam para a direita até que ele se posicione contra a parede dorsal do corpo, à qual ele adere, tornando-se assim secundariamente retroperitoneal. A rotação do estômago e a fusão do duodeno criam um nicho dorsal ao estômago denominado **pequeno saco da cavidade peritoneal** ([Fig. 14-8](#)). O restante da cavidade peritoneal é agora chamado de **grande saco peritoneal**. O pequeno saco aumenta de tamanho devido à progressiva expansão do mesogastro dorsal que conecta o estômago à parede posterior do corpo. A resultante grande prega do mesogastro suspensa, denominada **omento maior**, pende a partir da parede dorsal do corpo e da curvatura maior do estômago e se projeta por sobre os órgãos em posição mais inferior da cavidade abdominal ([Fig. 14-8C](#)). A porção do pequeno saco em posição diretamente dorsal ao estômago é agora chamada de **recesso superior do pequeno saco**, enquanto a cavidade no omento maior é denominada **recesso inferior do pequeno saco**. O recesso inferior é obliterado durante a vida fetal à medida que as pregas anterior e posterior do omento maior se fundem.

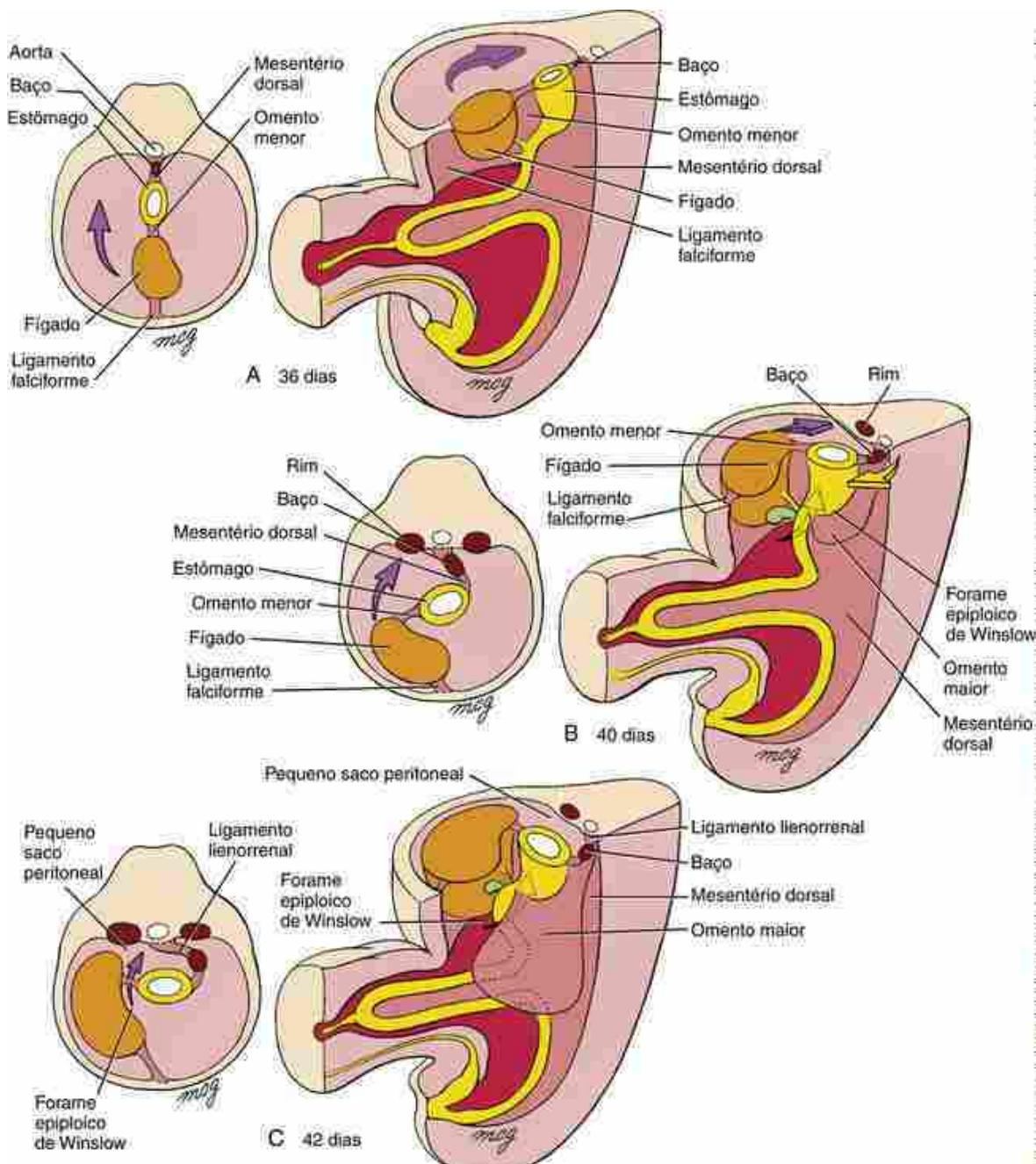


FIGURA 14-8 Desenvolvimento do omento maior e do pequeno saco peritoneal. *A e B*, A rotação do estômago e o crescimento do mesogastro dorsal cria um saco (o omento maior) que pende a partir da curvatura maior do estômago. *B e C*, Quando o duodeno se desloca para a direita, ele se funde secundariamente à parede do corpo, delimitando o espaço posterior ao estômago, e se volta para dentro da cavidade do omento maior em expansão. Este espaço é o pequeno saco da cavidade peritoneal. O restante da cavidade peritoneal é agora denominado grande saco peritoneal. A principal passagem entre o grande saco e o pequeno saco é o forame epíplico de Winslow. As setas curvas indicam as direções do movimento; a cor vermelha indica o espaço circunjacente à alça intestinal do intestino médio à medida que ela inicia sua herniação para dentro do cordão umbilical.

Desenvolvimento do fígado e da vesícula biliar

Por volta do 22º dia, um pequeno espessamento endodérmico, a **placa hepática**, se forma na face ventral do duodeno. Ao longo dos próximos dias, as células nesta placa proliferam e formam o **divertículo hepático**, o qual cresce em meio às células mesenquimais que dão origem à região inferior do septo transverso (Fig. 14-9). O divertículo hepático dá origem aos cordões ramificados de **hepatoblastos** (as células primordiais do fígado). Sob a influência da sinalização notch e outras proteínas reguladoras (assunto apresentado a seguir no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação e Destino dos Hepatoblastos”), os hepatoblastos se tornam **hepatócitos** (parênquima), **canalículos biliares** do fígado ou **ductos hepáticos**. Em contraste, o **estroma de sustentação** do fígado, de natureza mesoblástica,

se desenvolve a partir do septo transverso e do mesoderma esplâncnico que se origina próximo ao estômago, assim como também a partir das células precursoras endoteliais (que se desenvolvem no **endotélio sinusoidal** do fígado). O mesoderma cardiolítico, o endotélio e células mesenquimais do septo transverso emitem sinais de fatores de crescimento (incluindo Vegfs, Bmps, e Fgfs) que são necessários para o desenvolvimento do parênquima do fígado (descrito a seguir no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação e Destino dos Hepatoblastos”).

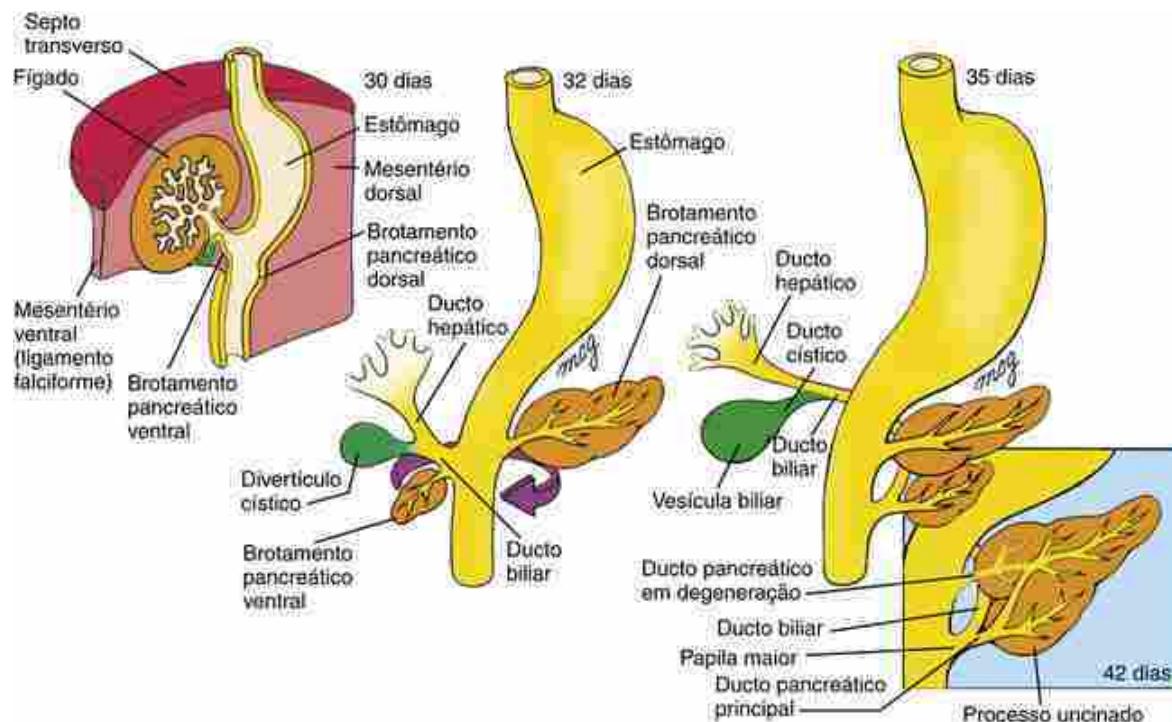


FIGURA 14-9 Desenvolvimento do fígado, da vesícula biliar, do pâncreas e de seus sistemas de ductos a partir de divertículos endodérmicos derivados da região do duodeno. O brotamento hepático surge durante a 4^a semana e se expande em meio ao mesentério ventral. O divertículo cístico e o brotamento pancreático ventral também crescem em meio ao mesentério ventral, enquanto o brotamento pancreático dorsal cresce em meio ao mesentério dorsal. Durante a 5^a semana, o brotamento pancreático ventral migra ao redor do lado posterior (antigo lado direito) do duodeno para se fundir com o brotamento pancreático dorsal. O ducto principal do brotamento ventral finalmente se torna o ducto pancreático principal, o qual drena todo o pâncreas.

Conforme descrito no [Capítulo 13](#), o fígado é o principal **órgão hematopoiético** inicial do embrião. As células-tronco hematopoiéticas se originam a partir da parede do saco vitelínico (e mais tarde a partir de regiões AGM [aórtica, gonadal e mesonéfrica]), colonizam o fígado embrionário, expandem suas quantidades e se diversificam antes de povoar outros órgãos hematopoiéticos. Progenitores hepáticos – juntamente com células do estroma hepático – produzem um microambiente hematopoiético necessário para a hematopoiese que gera células similares às adultas. À medida que a função hematopoiética é deslocada para os órgãos periféricos, os hepatócitos começam a aumentar a expressão de numerosos genes relacionados com a função do fígado maduro (p. ex., aqueles associados ao metabolismo de aminoácidos e desintoxicação). Durante todo o desenvolvimento embrionário e fetal, os hepatócitos proliferam (principalmente mediados por mecanismos autócrinos). Esta proliferação gradualmente diminui e é interrompida com o desenvolvimento pós-natal. A partir de então, a migração e a proliferação dos hepatócitos requerem fatores de crescimento externos, incluindo o Egf e o fator de crescimento de hepatócitos (Hgf).

Por volta do 26º dia, um espessamento endodérmico diferente também se forma na face ventral do duodeno imediatamente caudal à base do divertículo hepático e se projeta em direção ao mesentério ventral ([Fig. 14-9](#)). Este **divertículo cístico** formará a **vesícula biliar** e o **ducto cístico**. A vesícula biliar e o ducto cístico se desenvolvem a partir de populações histologicamente distintas de células duodenais.

No Laboratório de Pesquisa

Especificação e destino dos hepatoblastos

Conforme descrito anteriormente neste capítulo, o mesoderma cardiolítico desempenha um papel significativo na

especificação da formação do fígado e na expressão de genes hepáticos no endoderma do intestino anterior (Fig. 14-5). Entretanto, sinais adicionais que promovem a formação do fígado se originam a partir do mesoderma do septo transverso. Conforme descrito em capítulos anteriores, a sinalização por Bmp tem um papel importante no desenvolvimento do mesoderma da placa lateral, e isso também é verdade para o fígado. As Bmps são expressas no septo transverso (Fig. 14-5); em camundongos sem Bmp4, o brotamento hepático fracassa em crescer ou em expressar albumina. Conforme descrito anteriormente neste capítulo, Fgfs derivados da região cardiogênica adjacente estimulam a expressão de albumina no primórdio endodérmico do fígado. Em culturas de explantes de primórdios de fígado, a proteína noggin (um antagonista das Bmps) inibe a expressão de albumina induzida por Fgfs. Embora as Bmps sozinhas sejam insuficientes para induzir o desenvolvimento hepático, o bloqueio da sinalização por Bmps com noggin aumenta a expressão do marcador pancreático Pdx1 neste endoderma. Consequentemente, as Bmps contribuem para a padronização do endoderma mediada por Fgf promovendo o fenótipo hepático e reprimindo o fenótipo pancreático. Os alvos subsequentes estimulados por Fgfs e Bmps que induzem a formação da linhagem e a proliferação de hepatoblastos permanecem pouco claros, mas podem incluir Gata4, Hnf3 (*fator nuclear hepático 3, hepatic nuclear factor-3*) e C/EBP (*CAAT-enhancer binding proteins*). A sinalização por Wnt também tem sido relacionada ao desenvolvimento do fígado e é necessária para a especificação da linhagem de ductos biliares em camundongos.

Há muito mais a ser aprendido a respeito de como os hepatoblastos adquirem um destino de hepatócitos ou de células de ductos biliares. Vários fatores têm sido implicados na mediação da determinação celular dessas duas linhagens. Como na segregação das células precursoras neuronais e gliais a partir do neuroepitélio (Cap. 9), a sinalização por notch parece ter um papel na mediação da decisão quanto ao fato de um hepatoblasto se tornar um hepatócito ou uma célula de revestimento do ducto biliar (**colangiócitos**). Conforme descrito nos Capítulos 3, 5, 12 e 13, as mutações no JAGGED 1 (um ligante de NOTCH) (ou no receptor NOTCH2) estão associadas à **síndrome de Alagille**, de natureza autossômica dominante. Esses pacientes exibem escassez de ductos biliares. Camundongos duplos heterozigotos para uma mutação nula em jagged1 e notch2 carecem de ductos biliares intra-hepáticos ao nascimento e mimetizam a síndrome de Alagille. Estudos recentes em camundongos também mostram que jagged1 é expresso em células adjacentes ao epitélio notch2-positivo no local da diferenciação biliar, e que o notch2 reprime a linhagem dos hepatócitos. Consequentemente, as interações jagged1/notch2 parecem ter um papel crítico na determinação de hepatócitos/colangiócitos.

Uma importante alteração nas funções do fígado ocorre próximo ao nascimento à medida que a responsabilidade da hematopoiese é transferida do fígado, e o fígado começa a assumir funções metabólicas e detoxificantes. Um grupo de fatores de transcrição importantes na mediação dessas funções é a família dos fatores nucleares de hepatócitos (Hnfs). Os Hnfs ativam genes específicos do fígado. Camundongos com o gene Hnf4 α deletado do primórdio do fígado por meio do sistema cre-lox (Cap. 5) desenvolvem fígados pequenos que apresentam um epitélio desorganizado e não expressam quase todos os genes hepáticos específicos. Entretanto, a expressão forçada do Hnf4 α em culturas de fibroblastos não induz a expressão de genes hepáticos específicos, mesmo que os fibroblastos assumam uma morfologia similar a células epiteliais. Isso sugere que outros fatores determinantes de linhagens celulares estejam em atividade antes que os Hnfs possam iniciar a expressão de genes hepáticos específicos.

Outro fator de transcrição que ativa vários genes hepáticos e está envolvido na alteração funcional para amadurecer a função hepática é o C/EBP α . Os camundongos deficientes em C/EBP α morrem ao nascimento devido a hipoglicemia. Embora o parênquima hepático pareça normal, os hepatócitos são deficientes em sua capacidade em armazenar glicogênio e lipídios. Outras moléculas envolvidas na maturação fetal tardia do fígado são a oncostatina M e glicocorticoides. A oncostatina M estimula a expressão de marcadores de diferenciação hepática, estimula a morfologia semelhante à hepática e induz a expressão de genes hepáticos específicos em culturas de explantes de progenitores hepáticos. Os glicocorticoides sozinhos são capazes de induzir a maioria das respostas celulares típicas da diferenciação hepática promovidas pela oncostatina M, sugerindo que eles trabalham juntos para promover o amadurecimento do fígado. Outros fatores envolvidos na maturação hepática parecem incluir o Hgf (com expressão aumentada durante lesão hepática e na regeneração hepática) e o Tgf β (o qual pode inibir a proliferação de hepatócitos e promover a diferenciação).

Desenvolvimento do pâncreas

No 26º dia, outro brotamento duodenal começa a crescer em direção ao mesentério dorsal em posição imediatamente oposta ao divertículo hepático. Este divertículo endodérmico é o **brotamento pancreático dorsal** e formará o pâncreas dorsal (Fig. 14-9). À medida que o brotamento pancreático dorsal se alonga em meio ao mesentério dorsal, outro divertículo endodérmico, o **brotamento pancreático ventral**, se projeta para dentro do mesentério ventral em posição imediatamente caudal à vesícula biliar em desenvolvimento. Este brotamento formará o pâncreas ventral e o ducto

biliar principal (Fig. 14-9).

Uma vez especificado, o brotamento endodérmico pancreático se espessa e continua a se expandir em direção ao mesoderma intimamente justaposto. A ramificação desse brotamento ocorre diferentemente da ramificação clássica de outros órgãos, como a do pulmão em desenvolvimento (Fig. 14-10A). Em vez de ocorrer a expansão e o subsequente pregueamento do epitélio, há a formação de grupamentos epiteliais sólidos, seguida pela produção de microlumens intraepiteliais. Estes microlumens logo coalescem para gerar lumens contínuos, formando uma árvore epitelial que drena os produtos exócrinos para o duodeno (Fig. 14-10B). As **células acinosa**s pancreáticas que produzem as enzimas digestivas, as **células ductais** pancreáticas que transportam as enzimas digestivas e as **células endócrinas** pancreáticas nas **ilhotas de Langerhans** que produzem insulina, glucagon, somatostatina, polipeptídeo pancreático e grelina, todas se diferenciam a partir do endoderma dos brotamentos pancreáticos. A linhagem de células endócrinas prolifera em meio ao epitélio endodérmico, e logo se destacam, subsequentemente se agregando em ilhotas em meio ao mesênquima circunjacente (Fig. 14-10B), onde elas continuam a proliferar durante o período embrionário.

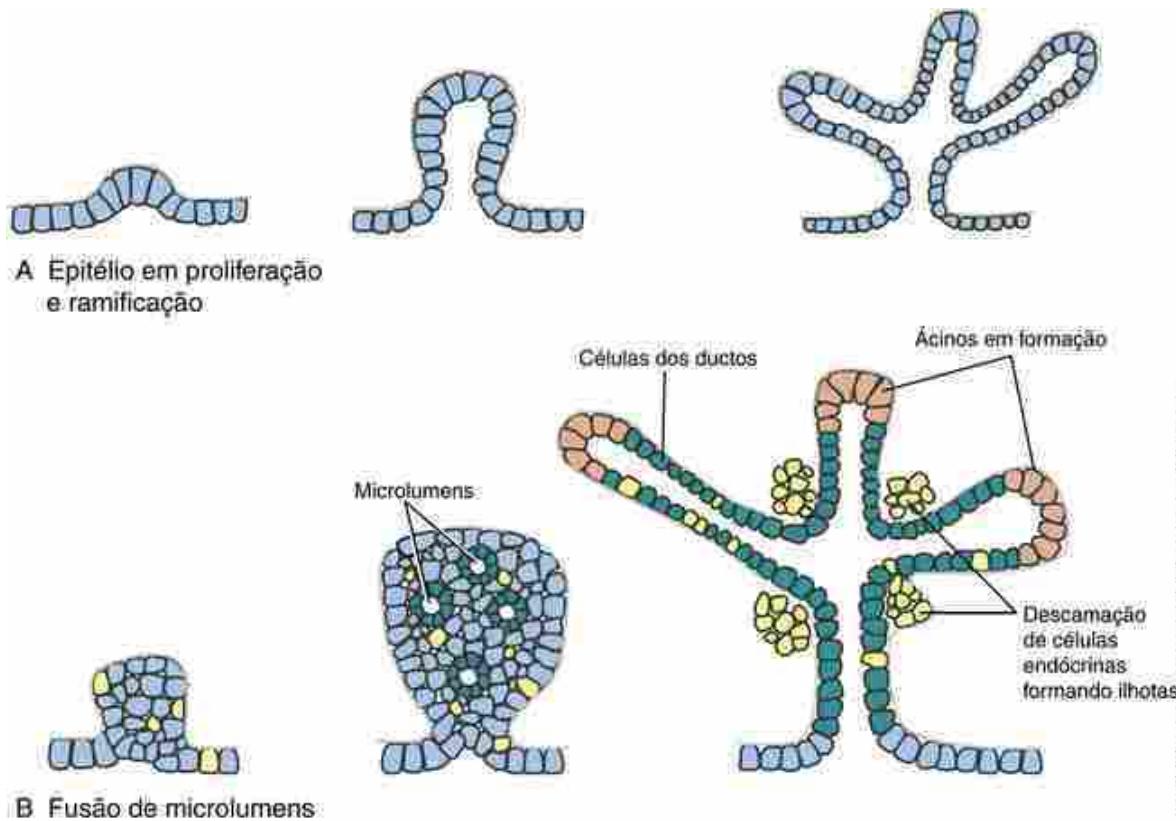


FIGURA 14-10 Representação diagramática dos mecanismos básicos de ramificação para a formação de glândulas tubulosas. A, Mecanismo clássico de ramificação pelo qual o epitélio em expansão se projeta em pregas epiteliais. B, Mecanismo de ramificação pelo qual um epitélio de camada única em proliferação é convertido em múltiplas camadas e se torna estratificado. Em seguida, ocorre a formação de microlumens que coalescem em meio ao epitélio para formar lumens ramificados. Agregados de células endócrinas (em amarelo) se destacam a partir do epitélio para formar ilhotas dispostas perifericamente às células ductais (em verde) e acinosa (em vermelho) em desenvolvimento. A formação de uma linhagem celular endócrina em meio ao epitélio inicial está indicada em amarelo.

As interações com o mesoderma desempenham um papel essencial no crescimento e na diferenciação do pâncreas, e a expressão de vários fatores de transcrição promotores de crescimento no mesoderma é importante neste processo. O Fgf10 é expresso no mesoderma pancreático, e camundongos nocauteados para Fgf10 apresentam brotamentos pancreáticos dorsais e ventrais hipoplásicos. A Isl1 (*insulin gene enhancer protein-1* – proteína potenciadora do gene da insulina) é expressa pelo mesoderma circunjacente aos brotamentos pancreáticos. Se a Isl1 é nocauteada em camundongos, o mesênquima pancreático é quase completamente perdido, enquanto a expressão do marcador pancreático Pdx1 é muito reduzida. Camundongos que não expressam Pbx1 (fator de transcrição da leucemia de pré-células B-1), outro marcador transcripcional expresso no endoderma e no mesoderma pancreáticos que pode atuar como um cofator para o Pdx1, exibem grave hipoplasia do pâncreas dorsal e perda do desenvolvimento dos ácinos. Esse defeito pode ser resgatado em cultura por um mesoderma do tipo selvagem.

Em seres humanos, enquanto o ducto biliar comum está se formando e o brotamento pancreático ventral está se

ramificando, proliferando e se diferenciando, a desembocadura do ducto biliar comum e o brotamento pancreático ventral migram posteriormente em torno do duodeno em direção ao mesentério dorsal (Fig. 14-9). Por volta do início da 6^a semana, os brotamentos pancreáticos ventral e dorsal se colocam em posição adjacente um ao outro no plano do mesentério dorsal. Ao final da 6^a semana, os dois brotamentos pancreáticos se fundem para formar o pâncreas definitivo. O brotamento pancreático dorsal dá origem à **cabeça**, ao **corpo** e à **cauda** do pâncreas, enquanto o brotamento pancreático ventral dá origem ao **processo uncinado**, em formato de um gancho. Como o duodeno, o pâncreas se funde à parede dorsal do corpo e se torna secundariamente retroperitoneal.

Quando os brotamentos pancreáticos ventral e o dorsal se fundem, seus sistemas de ductos também se tornam interconectados (Fig. 14-9). A porção proximal do ducto que conecta o brotamento dorsal ao duodeno geralmente degenera, deixando o ducto pancreático ventral, agora denominado **ducto pancreático principal**, como o único conduto, tanto para o pâncreas ventral quanto para o dorsal, a desembocar no duodeno. O ducto pancreático principal e o ducto biliar comum se encontram e lançam suas secreções no duodeno no nível da **papila maior do duodeno** ou **ampola de Vater**. Entretanto, em alguns indivíduos, a porção proximal do ducto pancreático dorsal persiste como um **ducto pancreático acessório** que desemboca no duodeno através da **papila menor do duodeno**.

Na Clínica

Formação e rotação anormais do pâncreas ventral

Ocasionalmente, o pâncreas forma um anel completo circundando o duodeno, uma condição conhecida como **pâncreas anular**. Como mostrado na Figura 14-11, esta anormalidade provavelmente surge quando os dois lobos de um brotamento pancreático ventral bilobado (uma variação normal) migram em direções opostas em torno do duodeno para se fundir com o brotamento pancreático dorsal. Um pâncreas anular comprime o duodeno e pode causar obstrução gastrointestinal (**estenose duodenal**). A sinalização defeituosa por *hedgehog* pode desempenhar um papel no desenvolvimento do pâncreas anular. Em camundongos, a perda da sinalização por *Ihh* (*Indian hedgehog*) leva a uma ramificação ectópica dos brotamentos pancreáticos ventrais que em seguida crescem e envolvem o duodeno, formando um pâncreas anular. A perda do *Shh* em algumas linhagens de camundongos também resulta no desenvolvimento de um pâncreas anular. Mutantes de *Shh* exibem estenose duodenal e defeitos de ânus imperfurado, e ambos os defeitos também estão associados ao pâncreas anular em humanos.

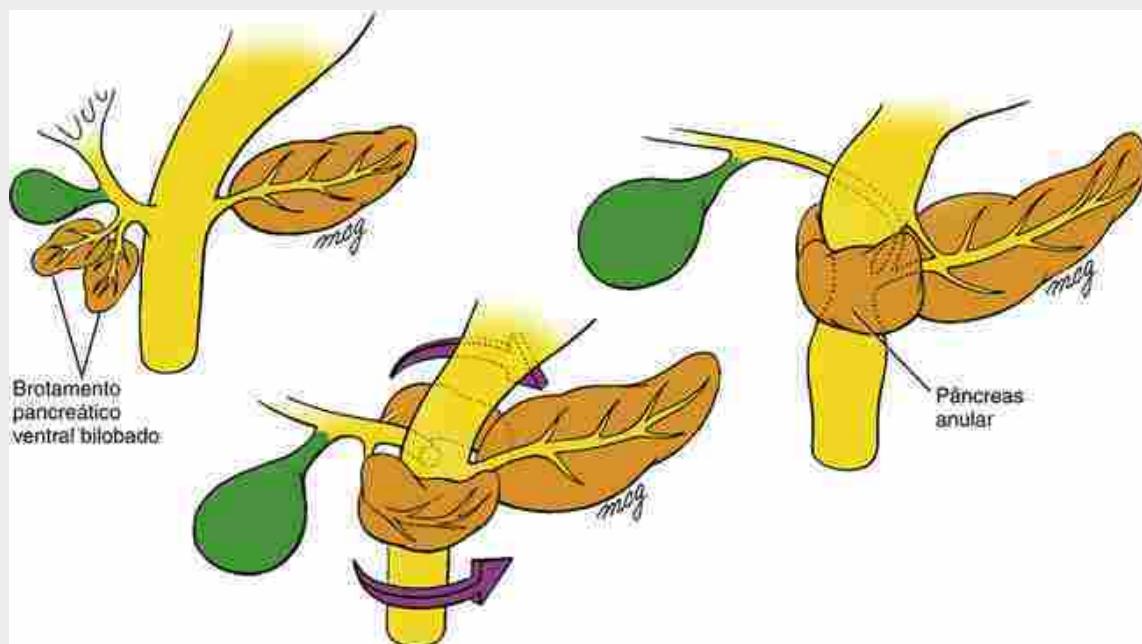


FIGURA 14-11 Formação de um pâncreas anular. O pâncreas ventral pode ser constituído por dois lobos, os quais, caso migrem ao redor do duodeno em direções opostas para se fundir com o brotamento pancreático dorsal, formam um pâncreas anular.

No Laboratório de Pesquisa

Determinação das linhagens de células pancreáticas

Com a expansão e ramificação dos brotamentos pancreáticos, o epitélio pancreático consiste em camadas contorcidas de epitélio que expressam uniformemente Pdx1. A partir deste epitélio, formam-se células exócrinas e células endócrinas. Como na especificação de células hepáticas (assunto discutido anteriormente neste capítulo no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação e Destino dos Hepatoblastos”), a sinalização notch desempenha um papel importante na mediação da especificação de células pancreáticas, consequentemente determinando quais células ativam a linhagem endócrina a partir de um progenitor bipotencial em meio ao epitélio pancreático. Um alvo subsequente da sinalização notch no endoderma pancreático é o Hes1 (*hairy and enhancer-of-split-like-1*). Este fator de transcrição diminui a expressão do fator de transcrição pró-endócrino bHLH¹ neurogenina-3 (Neurog3), um membro da família neurogenina/NeuroD (Fig. 14-12). O Neurog3 é expresso em meio a células dispersas do endoderma pancreático e continua a ser expresso em células progenitoras endócrinas ao longo do desenvolvimento pancreático e até mesmo após o nascimento. Camundongos que não expressam Neurog3 não somente falham em desenvolver células endócrinas pancreáticas, como também não apresentam células enteroendócrinas intestinais e células endócrinas gástricas. Além disso, a expressão de Neurog3 direcionada pelo promotor Pdx1 em camundongos produz enormes quantidades de células endócrinas secretoras de glucagon no tubo digestório. Na galinha, a expressão ectópica de Neurog3 induz a formação de células secretoras de glucagon no endoderma externamente ao endoderma pancreático. Finalmente, a introdução da expressão de Neurog3 em células do ducto pancreático humano em cultura诱导 a expressão de marcadores endócrinos. Assim, Neurog3 é um fator de transcrição pró-endócrino que, na ausência de sinalização notch, é suficiente para iniciar a via endócrina no epitélio pancreático. Entretanto, evidências recentes mostram que a ativação da sinalização notch em células progenitoras Neurog3-positivas pode redirecionar progenitores endócrinos iniciais em direção a um destino ductal, sugerindo que as células endócrinas pancreáticas iniciais mantêm um grau de plasticidade de desenvolvimento.

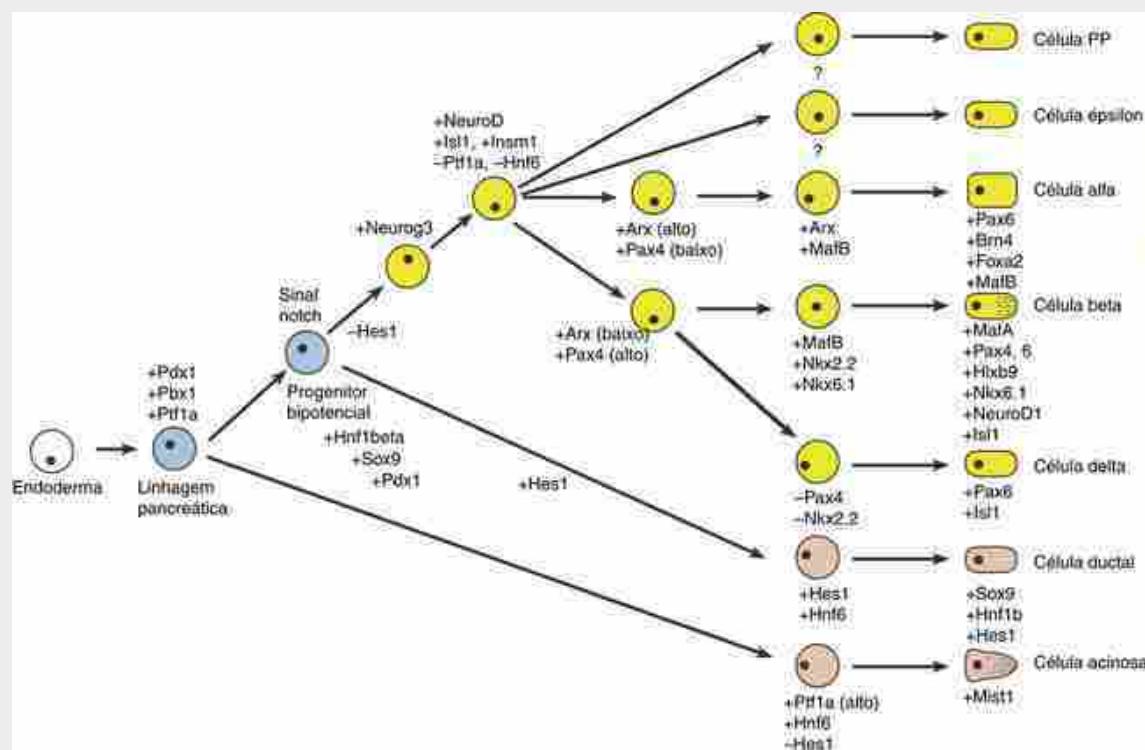


FIGURA 14-12 Ilustração mostrando nosso entendimento básico sobre os fatores de transcrição expressos (ou perdidos) ao longo das vias de linhagens celulares responsáveis pela especificação de vários tipos celulares derivados do endoderma pancreático.

As células nas quais a expressão do Neurog3 é reprimida pela sinalização notch (*i. e.,* através da expressão de Hes1) se tornam parte do pâncreas exócrino. O complexo Ptf1 (*pancreas specific transcription factor-1*, fator de transcrição específico do pâncreas-1) é importante para a especificação inicial das linhagens pancreáticas e mais

tarde para especificação das células acinosa do pâncreas (Fig. 14-12). Camundongos que não expressam o componente Ptf1a (p48) do complexo Ptf1 não desenvolvem os epitélios dos ácinos ou dos ductos, enquanto as ilhotas pancreáticas ainda se formam em meio ao mesênquima adjacente. O que controla a expressão inicial de Ptf1 nos primórdios pancreáticos ainda não está claro, mas é possível que envolva fatores liberados pela aorta dorsal e por vasos em desenvolvimento.

As células secretoras de glucagon são as primeiras células endócrinas a se formar no endoderma, aparecendo inicialmente no estágio de brotamentos pancreáticos. Por um longo período, considerava-se que essas células eram as precursoras tanto das **células alfa** (secretoras de glucagon) quanto das **células beta** (secretoras de insulina). O rastreamento de linhagens de células únicas mostrou que as células alfa e beta se originam a partir de diferentes células endócrinas que expressam Neurog3. A especificação das células alfa e beta pode depender da quantidade relativa da expressão de Pax4 e Arx (*aristaless-related homeobox*). Estudos recentes sugerem que níveis mais elevados da expressão de Pax4 em relação à expressão de Arx promovem a conversão de células beta/delta, enquanto níveis mais elevados da expressão de Arx promovem a especificação de células alfa (Fig. 14-12). Assim, o equilíbrio entre a expressão de Pax4 e Arx parece ser fundamental na determinação das linhagens de células beta ou alfa.

Nkx2.2 e Nkx6.1 atuam para promover a especificação de células beta (Fig. 14-12). Camundongos nocauteados para o Nkx2.2 produzem números iguais de células endócrinas precursoras quando comparados com suas ninhadas do tipo selvagem, mas falham em ativar o gene da insulina, sugerindo que eles apresentam uma deficiência na diferenciação das células beta. Camundongos nocauteados para Nkx6.1, um fator de transcrição expresso especificamente em células beta de ilhotas adultas, geram pequenas quantidades de células produtoras de insulina, mas falham em manter ou aumentar o seu número durante o desenvolvimento subsequente.

NeuroD1, um fator de transcrição e alvo transicional direto de Neurog3, é expresso em todas as células endócrinas do pâncreas após sua especificação. NeuroD1 desempenha um papel importante na mediação da expressão de produtos endócrinos diferenciados das ilhotas (p. ex., insulina). Camundongos sem o gene NeuroD1 desenvolvem o conjunto normal dos tipos celulares das ilhotas, mas a maturação das células beta é defeituosa após o nascimento. Mutações em NEUROD1 em seres humanos estão associadas ao **diabetes juvenil de início tardio**, no qual as células beta se tornam insensíveis aos níveis sanguíneos de glicose e/ou são incapazes de sintetizar quantidades adequadas de insulina. Mutações em NEUROD1 também estão associadas ao **diabetes do tipo II** humano. Outro fator de transcrição envolvido na especificação de células beta é o MafA (*v-Maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog A*). A expressão do MafA é limitada a células beta no pâncreas no início do desenvolvimento. Ele é um forte ativador do promotor da insulina e parece funcionar subsequentemente à ação de Nkx6.1.

Os fatores de transcrição e as etapas de especificação necessárias para o desenvolvimento de células PP e épsilon ainda são pouco compreendidos.

¹Nota da Revisão Científica: A sigla **bHLH** refere-se à família de reguladores de transcrição que possuem “*basic helix-loop-helix*”, ou seja, alça hélice-alça básica; isso representa uma sequência de cerca de 20 aminoácidos, formando dois segmentos em alfa-hélice conectados por um segmento em alça que se ligam ao DNA. Este domínio da proteína é a característica típica (assinatura) da família bHH de reguladores de transcrição.

Na Clínica

Regulação do número de células nas ilhotas

Geralmente, o número de células das ilhotas que se desenvolvem no pâncreas é estabelecido durante a vida fetal, mas pode ser influenciado por fatores como a **restrição de crescimento intrauterino** (RCIU; Cap. 6) devido a insuficiência vascular, diabetes materno e desnutrição fetal. As células das ilhotas embrionárias e fetais, como as do adulto, respondem a elevados níveis sanguíneos de glicose com hiperplasia compensatória. Esta má adaptação fetal é frequentemente observada em neonatos nascidos de mães diabéticas. Tal hiperplasia, denominada **hiperinsulinismo congênito** (algumas vezes referido pelo termo nesidioblastose; “nesidio” significa “ilhota” em grego), pode ocorrer local ou difusamente por todo o pâncreas e levar a reduções perigosas nos níveis de glicose no sangue (i. e., **hipoglicemia**), com risco de morte. A hiperinsulinemia é tipicamente tratada por terapia com diazóxido até que seja resolvida por pancreatectomia parcial ou quase total. Algumas formas de hiperinsulinismo congênito estão associadas a mutações gênicas específicas ou doenças recessivas do **RECEPTOR DE SULFONILUREIA**, mas a maioria é de causa não familiar e desconhecida.

Antes do nascimento, as células das ilhotas são geradas por meio da proliferação e diferenciação de células progenitoras pancreáticas. Conforme já mencionado, o número de ilhotas geradas no pâncreas em

desenvolvimento é influenciado pela necessidade de manter os níveis de glicose apropriados durante os períodos embrionário e fetal. Entretanto, a capacidade de gerar mais células nas ilhotas após o nascimento é grandemente reduzida. Não obstante, a população de células das ilhotas ainda pode aumentar após o nascimento, mas o faz muito pouco depois da adolescência. Estudos recentes em camundongos adultos mostraram que novas células beta da ilhotas surgem a partir de células beta preexistentes em vez de sê-lo a partir de células progenitoras pancreáticas residentes não identificadas. Consequentemente, caso células beta pancreáticas adultas humanas compartilhem esta capacidade proliferativa, a esperança é de que novas estratégias para o **diabetes do tipo I** humanos (onde as células beta tenham sido destruídas ou estejam não funcionais) possam ser desenvolvidas.

Desenvolvimento do baço

À medida que o mesogastro dorsal do pequeno saco peritoneal começa seu expansivo crescimento ao final da 4^a semana, uma condensação mesenquimal se desenvolve em meio a e próximo à parede do corpo. Esta condensação se diferencia durante a 5^a semana para formar o **baço**, um órgão linfoide intensamente vascularizado (Fig. 14-8). Condensações esplênicas menores denominadas **baços acessórios** podem se desenvolver próximo ao hilo do baço principal. É importante lembrar que o baço é um derivado mesodérmico e não um produto do endoderma do tubo digestório, como a maioria das vísceras intra-abdominais. Entretanto, seu mesênquima compartilha uma origem comum com o pâncreas. A rotação do estômago e o crescimento do mesogastro dorsal deslocam o baço para o lado esquerdo da cavidade abdominal. A rotação do mesogastro dorsal também estabelece uma conexão mesentérica denominada **ligamento esplenorenal** entre o baço e o rim esquerdo. A porção do mesentério dorsal entre o baço e o estômago é chamada de **ligamento gastroesplênico**.

Derivados do mesentério ventral

À medida que o fígado aumenta de tamanho, a porção caudal do septo transverso e o mesentério ventral são modificados para formar várias estruturas membranosas, incluindo as coberturas serosas do fígado e as membranas que ligam o fígado ao estômago e à parede ventral do corpo. Conforme descrito no Capítulo 11, o tendão central do diafragma forma-se a partir do **septo transverso**. Por volta da 6^a semana, o fígado em crescimento estabelece contato com o septo transverso e a porção do mesentério ventral que recobre o fígado começa a se dividir (Fig. 14-13). A porção caudal do mesentério ventral que recobre quase toda a superfície do fígado se torna o **peritônio visceral**. Entretanto, na extremidade cranial, o parênquima hepático faz contato direto com o tendão central do diafragma em desenvolvimento e, assim, não possui nenhuma cobertura peritoneal. Esta zona se torna a **área nua do fígado** (Fig. 14-13). Ao redor das margens da área nua, o peritônio que recobre a superfície inferior da porção periférica do diafragma forma uma prega ou reflexão por sobre a superfície do fígado. Pelo fato de esta reflexão circundar a área nua como uma coroa, ela é chamada de **ligamento coronário**. O contato direto entre o fígado e o diafragma na área nua resulta na formação de anastomoses entre os vasos portais hepáticos e as veias sistêmicas do diafragma.

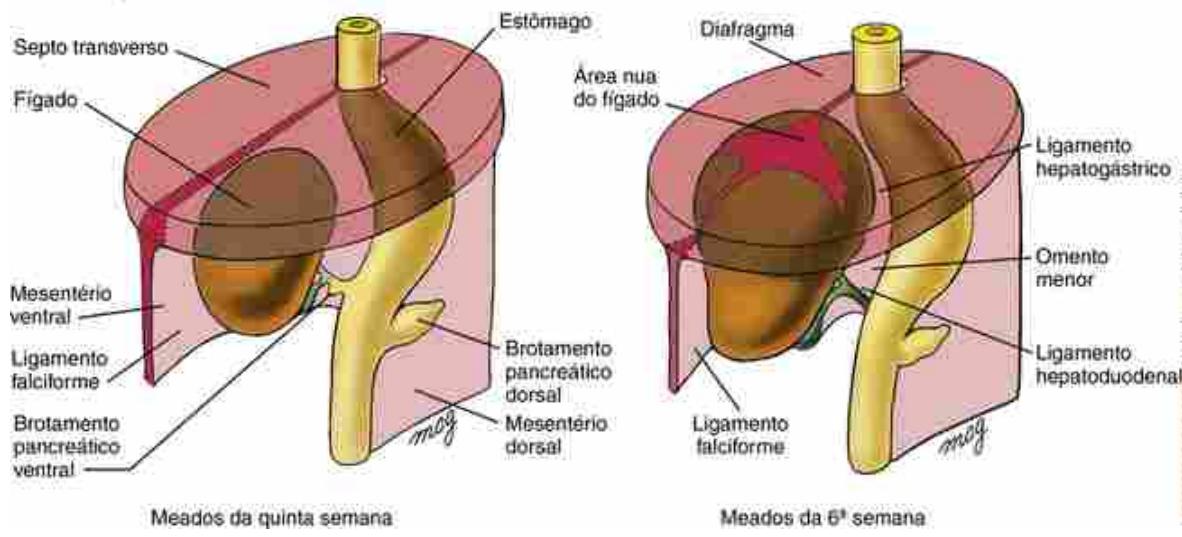


FIGURA 14-13 Formação do fígado e das membranas associadas. À medida que o brotamento hepático cresce em meio ao mesentério ventral, sua porção mais alta em expansão faz contato direto com o diafragma em desenvolvimento. O mesentério ventral que envolve o brotamento hepático em crescimento se diferencia no peritônio visceral do fígado, o qual é refletido por sobre o diafragma. Esta zona de reflexão, a qual circunda a área onde o fígado entra em contato diretamente com o diafragma (a área nua do fígado), se torna o ligamento coronário. O remanescente de mesentério ventral que conecta o fígado com a parede anterior do corpo se torna o ligamento falciforme, enquanto o mesentério ventral entre o fígado e a curvatura menor do estômago forma o omento menor.

A estreita aba em formato de foice do mesentério ventral que fixa o fígado à parede ventral do corpo se diferencia no **ligamento falciforme**, de configuração membranosa (Figs. 14-8 e 14-13). A margem caudal livre desta membrana carrega a veia umbilical da parede do corpo para o fígado. A porção do mesentério ventral entre o fígado e o estômago se adelgaça para formar uma membrana translúcida denominada **omento menor**. A borda caudal do omento menor, que conecta o fígado ao duodeno em desenvolvimento, é chamada de **ligamento hepatoduodenal** e contém a veia porta do fígado, a artéria hepática própria e seus ramos, e os ductos hepáticos, cístico e biliar comum. A região do omento menor entre o fígado e o estômago é denominada **ligamento hepatogástrico**.

Quando o estômago sofre sua rotação para a esquerda e o fígado se desloca para o lado direito da cavidade peritoneal, o omento menor sofre uma rotação de um plano sagital para um plano coronal (frontal). Esse reposicionamento reduz a comunicação entre o grande e o pequeno sacos da cavidade peritoneal a um estreito canal disposto imediatamente posterior ao omento menor. Este canal é denominado **forame epiploico de Winslow** (Fig. 14-8).

Desenvolvimento do intestino médio

Alça intestinal primária

Por volta da 5^a semana, o presumível íleo, o qual pode ser distinguido do presumível colo (intestino grosso) pela existência de um primórdio do ceco na junção entre os dois, começa a se alongar rapidamente. O íleo em crescimento se alonga muito mais rapidamente do que a cavidade abdominal propriamente dita, e o intestino médio é, por consequência, projetado sob a forma de uma prega dorsoventral, semelhante a um grampo de cabelo, denominada **alça intestinal primária** (Fig. 14-14A). O ramo cranial desta alça dará origem à maior parte do íleo; o ramo caudal se tornará o colo ascendente e o colo transverso. Em seu ápice, a alça intestinal primária se encontra fixada ao umbigo por meio do ducto vitelínico, enquanto a artéria mesentérica superior segue ao longo do maior eixo da alça. Por volta do início da 6^a semana, o contínuo alongamento do intestino médio, combinado à pressão resultante do dramático crescimento de outros órgãos abdominais (particularmente o fígado), força a alça intestinal primária a sofrer uma herniação em direção ao umbigo (Fig. 14-14B,C).

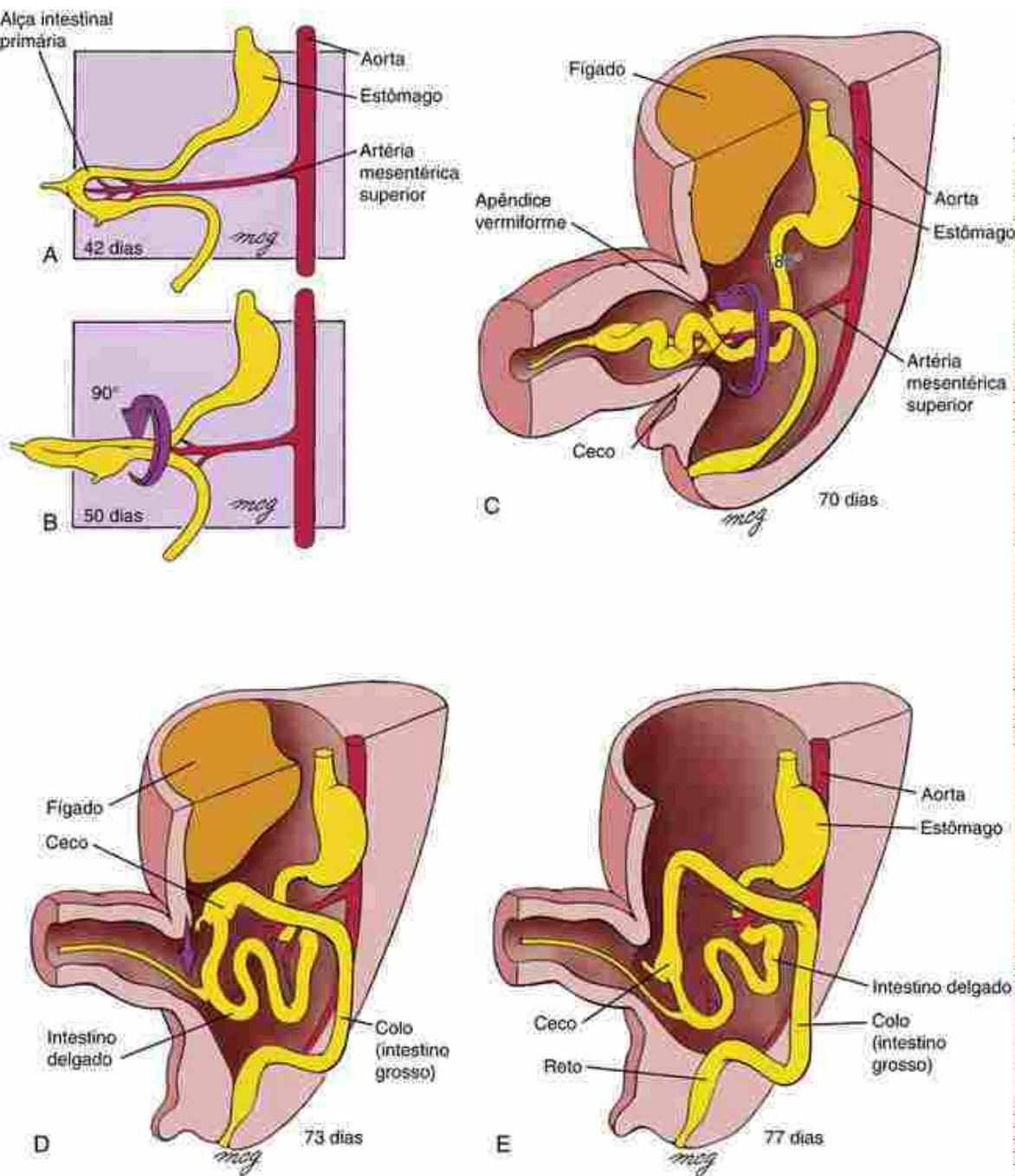


FIGURA 14-14 Herniação e rotação do intestino. A e B, Ao final da 6^a semana, a alça intestinal primária sofre uma herniação fisiológica para dentro do umbigo, rodando através de 90 graus em sentido anti-horário (em vista frontal). C, O intestino delgado se alonga para formar as alças jejunoileais, o ceco e o apêndice vermiforme crescem, e ao final da 10^a semana a alça intestinal primária se retrai e retorna para dentro da cavidade abdominal, sofrendo uma rotação adicional de 180 graus em sentido anti-horário. D e E, Durante a 11^a semana, o intestino médio em retração termina esta rotação à medida que o ceco vai ocupando posição imediatamente inferior ao fígado. Em seguida, o ceco é deslocado inferiormente, puxando a porção proximal do intestino posterior para baixo, de modo a formar o colo ascendente. O colo descendente é simultaneamente fixado ao lado esquerdo da parede abdominal posterior. O jejuno, o íleo, o colo transverso e o colo sigmoide permanecem suspensos pelo mesentério.

À medida que a alça intestinal primária sofre esse processo de herniação fisiológica em direção ao umbigo, ela passa por uma rotação em torno do eixo da artéria mesentérica superior (ou seja, em torno de um eixo dorsoventral) em 90 graus em sentido anti-horário, em uma visão anterior. Assim, o ramo cranial se move em direção caudal e para a direita do embrião, e o ramo caudal se move em direção cranial e para a esquerda do embrião (Fig. 14-14B). Essa rotação é terminada ao início da 8^a semana. Enquanto isso, o intestino médio continua a se diferenciar. O jejuno e o íleo em alongamento são projetados em uma série de pregas denominadas **alças jejunoileais**, e o ceco em expansão emite um brotamento que dará origem a um **apêndice vermiforme**, de configuração alongada e delgada (Fig. 14-14C).

Durante a 10^a semana, o intestino médio se retrai e retorna para a cavidade abdominal. O mecanismo responsável

pela rápida retração do intestino médio para dentro da cavidade abdominal durante a 10^a semana não é compreendido, mas pode envolver um aumento no tamanho da cavidade abdominal em relação aos outros órgãos abdominais. À medida que a alça intestinal entra novamente no abdome, ela sofre uma rotação em sentido anti-horário por meio de 180 graus adicionais, de modo que, agora, o colo (intestino grosso) em retração tenha percorrido um circuito de 270 graus em relação à parede posterior da cavidade abdominal (Fig. 14-14C-E). Por consequência, o ceco sofre uma rotação para uma posição imediatamente inferior ao fígado, na região da crista ilíaca direita. Os intestinos retornam completamente para a cavidade abdominal por volta da 11^a semana.

Depois que o intestino grosso retorna para a cavidade abdominal, os mesentérios dorsais do colo ascendente e do colo descendente se encurtam e se dobram, colocando estes órgãos em contato com a parede dorsal do corpo, onde eles aderem e se tornam secundariamente retroperitoneais (Fig. 14-3D). O ceco torna-se suspenso a partir da parede dorsal do corpo por um mesentério encurtado logo após seu retorno à cavidade abdominal. No caso dos colos ascendente e descendente, o encurtamento e dobramento dos mesentérios estão provavelmente relacionados ao relativo alongamento da região lombar da parede dorsal do corpo. O colo transverso não se fixa à parede do corpo, mas permanece como um órgão intraperitoneal suspenso pelo mesentério. A porção mais inferior do intestino grosso, o colo sigmoide, também permanece suspensa pelo mesentério. A Figura 14-15 resume a disposição final dos órgãos gastrointestinais em relação à parede do corpo.

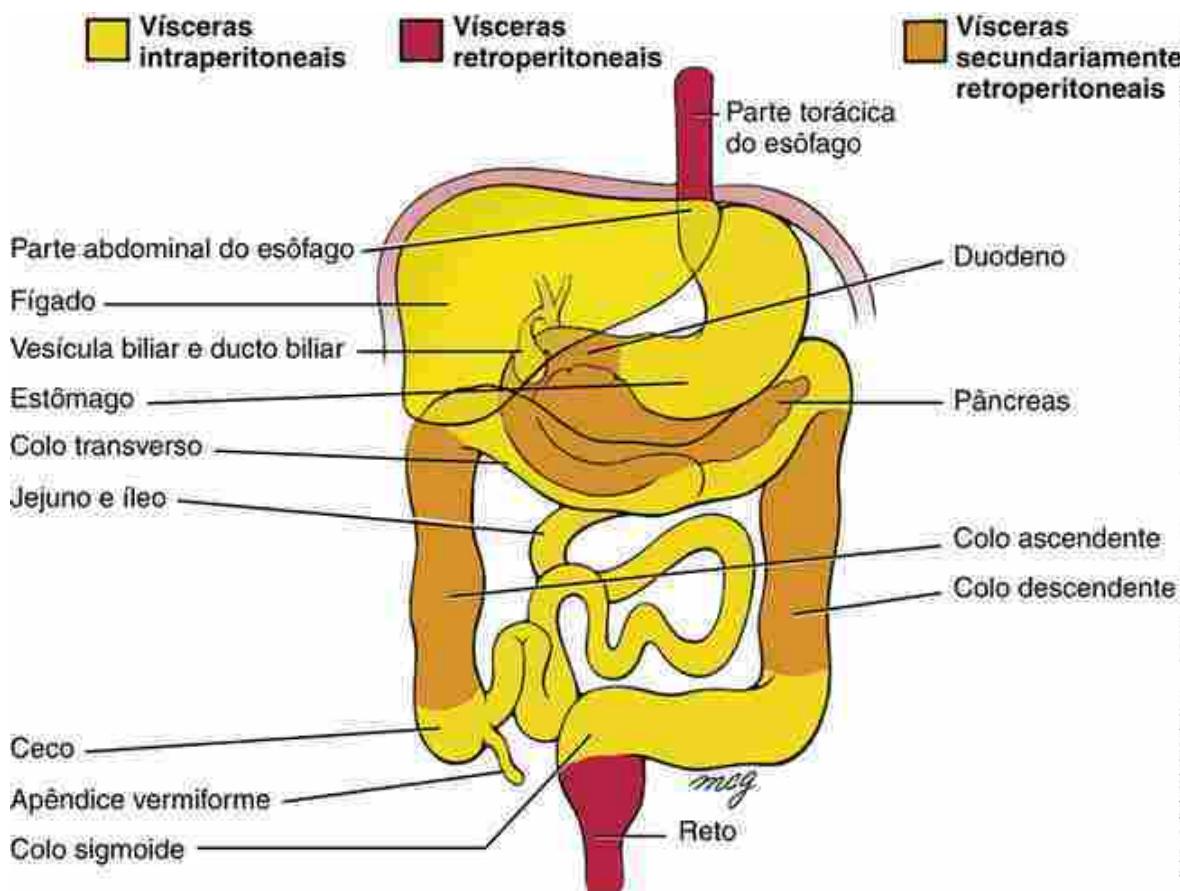


FIGURA 14-15 Órgãos intraperitoneais, retroperitoneais e secundariamente retroperitoneais do trato gastrointestinal abdominal.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos celulares e moleculares da rotação do tubo digestório

O trato gastrointestinal é um órgão padronizado de modo assimétrico, da esquerda para a direita, e que sofre um extenso e notável grau de alongamento, dobramento e pregueamento durante o seu desenvolvimento. Embora muito se saiba sobre os genes iniciais e os eventos de sinalização envolvidos no estabelecimento da assimetria esquerda-direita (Cap. 3), muito menos se conhece a respeito de como isso é traduzido na morfologia assimétrica dos órgãos endodérmicos. O sinal morfológico mais precoce da assimetria esquerda-direita no tubo digestório é o

abaumento do intestino anterior para a esquerda durante o desenvolvimento inicial do estômago, baço e brotamentos pancreáticos. O crescimento direcionado para a esquerda pode ser conduzido por uma estrutura derivada do mesoderma esplâncnico circunjacente denominada **placa mesodérmica esplâncnica (PME)**. Este mesoderma exibe um elevado grau de proliferação celular (conduzido pela expressão de Fgf10 induzido por Nkx3.2) no lado esquerdo, e isso presumivelmente conduz ao crescimento lateral para a esquerda; as células superficiais do lado esquerdo mantêm uma morfologia epitelial cilíndrica (colunar) e aquelas do lado direito se tornam mais achatadas e ganham conformação mesenquimal (Fig. 14-16). Esse crescimento assimétrico e a alteração epitelial são dependentes vias de sinalização esquerda-direita mais precoces, incluindo nodal, lefty1, lefty2 e Pitx2 no mesoderma da placa lateral.

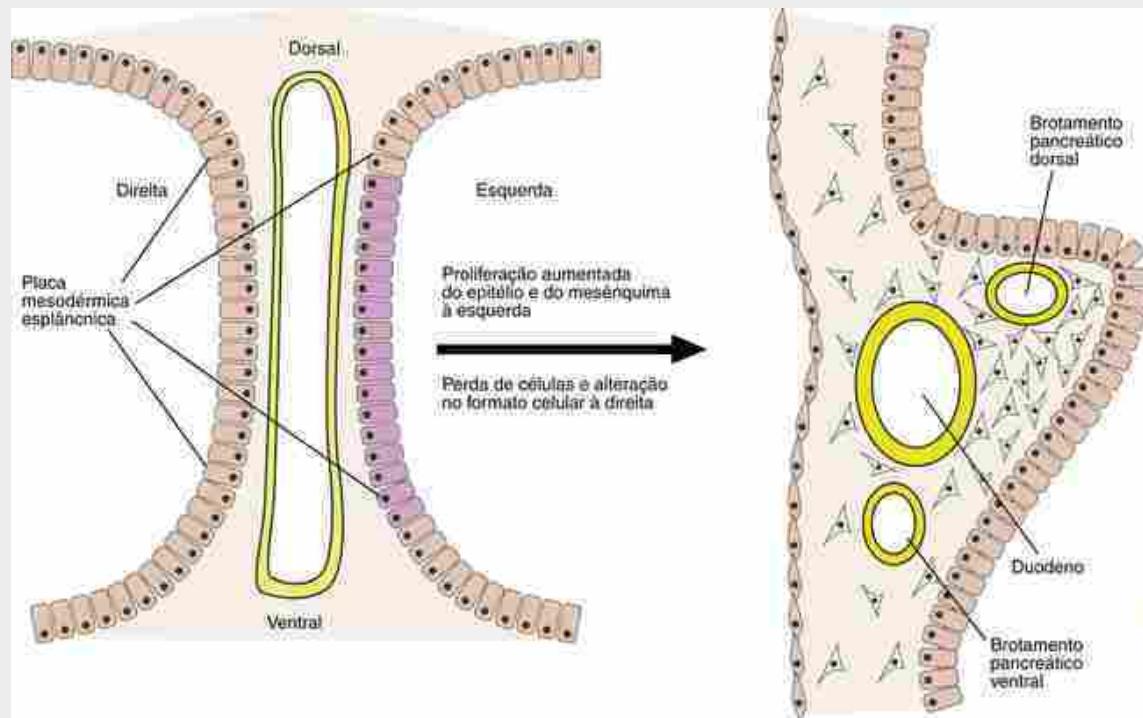


FIGURA 14-16 Mecanismos propostos para a condução da rotação assimétrica dos órgãos do intestino anterior e do intestino médio. A rotação assimétrica é dependente da expressão inicial do lado esquerdo de nodal, lefty e Pitx2. O deslocamento para a esquerda do estômago, baço, duodeno e pâncreas é conduzido pelo crescimento diferencial e pelas alterações do formato celular que ocorrem em meio à placa mesodérmica esplâncnica (PME) circunjacente ao tubo digestório em desenvolvimento. A expressão do lado esquerdo de Fgf10 induzido por Nkx3.2 (em púrpura) aumenta a proliferação de células mesenquimais e mantém uma morfologia epitelial colunar no lado esquerdo, enquanto que o epitélio à direita se torna achatado.

Diferenças assimétricas na adesão celular, no formato celular e na proliferação celular no mesentério dorsal do intestino médio e do intestino posterior desempenham um papel na rotação do tubo digestório. As primeiras evidências morfológicas de assimetria aqui podem ser vistas na inclinação para a esquerda do mesentério dorsal (Fig. 14-17). Em embriões de galinha e de camundongo, este movimento para a esquerda, ao contrário do que ocorre na PME, não é dependente de diferenças na proliferação de células mesenquimais (embora a proliferação da superfície epitelial esquerda seja maior do que no lado direito), mas em vez disso é devido à expressão exclusiva do lado esquerdo do N-caderina no mesentério dorsal. Como resultado, subsequentes alterações na adesão célula-célula, na densidade celular, na migração celular e na reciclagem de componentes da matriz extracelular no mesentério esquerdo geram forças mecânicas consideradas como responsáveis pelo movimento para a esquerda do mesentério dorsal. Mais uma vez, essas alterações assimétricas são dependentes da expressão do lado esquerdo de nodal, lefty1, lefty2 e Pitx2 (Fig. 14-17B). Os contínuos crescimento e alongamento do tubo digestório, em conjunto com as limitações de uma taxa de proliferação inferior no mesentério dorsal, também conduzem a um pregueamento no tubo digestório.

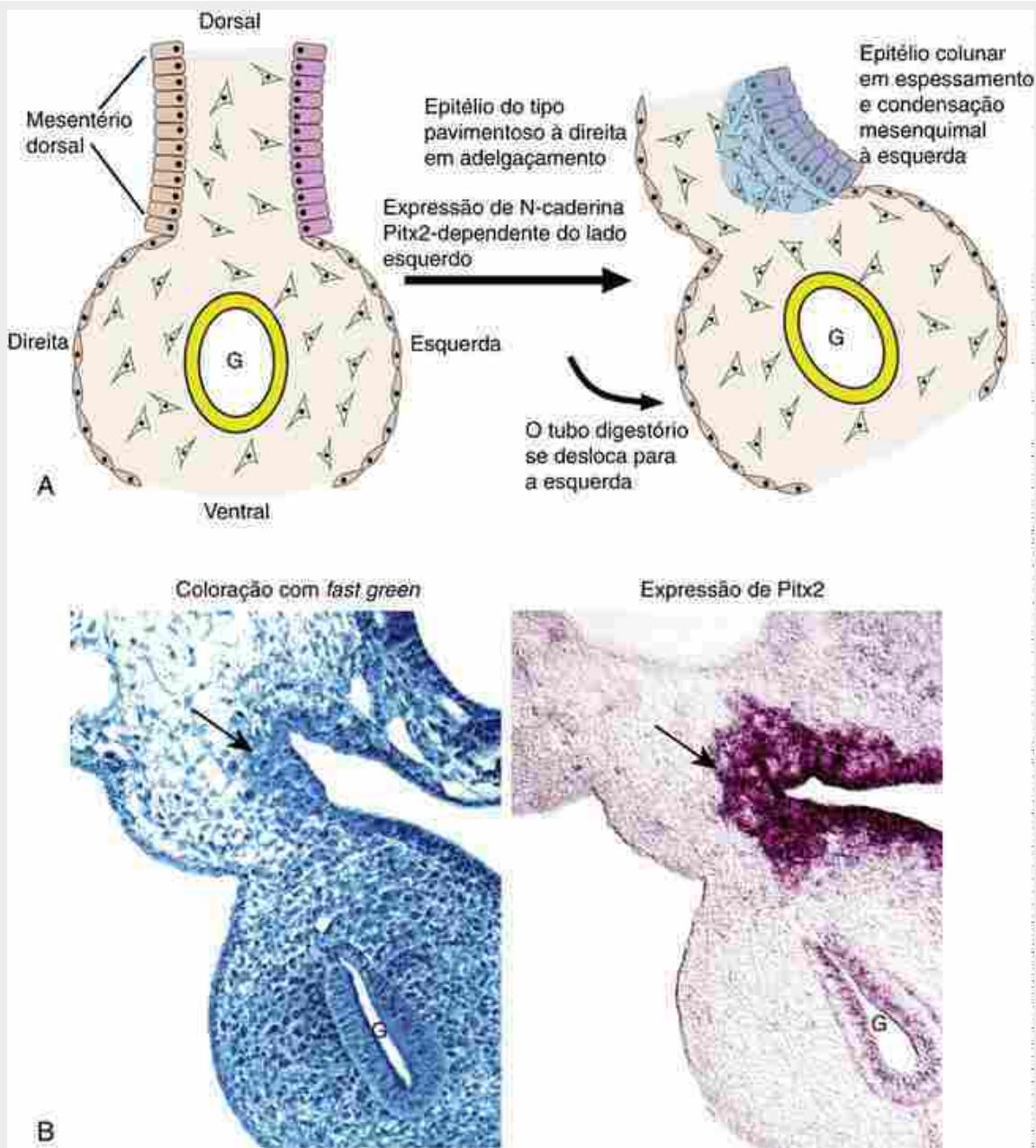


FIGURA 14-17 Mecanismos propostos para a condução de uma rotação assimétrica do mesentério dorsal do intestino médio. *A*, A rotação assimétrica é dependente da expressão inicial do lado esquerdo de Pitx2 (em púrpura). O movimento para a esquerda e a expansão do mesentério dorsal do intestino médio são conduzidos pela expressão para a esquerda de N-caderina em meio ao mesentério dorsal (sombreado em azul). Como resultado, alterações subsequentes na adesão célula-célula, na densidade celular, na migração celular e na reciclagem de componentes de matriz extracelular no mesentério esquerdo geram forças mecânicas responsáveis pelo movimento para a esquerda do mesentério dorsal. As setas em *B* indicam regiões de densidade celular aumentada e a expressão de Pitx2. *G*, Tubo digestório.

Na Clínica

Rotação e fixação anormais do intestino médio

Conforme descrito neste capítulo, a assimetria de configuração normal do intestino médio é baseada em uma série relativamente complexa de rotações e fixações. Não surpreendentemente, erros em um ou mais dessas etapas levam a um variado espectro de anomalias em seres humanos.

Defeitos de Rotação do Intestino Médio

A anomalia denominada **não rotação do intestino médio** surge quando a alça intestinal primária falha em sofrer a

rotação normal de 180 graus em sentido anti-horário à medida que retorna para a cavidade abdominal (Fig. 14-18). A rotação inicial de 90 graus pode ocorrer normalmente. O resultado deste erro é que o ramo cranial original da alça intestinal primária (que consiste nos presumíveis jejuno e íleo) termina no lado direito do corpo, e o ramo caudal original da alça intestinal primária (que consiste principalmente no presumível intestino grosso) termina no lado esquerdo do corpo. Consequentemente, esta condição é às vezes denominada **colo do lado esquerdo**. O ceco e a região mais proximal do intestino grosso podem ou não se fundir à parede dorsal do corpo para se tornar secundariamente retroperitoneais.

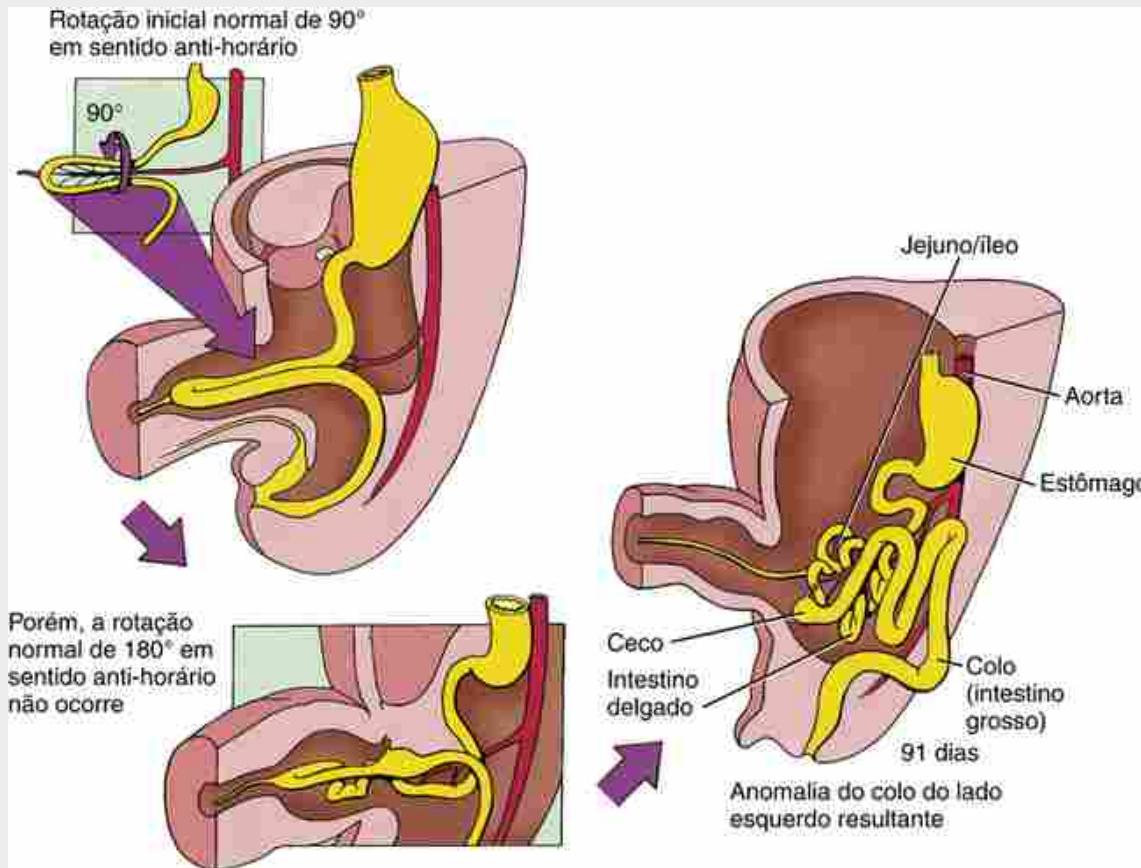


FIGURA 14-18 Não rotação do tubo digestório (também chamada de colo do lado esquerdo).

Na **rotação invertida do intestino médio**, a alça intestinal primária sofre a rotação inicial de 90 graus em sentido anti-horário normalmente, mas a segunda rotação de 180 graus ocorre *em sentido horário* ao invés de anti-horário, de modo que a rotação líquida do intestino médio seja de 90 graus em sentido horário (Fig. 14-19). Essa rotação traz as regiões do intestino médio e do intestino posterior para suas relações espaciais normais, com uma importante exceção: o duodeno se posiciona ventralmente ao colo transverso, ao invés de dorsalmente a ele. Assim, o duodeno não se torna secundariamente retroperitoneal, enquanto a região do colo transverso subjacente a ele se torna secundariamente retroperitoneal.

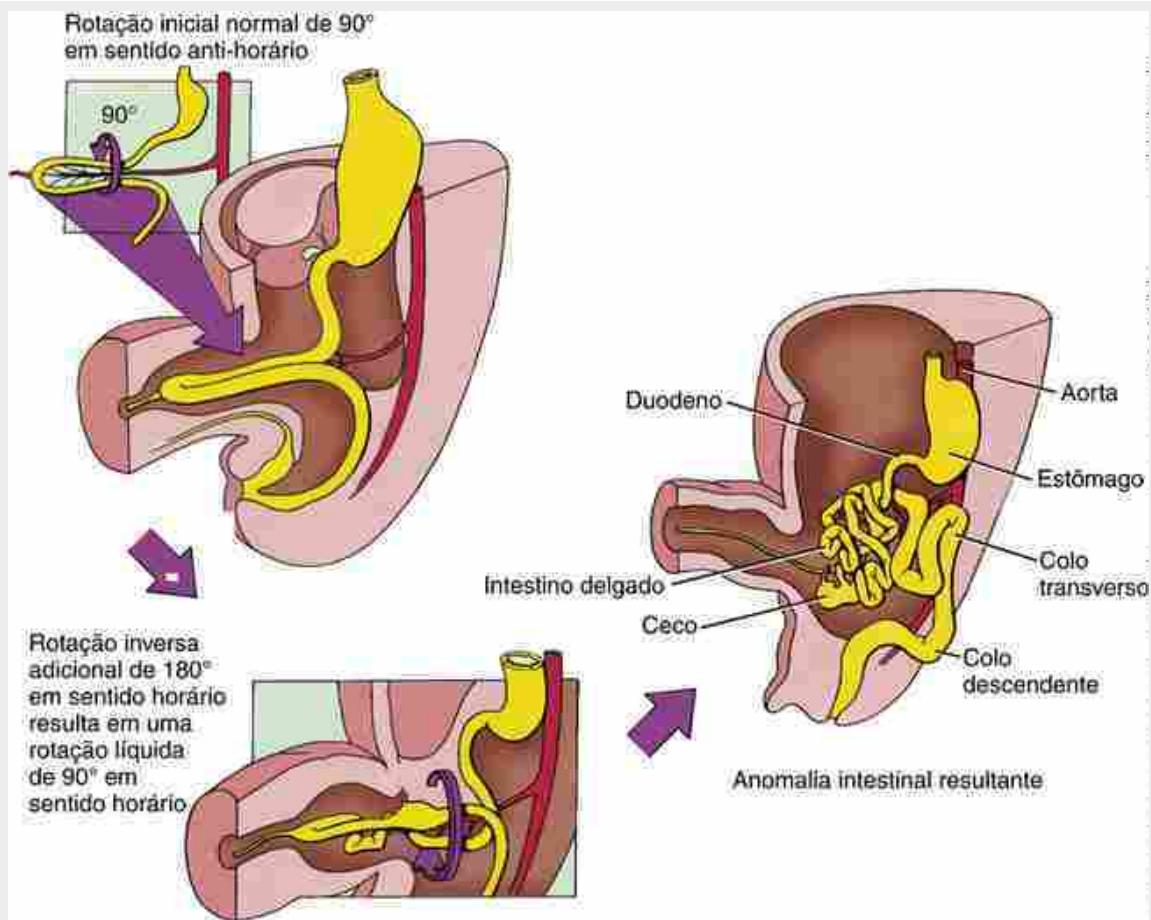


FIGURA 14-19 Rotação inversa do tubo digestório. A rotação líquida é de 90 graus em sentido horário, de modo que as vísceras derivadas do intestino médio sejam levadas às suas localizações normais na cavidade abdominal, mas o duodeno se encontra anterior ao colo transverso.

Em **rotações mistas do intestino médio** (também denominadas **más rotações**), apenas o ramo cefálico da alça intestinal primária sofre a rotação inicial de 90 graus, enquanto apenas o ramo caudal sofre a rotação subsequente de 180 graus (Fig. 14-20). O resultado desse comportamento misto ou não coordenado dos dois ramos é que a extremidade distal do duodeno se fixa no lado direito da cavidade abdominal, e o ceco se fixa próximo à linha média, em posição imediatamente inferior ao piloro do estômago. Essa posição anormal do ceco pode fazer com que o duodeno seja circundado por uma faixa de peritônio espessado, consequentemente deixando o intestino delgado fixado à direita por um estreito mesentério, o que aumenta o risco de uma obstrução intestinal.

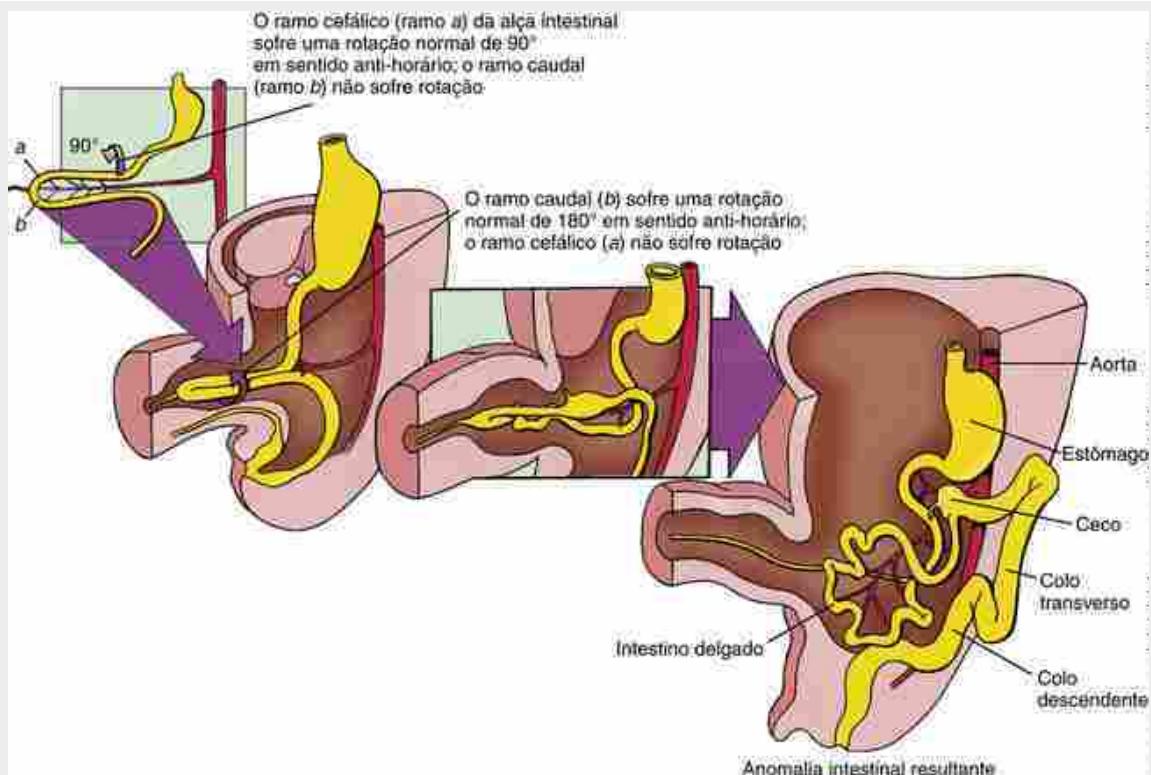


FIGURA 14-20 Rotação mista do tubo digestório. Nesta malformação, os ramos cranial e caudal da alça intestinal primária sofrem rotações independentemente. Como resultado, o ceco se fixa próximo à linha média imediatamente abaixo do piloro do estômago.

Vólvulo Intestinal

A rotação ou a fixação anormal do intestino médio causa uma significativa fração dos casos de obstrução intestinal. Regiões específicas do intestino, como o duodeno, podem se fixar contra a parede dorsal do corpo por faixas de mesentério anormal (denominadas bandas de Ladd), resultando em estreitamento e obstrução. Alternativamente, a má rotação pode deixar grande parte do intestino médio suspensa por um único ponto de fixação na parede dorsal do corpo. Tais espirais livremente suspensas são propensas a uma torção ou **vólvulo**, o qual pode levar a uma obstrução aguda (Fig. 14-21). Conforme descrito no quadro “Caso Clínico” deste capítulo, o **vômito bilioso** é um sintoma comum de vólvulo intestinal.

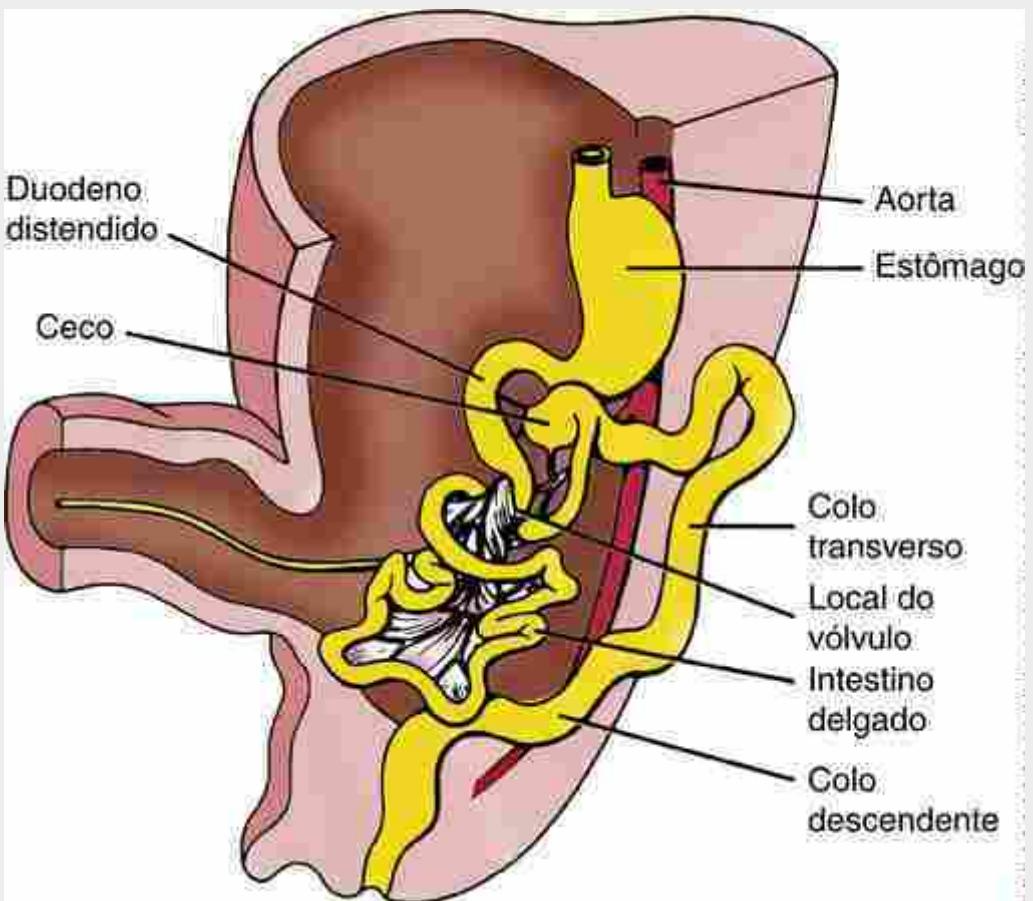


FIGURA 14-21 Vólvulo. O vólvulo pode ocorrer quando as regiões suspensas do intestino giram em torno de si mesmas, comprimindo o intestino e/ou comprometendo seu suprimento sanguíneo.

O vólvulo intestinal também pode comprometer o suprimento arterial e a drenagem venosa do tubo digestório em meio ao mesentério torcido. Isso pode levar a uma isquemia ou infarto por hipóxia ou, caso apenas o lado venoso seja afetado, ao **ingurgitamento venoso da mucosa e à hemorragia gastrointestinal**.

A presença de uma anormalidade rotacional é usualmente sinalizada durante a primeira infância pelo início repentino de dor abdominal aguda, vômito ou hemorragia gastrointestinal, ou por vômito intermitente ou falha no desenvolvimento. Há casos em que tal anormalidade permanece clinicamente silenciosa até a idade adulta. O diagnóstico definitivo envolve a ingestão de bário ou enema com bário em conjunto com raios X. O vólvulo deve ser tratado cirurgicamente.

Defeitos do umbigo e da parede abdominal anterior

Divertículo de Meckel

O **ducto vitelínico** normalmente regredie entre a 5^a e a 8^a semana ([Cap. 6](#)), mas em alguns casos de nascidos vivos ele persiste como um vestígio de comprimento e localização variáveis ([Fig. 14-22](#)). Mais frequentemente, ele é observado como um divertículo intestinal de 1 a 5 cm que se projeta da parede mesentérica do íleo a cerca de 100 cm do ceco ([Fig. 14-22A](#)). Esta condição é conhecida como **divertículo de Meckel** em homenagem a J. F. Meckel, que foi o primeiro a discutir as bases embriológicas da anormalidade no início do século XIX. O divertículo de Meckel é observado em cerca de 2% da população geral, e é cerca de duas vezes mais comum em indivíduos do sexo masculino do que do feminino. Em outros casos, parte do ducto vitelínico persiste na parede abdominal, formando uma **fistula onfalomesentérica** aberta, um **cisto onfalomesentérico** (ou enterocisto) ou um **ligamento onfalomesentérico** (ou **banda fibrosa**) que conecta o intestino delgado ao umbigo ([Fig. 14-22B-D](#)).

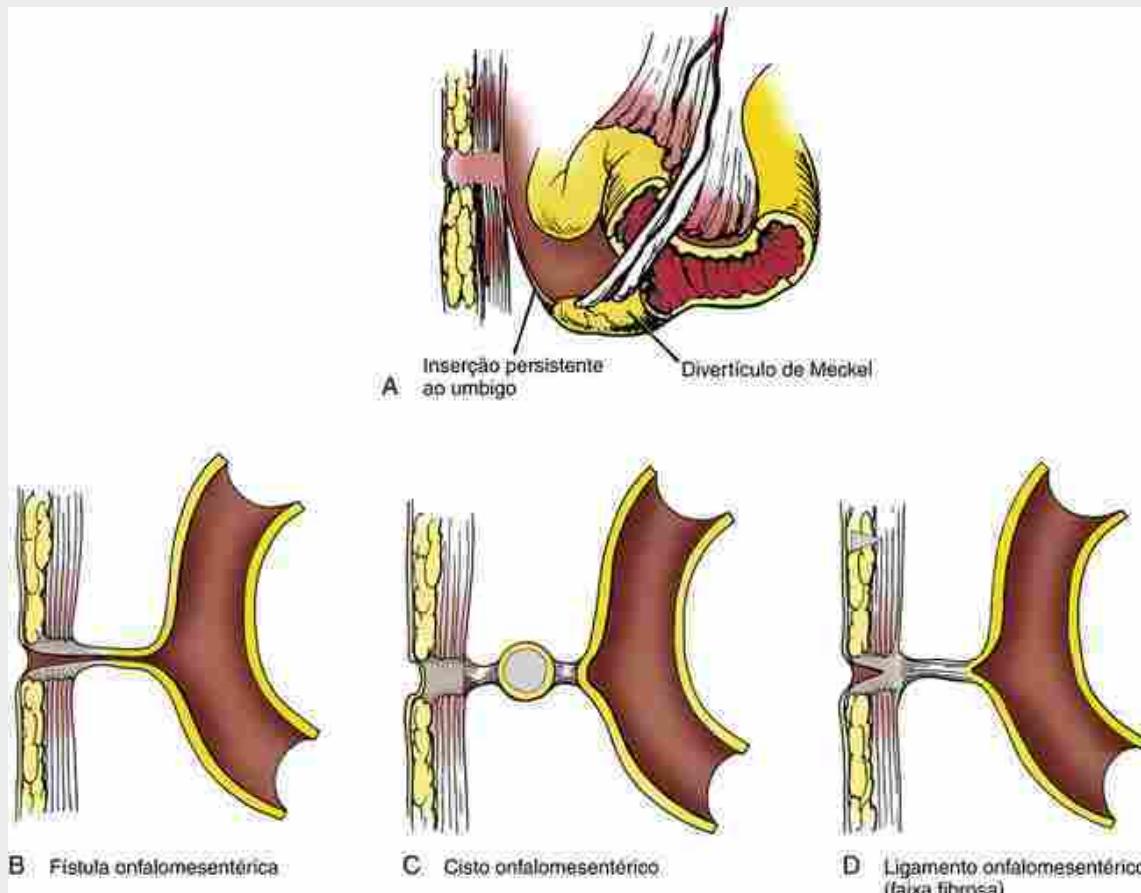


FIGURA 14-22 Divertículo de Meckel. A, Um divertículo de Meckel típico é uma projeção digitiforme do íleo. Um divertículo de Meckel pode formar: B, uma fistula patente que conecta o umbigo ao íleo; C, um cisto isolado suspenso por ligamentos; ou D, uma faixa fibrosa que conecta o íleo à parede anterior do corpo ao nível do umbigo.

A maioria dos casos de divertículo de Meckel é assintomática. Entretanto, 1 a 3% dos indivíduos que apresentam o divertículo de Meckel desenvolvem sintomas de obstrução intestinal, sangramento gastrointestinal ou peritonite. As complicações do divertículo de Meckel podem se manifestar como consequência da obstrução intestinal causada pelo aprisionamento de parte do intestino delgado por uma faixa fibrosa que representa um resquício dos vasos vitelínicos que conectam o divertículo ao umbigo. Os sintomas podem simular nitidamente uma apendicite, envolvendo dor periumbilical que mais tarde se localiza no quadrante direito superior. Até 60% dos divertículos de Meckel abrigam um tecido anormal, geralmente pancreático ou gástrico. No último caso, os pacientes podem desenvolver uma ulceração hemorrágica do intestino.

Os fatos sobre o divertículo de Meckel podem ser lembrados utilizando-se a “regra dos dois”: ele ocorre em 2% da população e é 2 vezes mais comum em indivíduos do sexo masculino; cerca de 2% dos indivíduos com divertículo de Meckel apresentam sintomas clínicos, geralmente por volta dos 2 anos de idade; ele geralmente está presente a 2 pés (60,96 cm) proximalmente ao íleo terminal, e geralmente tem 2 polegadas (5,08 cm) de comprimento; e ele contém dois tipos de revestimento anormal.

Hérnia Umbilical, Onfalocele e Gastosquise

Os termos utilizados para descrever os defeitos da parede abdominal anterior nos quais os componentes abdominais se projetam são frequentemente utilizados de forma inconsistente na literatura. Aqui, eles são divididos em três grupos: **hérnia umbilical**, **onfalocele** e **gastosquise**.

Uma **hérnia umbilical** consiste em uma pequena protrusão do intestino através do **anel umbilical**, o qual é recoberto por pele. Ela é frequentemente mais aparente quando o bebê chora ou faz alguma força. Mais de 95% das hérnias umbilicais se fecham espontaneamente por volta dos 5 anos de idade.

A **onfalocele** (Cap. 4; Fig. 4-4) também envolve herniação do intestino ou outra víscera através do **anel umbilical**, o qual é coberto por uma delgada membrana avascular que pode se romper. Em contraste com uma hérnia umbilical, em casos extremos, uma onfalocele pode envolver um grande herniação que consiste em todo o intestino e o fígado, com o cordão umbilical se inserindo no ápice da onfalocele. A onfalocele ocorre em aproximadamente 1 em cada 5.000 nascimentos, e ela está frequentemente associada a anormalidades cromossômicas ou outras síndromes de malformações. Existem várias explicações possíveis para a onfalocele.

Lembre-se de que, da 6^a até a 10^a semana de desenvolvimento, o intestino médio sofre uma herniação fisiológica para dentro do cordão umbilical em desenvolvimento. Uma possibilidade é que o intestino herniado não se retrai e não retorna completamente para a cavidade abdominal durante a 10^a semana e, desta forma, permanece herniado. Outra possibilidade é que o dobramento lateral do corpo e subsequente fusão não ocorram apropriadamente da 4^a até a 8^a semana, criando uma fraqueza na parede corporal que permite ao intestino se herniar mais tarde enquanto ele cresce. A terceira possibilidade é a incapacidade de migração e diferenciação do mesoderma que normalmente forma o tecido conjuntivo da pele ([Cap. 7](#)) e a musculatura hipoaxial da parede ventral do corpo ([Cap. 8](#)), resultando novamente em uma debilidade da parede corporal.

A **gastrosquise** é um defeito da parede abdominal anterior na qual o intestino se projeta sem um saco de cobertura entre os músculos reto do abdome em desenvolvimento imediatamente laterais, e quase invariavelmente à direita, ao umbigo ([Cap. 4](#); [Fig. 4-1](#)). Na gastrosquise, ao contrário do onfalocele, o **anel umbilical** se fecha, e a herniação do intestino ocorre lateralmente ao anel em vez de através dele. A causa da gastrosquise, como a da onfalocele, é pouco clara, mas os dois defeitos parecem compartilhar alguns dos mesmos mecanismos postulados anteriormente. Além disso, foi proposto que a obliteração prematura da veia umbilical direita (a obliteração normal da veia direita ocorre durante o segundo mês de gestação, conforme descrito no [Cap. 13](#)) e seus vasos de drenagem podem criar uma fraqueza da parede corporal do lado direito localizada devido à isquemia e infarto localizados; subsequentemente, a pressão gerada pelos intestinos em crescimento força a parede corporal enfraquecida, resultando em herniação intestinal. A incidência de gastrosquise é de cerca de 1 para 3.000 nascimentos, e esta incidência está aumentando na América do Norte e na Europa por razões desconhecidas. A gastrosquise também difere da onfalocele na medida em que é geralmente isolada e não apresenta anomalias cromossômicas associadas conhecidas.

Outros defeitos da parede corporal anterior incluem a ectopia cardíaca (*ectopia cordis*), uma protrusão isolada do coração através da parede do corpo; a **extrofia cloacal** ou da **bexiga** (descrita a seguir neste capítulo); e uma constelação de cinco defeitos denominados em conjunto como **pentalogia de Cantrell** (defeito da parede abdominal supraumbilical, hérnia diafragmática [[Cap. 11](#)], defeito pericárdico, fenda esternal e anomalia intracardíaca).

Citodiferenciação do epitélio endodérmico do tubo digestório

O trato gastrointestinal é composto pelo endoderma que forma o revestimento epitelial do lúmen, pelo mesoderma esplâncnico que forma as túnicas de tecido conjuntivo e de músculo liso, e pelo ectoderma. Este último forma os revestimentos luminais mais cranial e caudal (a cavidade oral está descrita no [Cap. 17](#) e a abertura anal está descrita a seguir neste capítulo) e o sistema nervoso entérico (derivado de células da crista neural; também descrito a seguir neste capítulo). Conforme evidenciado na discussão anterior, as orientações cranial-caudal, dorsal-ventral e direita-esquerda (manifestadas principalmente pelas rotações e formações de alças do tubo digestório e pelo posicionamento do estômago) refletem a regionalização final dos órgãos e a orientação do trato intestinal adulto. Sobreposto ao eixo cranial-caudal encontra-se outro eixo, o **eixo radial**, com estabelecimento dos epitélios glandulares do trato gastrointestinal. Inicialmente no desenvolvimento, grande parte do revestimento endodérmico do trato gastrointestinal permanece uniforme em sua morfologia até que interações epiteliais-mesenquimais, ditadas por sinais de regionalização, direcionam a diferenciação endodérmica. Muitas das alterações morfológicas e dos eventos de citodiferenciação mais importantes ocorrem durante o período intermediário (fetal) da gestação.

Inicialmente o epitélio gastrointestinal é um epitélio simples, mas se torna pseudoestratificado e se espessa a tal ponto que o lúmen é quase ocluído. Considera-se que a extensão convergente de células no epitélio pseudoestratificado, em grande parte semelhante com o que ocorre durante a gastrulação e a neurulação ([Caps. 3 e 4](#)), seja responsável pela formação de lumens secundários em meio à camada epitelial ([Fig. 14-23](#)). Esses lumens finalmente se fundem e se abrem no lúmen principal. Antes e durante a formação dos lumens, Shh e Ihh são expressos no epitélio; entretanto, a expressão de Shh finalmente se torna restrita ao endoderma situado entre vilos. Shh aumenta a expressão de Bmp no mesoderma subjacente, e as Bmps medeiam a proliferação e condensação mesenquimal necessárias para a formação dos vilos nascentes ([Fig. 14-23](#)). A conversão de um epitélio colunar simples e a formação dos vilos ocorrem em uma onda, começando no estômago e progredindo em direção ao intestino grosso, com o comprimento dos vilos em formação dependendo da sua posição cranial-caudal no tubo digestório. No estômago não se formam vilos, mas o endoderma se invagina no mesoderma, formando depressões (futuras glândulas gástricas). Nos intestinos, a formação dos vilos é acompanhada pela invaginação do endoderma no mesoderma, formando criptas.

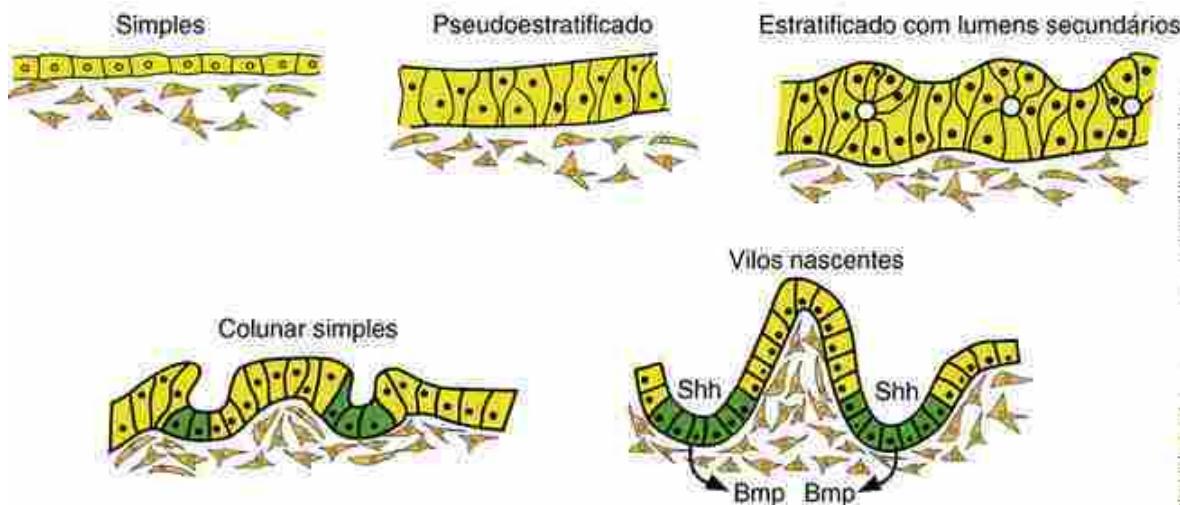


FIGURA 14-23 Morfogênese do endoderma intestinal e formação de vilos. Inicialmente, a mucosa gastrointestinal é revestida por um epitélio simples, mas que se torna pseudoestratificado e se espessa até o ponto em que o lúmen do tubo digestório seja quase ocluído. A extensão convergente de células no epitélio pseudoestratificado resulta na formação de lumens secundários em meio à camada epitelial. Esses lumens finalmente se fundem e se abrem no lúmen principal. A expressão de Shh se torna restrita ao endoderma intervilososo e estimula a expressão de Bmp no mesoderma adjacente. Bmp medeia a proliferação mesenquimal e a condensação necessária para a formação dos vilos nascentes.

A citodiferenciação do epitélio endodérmico ao longo do eixo radial (*i. e.*, da base das criptas/criptas até a ponta dos vilos) depende de interações com o mesoderma subjacente e ocorre tarde no desenvolvimento. À medida que as células epiteliais do trato gastrointestinal sofrem uma rápida renovação durante nossa vida, elas devem ser substituídas pela atividade de células-tronco. Estas células-tronco produzem progenitores para **enterócitos** (células absorтивas), **células enteroendócrinas** (células secretoras de peptídeos regulatórios), **células de Paneth** (células secretoras de peptídeos antimicrobianos) e **células caliciformes ou mucosas** (Fig. 14-24). Evidências recentes sugerem que as células-tronco capazes de autorrenovação estão localizadas na base das criptas intestinais, aninhadas entre as células de Paneth, e expressam o marcador de superfície Lgr5 (*leucine-rich-repeat-containing G-protein-coupled receptor-5*). Essas células-tronco geram progenitores em divisão para todos os tipos de células epiteliais do estômago, intestino delgado e intestino grosso. No intestino delgado, os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendócrinas se diferenciam e amadurecem enquanto migram ao longo dos vilos até atingir suas extremidades, onde tais células são finalmente eliminadas para o lúmen (uma jornada de 3 a 6 dias em seres humanos). As células de Paneth se diferenciam e permanecem na base das criptas (por cerca de 3 semanas antes de morrerem e serem removidas por fagocitose). Entretanto, células de Paneth não se desenvolvem nos segmentos do intestino grosso.

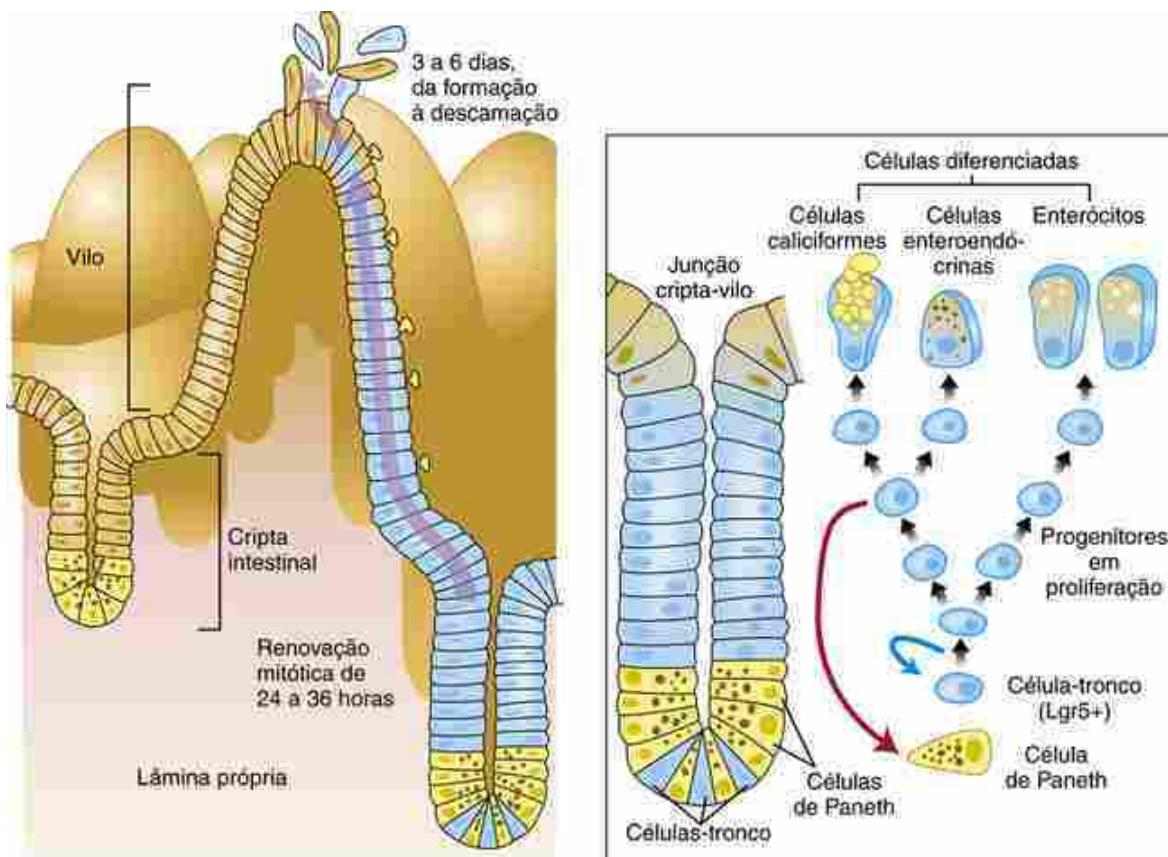


FIGURA 14-24 Citodiferenciação do epitélio endodérmico do intestino delgado. Células epiteliais do trato gastrointestinal sofrem uma rápida renovação e devem ser substituídas por células-tronco. No intestino delgado, estas células-tronco produzem os progenitores para enterócitos, células enteroendócrinas, células de Paneth e células caliciformes. Os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendócrinas continuam a proliferar, se diferenciar e amadurecer enquanto migram ao longo dos vilos, onde finalmente acabam por ser eliminadas para o lúmen intestinal na extremidade dos vilos. As células de Paneth residem na base das criptas intestinais. No intestino delgado, as células-tronco (células que expressam Lgr-5) residem na base das criptas intestinais, em meio às células de Paneth. Células progenitoras comprometidas se diferenciam próximo ao limite cripta-vilo e migram em direção à extremidade dos vilos (ou, no caso das células de Paneth, em direção ao fundo das criptas).

No Laboratório de Pesquisa

Uma sinalização deficiente por wnt e a renovação de β -catenina frequentemente são um prelúdio para o câncer de colo (intestino grosso)

Conforme descrito no Capítulo 5, a sinalização por Wnt é iniciada pela ligação à família de receptores Frizzled e aos correceptores Lrp5 ou Lrp6. A β -catenina é constantemente degradada por um complexo que contém a proteína da polipose adenomatosa do colo (Apc), axina, e Gsk3 (Fig. 14-25). Quando ligada a esse complexo, a β -catenina se torna fosforilada, o que direciona a β -catenina para destruição em proteassomas mediada por ubiquitinilação. Entretanto, quando há Wnt a ação desse complexo de destruição é bloqueada, e consequentemente os níveis de β -catenina se acumulam. Com níveis elevados de β -catenina citoplasmática livre, a β -catenina entra no núcleo e se liga à família de fatores de transcrição Tcf4/Lef, direcionando a transcrição de muitos outros genes (a chamada via canônica).

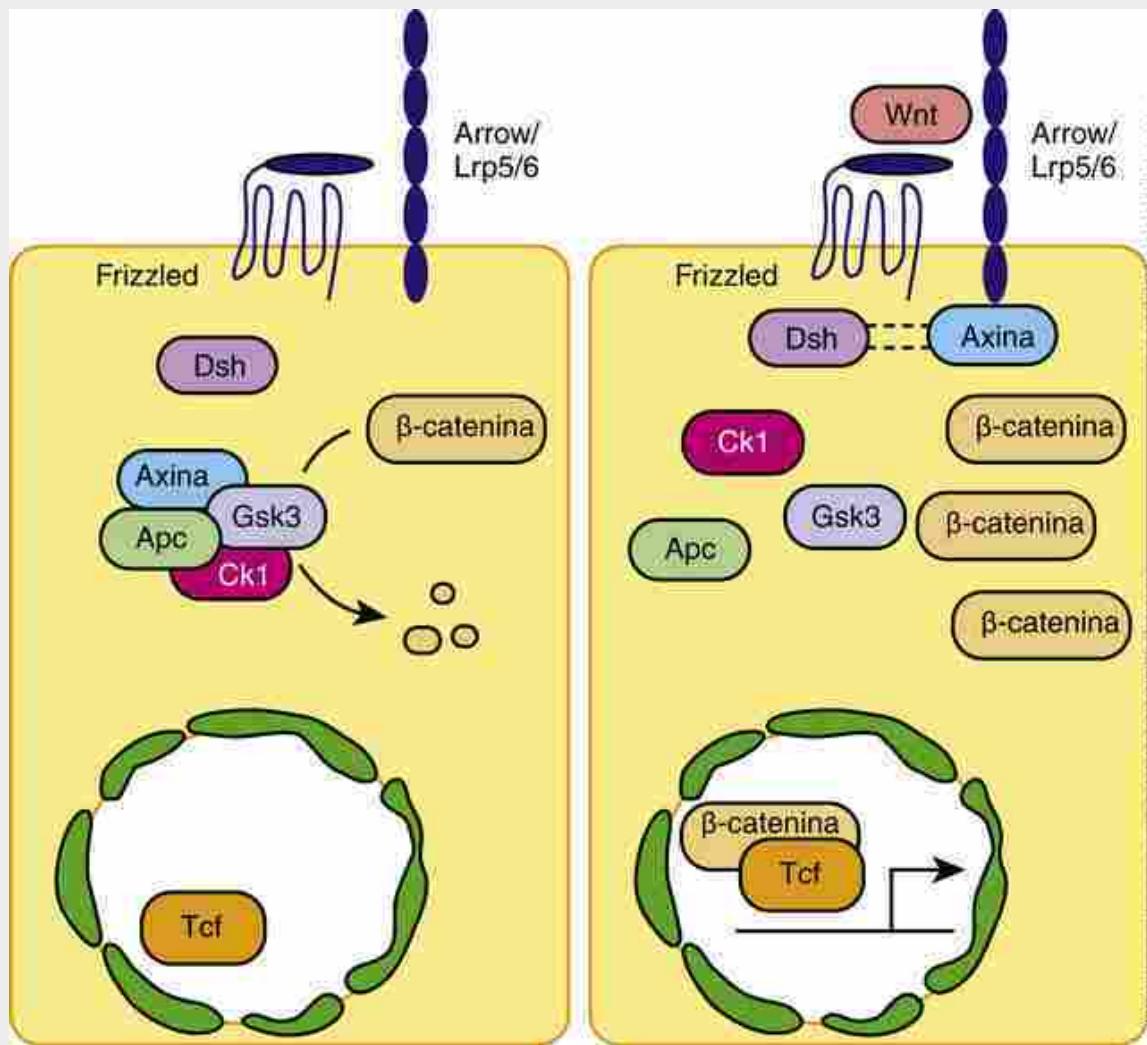


FIGURA 14-25 Esquema ilustrando a via Wnt canônica. A sinalização por Wnt é iniciada pela ligação de Wnt à família Frizzled de receptores e correceptores, Lrp5 e Lrp6. Na ausência do Wnt (célula à esquerda), a β -catenina é constantemente degradada por um complexo composto, em parte, por Apc, axina, e Gsk3. Entretanto, na presença do Wnt (célula à direita), a ação deste complexo de destruição é bloqueada e, como consequência, os níveis de β -catenina se acumulam. À medida que a β -catenina livre aumenta, ela entra no núcleo e se liga à família Tcf/Lef de fatores de transcrição, permitindo a transcrição de muitos outros genes.

A cascata Wnt/ β -catenina/Tcf4 é crítica para a manutenção do comportamento proliferativo no epitélio intestinal e para a padronização do fenótipo glandular ao longo do eixo radial. O padrão de distribuição de β -catenina e de Tcf4 no epitélio intestinal coincide com o local primário de proliferação epitelial. A sinalização por Wnt impõe uma contínua proliferação (manutenção) das células epiteliais das criptas, enquanto na ausência da sinalização por Wnt estas células interrompem seu ciclo celular e iniciam a diferenciação. Assim, camundongos nocauteados para Tcf4 são incapazes de manter uma população de progenitores epiteliais intestinais. Consequentemente, a sinalização por Wnt, por meio de ações da família de fatores de transcrição Tcf4/Lef, medeia a mudança entre proliferação, manutenção e diferenciação das células epiteliais. A mudança em si depende de rígidos controles do eixo radial.

Os pacientes com **polipose adenomatosa familiar** possuem uma cópia mutante de APC. Além disso, mutações na APC detectáveis são encontradas em aproximadamente 80% dos casos espontâneos de cânceres colorretais, sugerindo que a APC é um regulador chave em ambas as formas de cânceres colorretais (outros casos de cânceres colorretais estão associados a mutações no gene da β -catenina ou no da axina). Qualquer redução nos níveis funcionais de APC aumenta os níveis de β -catenina no citoplasma e no núcleo, definitivamente mimetizando os efeitos de uma sinalização por Wnt positiva. No caso de células epiteliais intestinais, isto leva a uma proliferação celular inapropriada e a uma transformação maligna. Genes-alvo candidatos para a sinalização por Wnt constitutiva associados a cânceres colorretais incluem os genes do ciclo celular (p. ex., C-MYC, CICLINA D), metaloproteinases de matriz, fatores de crescimento e fatores angiogênicos. A APC também pode funcionar como um trocador nuclear-citoplasmático; por isso, mutações na APC podem alterar a entrada de β -catenina no núcleo.

Diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal

A posição das células ao longo de eixo radial é um dos fatores importantes que medeia a diferenciação celular. Conforme descrito nos Capítulos 5, 9 e 13, as efrinas e seus receptores desempenham papéis essenciais na mediação da migração celular e no estabelecimento de limites. Esses ligantes e receptores também são expressos no epitélio intestinal. Os receptores EphB2 e EphB3 e seus ligantes, efrina-B1 e efrina-B2, são expressos em um gradiente inverso ao longo do eixo radial, sendo as efrinas mais concentradas nos vilos e no limite vilo/cripta, e seus receptores mais proeminentes na região proliferativa (Fig. 14-26). Essa relação espacial sugere um papel para a mediação da migração de células epiteliais ao longo do eixo radial: camundongos duplo nocauteados para EphB2/EphB3 perdem o limite proliferativo/diferenciação, e células epiteliais proliferando ectopicamente podem ser encontradas ao longo de toda o vilo. Em adultos normais, a expressão do receptor EphB3 está restrita às células colunares encontradas na base das criptas, onde as células de Paneth geralmente residem. Entretanto, em camundongos nulos para EphB3, as células de Paneth são encontradas distribuídas por toda a unidade cripta/vilo. Experimentos ainda sugerem que os padrões de expressão das efrinas e dos receptores de efrinas no tubo digestório são regulados pela atividade transcrecional da β -catenina/Tcf. Assim, um gradiente de sinalização por Wnt pode controlar o posicionamento de células epiteliais do tubo digestório ao longo do eixo radial pela mediação da sinalização por efrinas.

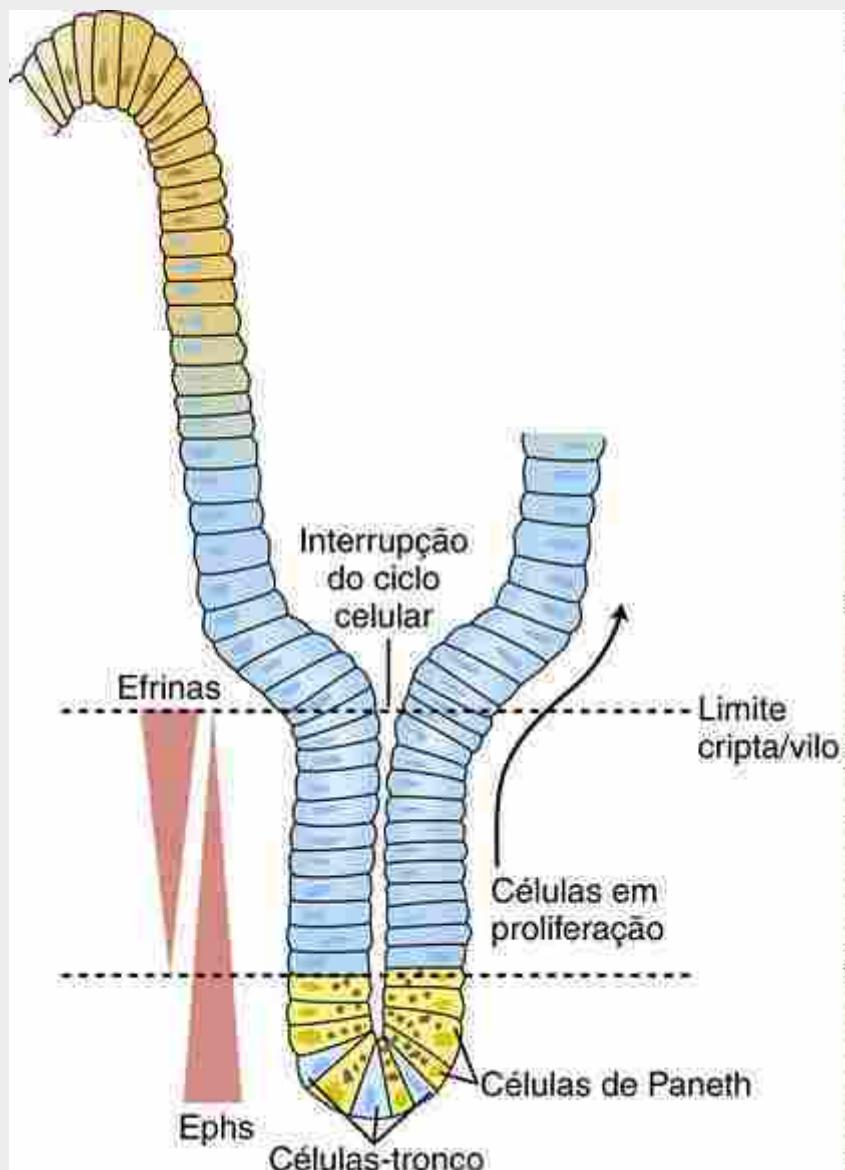


FIGURA 14-26 Efrinas e seus receptores são expressos em um gradiente inverso ao longo do eixo radial, sendo as efrinas mais concentradas no limite cripta/vilo, e seus receptores, EphB2 e EphB3, sendo mais proeminentes na região proliferativa e na base das criptas. Esta relação especial é importante na mediação da migração das células epiteliais ao longo do eixo radial (da cripta para o vilo). As setas indicam a direção da migração celular.

Ainda não está claro quais Wnts particulares podem conduzir a proliferação e a migração epitelial do tubo digestório e quais podem ser suas fontes. Várias Wnts diferentes são expressas no epitélio e no mesoderma intestinais ao longo do eixo cranial-caudal, incluindo Wnt4, Wnt5a, e Wnt11. O que regula os níveis destas Wnts ou sua sinalização ao longo do eixo radial é desconhecido, mas Shh e Ihh têm sido sugeridos como possíveis mediadores da via de sinalização por Wnt.

Conforme discutido no quadro “No Laboratório de Pesquisa” anterior, intitulado “Determinação das Linhagens de Células Pancreáticas”, a sinalização por notch aumenta a expressão de Hes1, consequentemente reprimindo a especificação da linhagem endócrina no endoderma *pancreático*. Hes1 também é expresso na população precursora *intestinal*, onde ele funciona de modo semelhante na especificação do destino das células intestinais. Camundongos nulos para Hes1 possuem um aumento no número de células secretoras no epitélio intestinal às custas de enterócitos. Em contraste, em camundongos nulos para Math1 (também chamados de Atoh1), o epitélio intestinal é quase inteiramente composto por enterócitos. Pelo fato de Hes1 reprimir a expressão de Math1/Atoh1, estes resultados sugerem um modelo (Fig. 14-27) no qual o equilíbrio entre Hes1 e Math1/Atoh1, controlada pela sinalização por notch, determina a especificação de “célula secretora” contra “célula absorbtiva” no epitélio intestinal. Na presença do Gfi1, um fator de transcrição dedo de zinco que atua subsequentemente a Math1/Atoh1, a expressão de neurog3 é suprimida, promovendo assim a diferenciação de células de Paneth e células caliciformes, mas, na ausência de Gfi1, formam-se células endócrinas.

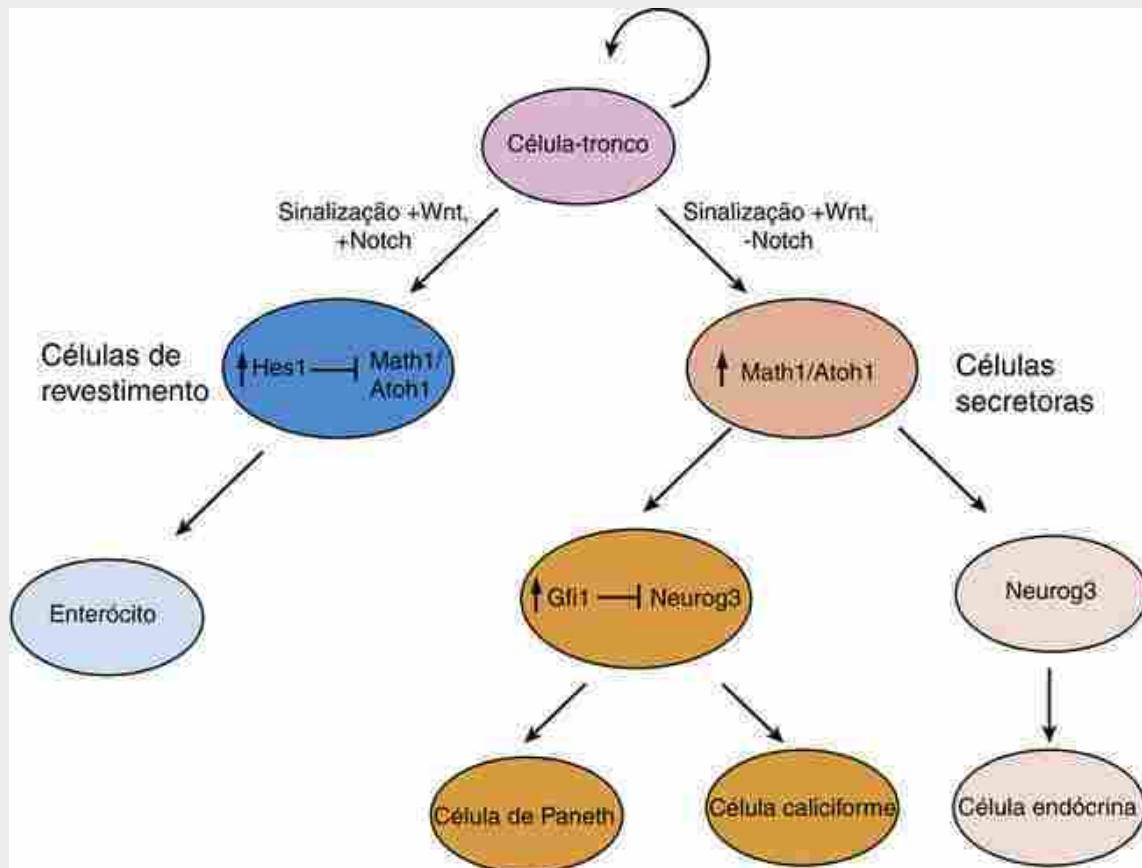


FIGURA 14-27 O papel da sinalização por Wnt e notch na especificação de linhagens de células epiteliais do intestino. Na presença da sinalização por notch, a expressão de Hes1 é aumentada, a qual por sua vez reprime a expressão de Math1/Atoh1. Em função disso, essas células se comprometem com uma linhagem de enterócitos. Na falta de sinalização por notch, a expressão de Hes1 falha em ocorrer, e a expressão de Math1/Atoh1 não é reprimida. Se essas células se tornam células de Paneth, células caliciformes ou células endócrinas depende da presença de Gfi1, o qual suprime neurog3.

Desenvolvimento da parede intestinal externa e sua inervação

Conforme descrito anteriormente neste capítulo, o tubo digestório é formado por um epitélio de origem endodérmica recoberto pelo mesoderma da esplancnopleura. O componente mesodérmico se desenvolve em múltiplas camadas, incluindo a lâmina própria e a camada muscular da mucosa, a túnica submucosa, as camadas musculares circular e

longitudinal da túnica muscular e a túnica adventícia. Estas camadas são inervadas por neurônios cujos corpos celulares se encontram em meio à parede do tubo digestório (o **sistema nervoso entérico**; também descrito no [Cap. 10](#)), bem como por neurônios extrínsecos localizados nos gânglios simpáticos e parassimpáticos (gânglios vagais e pélvicos) e nos gânglios sensitivos (gânglios nodoso e da raiz dorsal). Os neurônios do sistema nervoso entérico são agrupados em gânglios que estão localizados em duas camadas principais, o **plexo de Meissner** ou **plexo submucoso interno** (em meio à submucosa, adjacente à camada muscular circular interna da túnica muscular) e o **plexo de Auerbach** ou **plexo mioentérico** (entre as camadas musculares circular e longitudinal da túnica muscular). Em seres humanos, alguns neurônios estão localizados na lâmina própria.

A perda de Ihh e Shh, ambos endodérmicos, em camundongos resulta na incapacidade do mesoderma do tubo digestório de crescer. Estudos sugerem que Shh, em cooperação com Ihh, possa mediar o desenvolvimento da musculatura lisa do trato gastrointestinal e medeia indiretamente a padronização neuronal através de seu efeito sobre a expressão de Bmp4 no mesênquima. Em embriões de galinha, todo o mesoderma gastrointestinal tem o potencial para formar músculo liso. O Shh que emana a partir do endoderma inibe a expressão de Smap (proteína ativadora de músculo liso, *smooth muscle activating protein*) no mesoderma adjacente ([Fig. 14-28](#)), consequentemente restringindo a formação da túnica de músculo liso ao eixo radial mais externo do tubo digestório. Consequentemente, o mesoderma mais próximo do endoderma forma a lâmina própria e a submucosa.

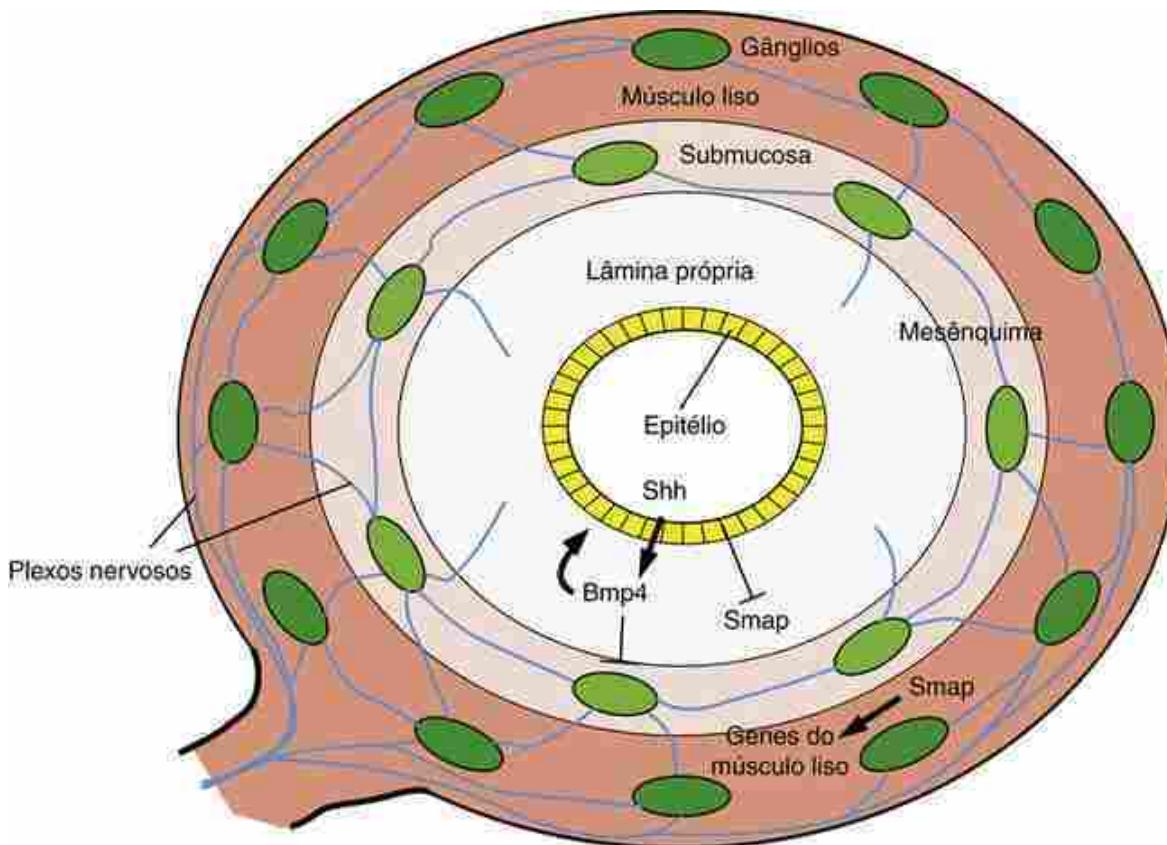


FIGURA 14-28 Representação esquemática da diferenciação da parede do tubo gastrointestinal ao longo do eixo radial. Estudos sugerem que Shh que emana do endoderma inibe a expressão de Smap (proteína ativadora do músculo liso, *smooth muscle activating protein*) no mesoderma adjacente, consequentemente restringindo a formação da túnica de tecido muscular liso ao eixo radial mais externo do tubo gastrointestinal. Como consequência, o mesoderma mais próximo ao endoderma forma a lâmina própria e a submucosa. Bmp4, induzida por Shh na lâmina própria e na submucosa, limita a diferenciação celular de neurônios entéricos à região externa da parede do tubo digestório. A sinalização por hedgehog também é necessária para a correta colonização pelos plexos entéricos (por controlar a expressão de Gdnf e, por isso, a migração das células da crista neural vagais). A sinalização recíproca ao epitélio a partir de Bmps do mesoderma também desempenha um importante papel na formação de vilos (ver texto).

A sinalização por Hh é também necessária para a colonização do plexo entérico propriamente dita (por controlar a expressão de Gdnf e, portanto, a migração de células da crista neural vagais; descrito a seguir).

O **sistema nervoso entérico**, o qual fornece a inervação intrínseca do trato gastrointestinal, consiste em células da glia, neurônios aferentes e eferentes interconectados, e interneurônios. O sistema nervoso entérico atua na regulação do peristaltismo gastrointestinal, do fluxo sanguíneo, da secreção e absorção, e de mecanismos endócrinos. Ele também é

único na capacidade de exibir uma atividade neuronal integrativa na ausência do sistema nervoso central. Em função disso, ele algumas vezes é referido como “o cérebro” do trato gastrointestinal, ou “o segundo cérebro” do corpo. Devido à complexidade do sistema nervoso entérico, a frequência de distúrbios de motilidade gastrointestinal, e os efeitos colaterais de muitos neurofármacos sobre a fisiologia do trato gastrointestinal, o sistema nervoso entérico é o assunto de intensas investigações.

As fibras simpáticas pós-ganglionares se originam a partir dos gânglios da cadeia simpática ou de gânglios para-aórticos, e seguem o suprimento vascular gastrointestinal para entrar na parede do trato gastrointestinal. Os axônios de neurônios pré-ganglionares parassimpáticos no tronco encefálico se projetam através do nervo vago para inervar neurônios pós-ganglionares no esôfago, estômago e intestinos. Neurônios parassimpáticos pós-ganglionares em gânglios pélvicos fornecem alguma inervação ao intestino posterior. Células da crista neural que se originam a partir dos níveis occipitocervicais (do 1º ao 7º somito) são a fonte dos neurônios vagais (parassimpáticos) e de células da glia, e começam a colonizar a extremidade cranial em torno da 4ª semana, finalmente povoando toda a extensão do tubo digestório em torno da 7ª semana ([Fig. 14-29](#)). Estudos em embriões de galinha e de camundongo mostram que neurônios ganglionares entéricos sacrais e células da glia se originam a partir de células da crista neural formadas caudalmente ao 28º par de somitos em aves e ao 24º par de somitos em camundongos, e que este subconjunto de células coloniza o intestino posterior após a chegada das células da crista neural vagais. Embora as células da crista neural derivadas da região lombossacral se alinhem com o plexo nervoso vagal, experimentos mostram que a migração e a diferenciação das células da crista neural lombossacrais é normal quando as células da crista neural vagais são removidas. Por consequência, células da crista neural lombossacrais podem inervar o intestino posterior independentemente da inervação vaginal.

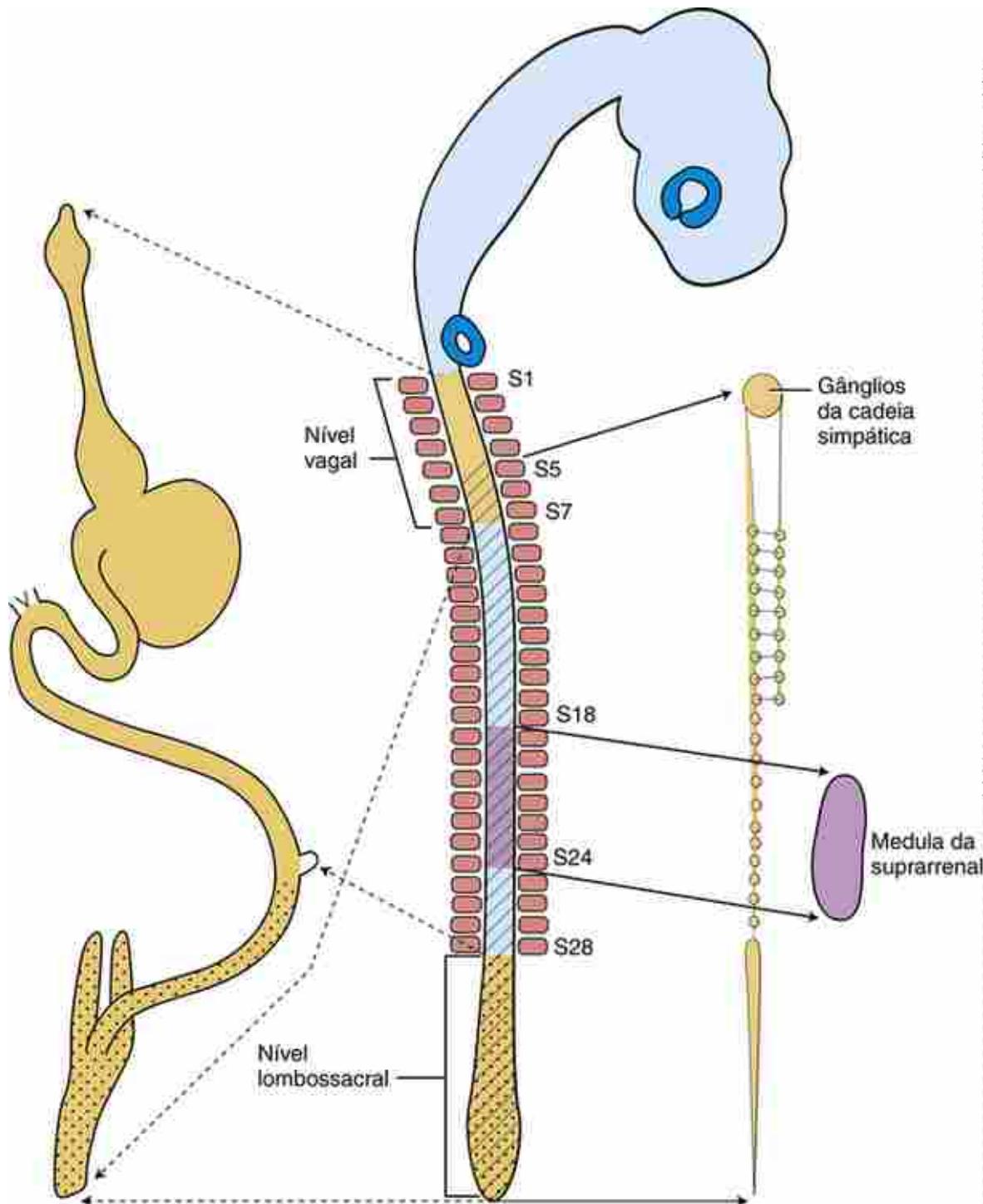


FIGURA 14-29 A origem das células da crista neural que formam o sistema nervoso entérico de um embrião de galinha. Fibras pós-ganglionares simpáticas que inervam o sistema nervoso entérico são derivadas de neurônios localizados na cadeia simpática. Esses neurônios e as células da glia são originados a partir de células da crista neural que se originam a partir do tubo neural dorsal em níveis axiais, começando no nível do quinto par de somitos e se estendendo para o sacro (em embriões chocados). A origem das células da crista neural que formam a medula da suprarrenal é mostrada em cor púrpura. Os neurônios e as células da glia pós-ganglionares vagais são derivados de células da crista neural formadas nos níveis do 1º ao 7º par de somitos (*em castanho, não pontilhado*), enquanto os neurônios e células da glia entéricos ganglionares sacrais se formam a partir das células da crista neural caudalmente ao 28º par de somitos em galinhas (*em castanho, pontilhado*).

As células intersticiais de Cajal, localizadas na parede do trato digestório, desempenham um importante papel na integração da sinalização entre o sistema nervoso entérico e células musculares lisas do tubo digestório. Estas células são consideradas como os marca-passos do trato gastrointestinal (direcionando o peristaltismo), e sua disfunção tem sido implicada em vários distúrbios de motilidade gastrointestinal. Sua origem ainda não é clara, mas estudos em camundongos sugerem que elas compartilham de um precursor mesodérmico comum com as células musculares lisas.

e não são derivadas a partir de células da crista neural.

Na Clínica

Doença de Hirschsprung

As doenças do **sistema nervoso entérico** em seres humanos podem ser divididas em dois grupos principais: aquelas caracterizadas por um número anormal de gânglios (doença de Hirschsprung) e aquelas caracterizadas por uma diferenciação neuronal anormal (displasia neuronal intestinal). Na **doença de Hirschsprung** (1 em cada 5.000 nascidos vivos), a obstrução total ou parcial do intestino é devido à ausência total de ambos os **gânglios dos plexos mioentérico e submucoso** nas regiões mais distais do intestino grosso. Como os neurônios entéricos são essenciais para a propulsão do conteúdo gastrointestinal, isso leva a uma dilatação ou distensão anormal de extensão variável do intestino grosso, além de um espessamento aumentado da parede devido à hipertrofia muscular no intestino situado proximalmente ao segmento aganglionar. O segmento intestinal dilatado (*i. e.*, o megacôlo) em pacientes com a doença de Hirschsprung é essencialmente um sintoma secundário causado pela obstrução e falta de peristaltismo no segmento do colo distal à dilatação (Fig. 14-30). A remoção do segmento distal estreitado permanece como o único tratamento eficaz para a doença, e o refinamento das abordagens cirúrgicas para a doença de Hirschsprung tem levado à mortalidade reduzida.

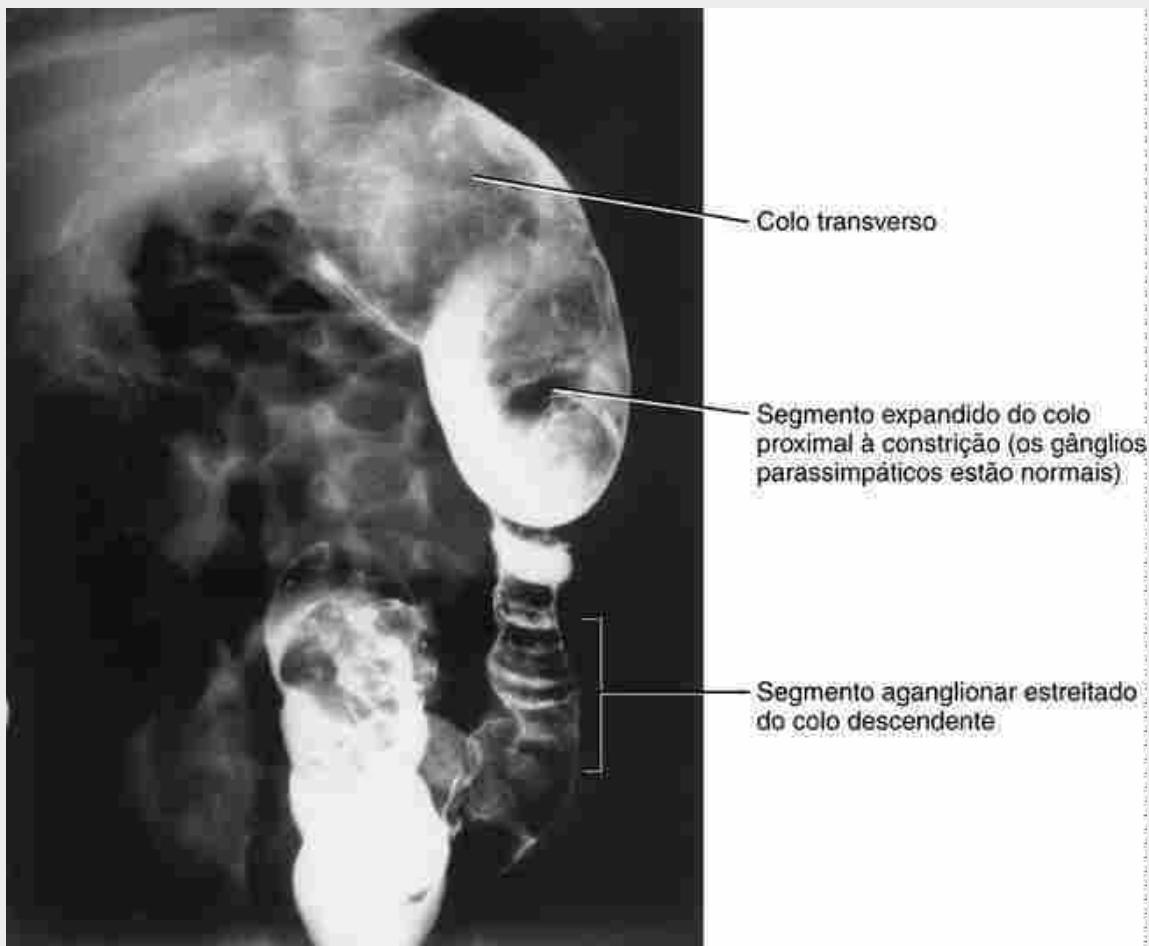


FIGURA 14-30 Radiografia após um enema com bário mostrando o trato gastrointestinal distal estreitado em um indivíduo com doença de Hirschsprung. A região adjacente, mais proximal, do trato com ineração autônoma normal está distendida.

O primeiro sinal da doença de Hirschsprung geralmente é um retardo na passagem de mecônio (geralmente, o mecônio passa em até 2 dias), o material que preenche o intestino inferior de bebês recém-nascidos. Isso pode ser acompanhado por outros sintomas, tais como constipação, vômito, dor abdominal e distensão. Estes pacientes estão em risco de complicações fatais, tais como infecção intestinal (enterocolite) ou ruptura de ceco. A maioria dos indivíduos com doença de Hirschsprung é diagnosticada durante seu 1º ano de vida. Exames com enema de bário

mostram que o segmento não peristáltico geralmente envolve o colo sigmoide e o reto, embora ele possa variar em extensão, desde uma pequena porção do reto até o intestino grosso inteiro e parte do íleo. O diagnóstico da doença de Hirschsprung é realizado por biópsia da mucosa, e a histopatologia demonstra ausência de gânglios entéricos.

A doença de Hirschsprung ocorre como um defeito esporádico isolado ou no contexto de uma síndrome, e pode ser herdado como uma característica familiar ou como parte de uma anomalia cromossômica. Esta última é observada em cerca de 12% dos pacientes com doença de Hirschsprung, sendo a trissomia do 21 a mais comum. Um histórico familiar de doença de Hirschsprung é positivo em aproximadamente 7% dos casos, e cerca de 15% dos casos de doença de Hirschsprung estão associados a pelo menos uma outra anomalia congênita. As causas genéticas da doença de Hirschsprung são heterogêneas e envolvem múltiplos fatores, com evidências tanto de baixa penetrância quanto de dependência sexual, as quais variam com relação à extensão do segmento aganglionar. A relação entre os sexos masculino e feminino da doença de Hirschsprung é de 4 para 1 para a agenesia ganglionar segmentar curta, mas é mais equivalente em frequência entre os sexos porque o comprimento do segmento envolvido se torna maior. A doença de Hirschsprung (também descrita no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Doença de Hirschsprung e Defeitos em Células da Crista Neural”) está associada a múltiplas mutações gênicas e ocorre como parte de pelo menos 10 síndromes.

Estenose pilórica hipertrófica infantil

A **estenose pilórica hipertrófica infantil** (1 em cada 500 nascidos vivos) é caracterizada pelo desenvolvimento de hipertrofia pilórica e uma obstrução na saída gástrica, a qual classicamente se apresenta com vômito projetado nos dois primeiros meses de vida pós-natal. O espessamento anormal da musculatura circular pilórica frequentemente pode ser palpado ao exame físico (descrito como a “azeitona”). A causa da estenose pode ser uma inervação anormal do piloro. Alguns estudos sugerem que neurônios nesta região falham em expressar a óxido nítrico sintase, uma vez que camundongos nulos para o gene que codifica esta enzima exibem estenose pilórica e estômago aumentado. Além disso, as Bmps têm sido implicadas na mediação da proliferação e diferenciação de células musculares lisas aqui, já que níveis alterados da sinalização por Bmp4 nesta região alteram a espessura da túnica muscular e também o desenvolvimento do sistema nervoso entérico em embriões de galinha.

No Laboratório de Pesquisa

Doença de hirschsprung e defeitos em células da crista neural

A ausência de gânglios entéricos no trato gastrointestinal é reconhecida como a principal causa de doença de Hirschsprung, e geralmente é atribuída a falha na migração, proliferação e diferenciação de células da crista neural antes ou depois de sua chegada à parede gastrointestinal. Defeitos em quaisquer dos mecanismos de desenvolvimento necessários para a morfogênese de células da crista neural podem, consequentemente, resultar em megacolo congênito. Vários estudos em galinhas, camundongos e seres humanos sustentam esta hipótese.

Muitas mutações relacionadas à doença de Hirschsprung em seres humanos são encontradas em genes que codificam para RET. O proto-oncogene RET, o qual foi mapeado no cromossoma humano 10q11.2 codifica uma TIROSINA QUINASE que serve como receptor para os membros da família de ligantes do FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DE CÉLULAS GLIAIS (GDNF, *glial cell-derived neurotrophic factor*). Durante a embriogênese dos vertebrados, Ret é expresso no sistema renal em desenvolvimento e em todas as linhagens celulares do sistema nervoso periférico. As células da crista neural vagais e sacrais começam a expressar Ret pouco antes da sua entrada no trato gastrointestinal, e isso é necessário para a sobrevivência, proliferação, migração e diferenciação de precursores de neurônios entéricos no peixe-zebra, camundongos e seres humanos. Células da crista neural positivas para Ret, quando injetadas no estômago de camundongos com intestinos aganglionares colonizam e reconstituem o sistema nervoso entérico. *In vitro*, o ligante para Ret, o Gdnf, é um quimioatrativo para células da crista neural vagais. Estudos sugerem que gradientes de Gdnf no tubo digestório direcionam a migração de células da crista neural vagais em uma direção cranial para caudal e promovem o crescimento direcional de neurítos.

Mutações em RET foram identificadas em 50% dos casos familiares e em 15% a 20% dos casos esporádicos de doença de Hirschsprung, incluindo grandes deleções, microdeleções, inserções, e mutações sem sentido (*nonsense*), de sentido trocado (*missense*) e de *splicing*. A haploinsuficiência é o mecanismo mais provável na doença de Hirschsprung. Isso está em contraste com a **neoplasia endócrina múltipla tipo 2**, na qual mutações em RET levam à dimerização e ativação constitutivas de RET e, consequentemente, à transformação maligna. Embora mutações em RET possam levar à expressão fenotípica com haploinsuficiência, mutações hipomórficas em RET (*i. e.*, mutações com perda de função parcial) podem requerer uma mutação em um gene pertinente adicional (*p. ex.*, endotelina; discutido a seguir).

Os camundongos mutantes de linhagens *spotted lethal* e *piebald lethal* (em tradução livre, “pintado letal” e “malhado letal”, respectivamente) são caracterizados por mutações no gene da endotelina-3 (Et3) e no gene que codifica seu receptor acoplado à proteína G, o receptor de endotelina-B (Etb). Esses camundongos não apresentam gânglios entéricos na porção distal do intestino grosso e exibem a doença de Hirschsprung. Camundongos nulos para o gene Et3 ou Etb também exibem aganglionose do colo distal, e nestes camundongos a migração de células da crista neural ao longo do intestino é retardada, sugerindo que a sinalização por Et3/Etb promove a migração de células da crista neural entéricas. Em contraste, a ausência de gânglios em camundongos *spotted lethal* parece ser devido à saída prematura do ciclo celular e à diferenciação prematura de células da crista neural entéricas, resultando em incapacidade de gerar progenitores suficientes para colonizar o tubo digestório.

Mutações em ETB, o qual é mapeado no cromossoma 13q22 humano, foram encontradas em cerca de 5% de casos de doença de Hirschsprung isolada em seres humanos (*i. e.*, na ausência de outras anomalias congênitas). Pacientes com a **síndrome de Waardenburg do tipo 4** possuem a **doença de Hirschsprung**, acompanhada por anomalias pigmentares e surdez neurosensorial. Pacientes com mutações homozigóticas em ET3 ou ETB apresentam o fenótipo completo da síndrome de Waardenburg do tipo 4, incluindo a doença de Hirschsprung, enquanto heterozigotos para ET3 ou ETB podem possuir apenas a doença de Hirschsprung isolada.

Estudos sugerem que interações entre os *loci* de genes independentes de RET e ETB são necessárias para a formação normal do sistema nervoso entérico em seres humanos e camundongos. Indivíduos que carregam uma mutação em RET possuem um risco significativamente maior de desenvolver a doença de Hirschsprung caso eles também apresentem uma mutação hipomórfica em ETB. Camundongos heterozigotos para Ret que apresentam uma mutação de perda de função para Etb desenvolvem a doença de Hirschsprung sem exibir defeitos no desenvolvimento renal ou na pigmentação que, ao contrário, são frequentemente observados em mutações isoladas de Ret e Et3/Etb. Assim, um equilíbrio entre as vias de sinalização Ret e Et3/Etb parece ser necessário para a colonização normal do tubo digestório.

Camundongos mutantes *splotch* portam mutações de Pax3, um fator de transcrição que desempenha um importante papel no desenvolvimento do tubo neural e no desenvolvimento musculoesquelético. Além dos defeitos no tubo neural que esses camundongos exibem, homozigotos de várias mutações de Pax3 bem descritas exibem graves defeitos na migração e/ou diferenciação de células da crista neural, incluindo defeitos cardiovasculares ([Cap. 12](#)), perda de audição, defeitos de pigmentação e doença de Hirschsprung. Entre estes, mutações que se originam a partir de deleções cromossômicas são as mais graves. Em seres humanos, deleções ou mutações em Pax3 causam a **síndrome de Waardenburg do tipo 1**. Estes pacientes possuem defeitos de pigmentação e do sistema auditivo, mas não possuem a doença de Hirschsprung, sugerindo que existe uma redundância da função de Pax3 no desenvolvimento do sistema nervoso entérico em seres humanos que não está presente em camundongos.

Outros genes implicados no desenvolvimento de células da crista neural e do sistema nervoso entérico incluem netrin e receptores de netrin; semaforina-3a; neurotrofina-3 e seu receptor, TrkC (promovendo a sobrevivência e a diferenciação de neurônios entéricos e de células da glia necessários para a formação de plexos mioentérico e submucoso); moléculas de sinalização da família das Bmps (que medeiam a sinalização da neurotrofina-3 e a expansão direcionada por Gdnf do conjunto de precursores entéricos, e promovem o desenvolvimento de neurônios entéricos aferentes primários intrínsecos); Mash1 (um fator de transcrição bHLH necessário para a formação de neurônios entéricos que contenham serotonina e óxido nítrico sintase); Phox2a e Phox2b (fatores de transcrição de homeodomínicos box pareados; Phox2b, quando nocauteado, leva à perda de todos os nervos autônomos); Hand2 (necessário para a diferenciação dos neurônios entéricos); Sox10 (necessário para a expressão do Ret, sobrevivência celular e diferenciação glial); molécula de adesão celular L1 (influencia a migração por meio da promoção do contato célula-célula); β1-integrina (medeia interações com a matriz extracelular); e a proteína 1 de interação com Smad (*Smad interacting protein-1*).

Evidências a partir de estudos em camundongos sugerem que fatores ambientais podem também contribuir para a penetrância e a gravidade da doença de Hirschsprung. Estudos mostram que o ácido retinoico é requerido para manter os sinais intracelulares necessários para a migração de células da crista neural entéricas e que o Ret em heterozigose aumenta a incidência de aganglionose em condições de deficiência de vitamina A.

Desenvolvimento do intestino posterior

O intestino grosso é projetado principalmente para a absorção de água e íons e para proteger o epitélio dos resíduos em progressivo endurecimento. Uma porção do intestino posterior forma o intestino grosso, e, embora semelhante à organização do intestino delgado, ele não forma vilos em sua mucosa e contém diferentes tipos celulares. A porção do tubo do intestino posterior primitivo situado imediatamente abaixo da membrana cloacal forma uma expansão denominada **cloaca**. Um delicado divertículo da cloaca, denominado de **alantoide**, se estende em direção ao pedúnculo

de conexão do embrião (Fig. 14-2). Entre a 4^a e a 6^a semanas, a cloaca é dividida em um **canal anorrectal** dorsal e um **seio urogenital** ventral pela formação de uma divisão coronal denominada **septo urorretal** (Fig. 14-31). O seio urogenital dá origem à presumível bexiga (embora estudos recentes em humanos sugiram que a bexiga se desenvolve a partir da expansão da região inferior do alantoide), uma estreita porção da uretra que forma os segmentos da uretra masculina caracterizados como **uretra membranosa** e **uretra prostática**; e a **uretra membranosa** em mulheres, além de uma expansão inferior, o segmento fálico. Conforme descrito no [Capítulo 16](#), o segmento fálico contribui em indivíduos do sexo masculino para a **uretra peniana** e em indivíduos do sexo feminino para o **vestíbulo da vagina**. Todas essas estruturas urogenitais são, consequentemente, revestidas com um epitélio derivado do endoderma.

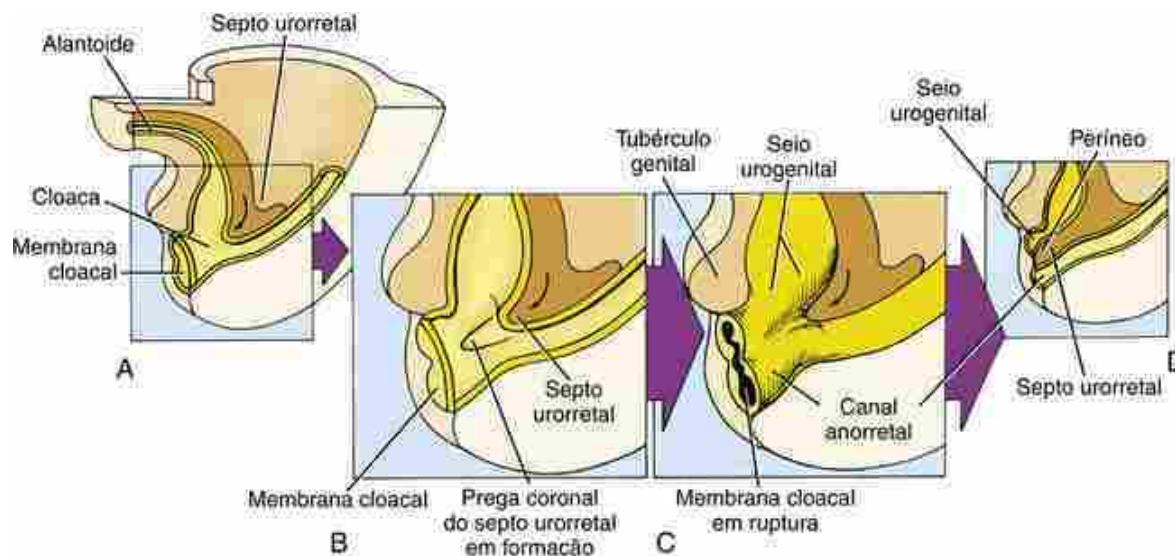


FIGURA 14-31 Etapas progressivas entre a 4^a e a 6^a semana na subdivisão da cloaca em um seio urogenital primitivo ventral e um canal anorrectal dorsal (A-D). O septo urorretal é formado pela fusão do mesoderma extraembrionário do saco vitelínico e do mesoderma associado ao alantoide, o que produz uma cunha de tecido entre o intestino posterior e o seio urogenital durante o dobramento craniocaudal do embrião. À medida que a ponta do septo urorretal se aproxima da membrana cloacal dividindo a cloaca em seio urogenital e canal anorrectal, a membrana cloacal se rompe, consequentemente abrindo o seio urogenital e o canal anorrectal dorsal para o exterior. A ponta do septo urorretal forma o períneo. A, B, D, Cortes através das estruturas cloacais e derivadas do endoderma relacionadas. C, Vista superficial do endoderma caudal para melhor retratar seu formato tridimensional. As setas curvas indicam a direção do crescimento do septo urorretal em desenvolvimento.

Com frequência, o septo urorretal é descrito como se formasse a partir de dois sistemas de septos mesodérmicos integrados: uma prega cranial (denominada prega de Tourneux), que cresce em direção à membrana cloacal, e um par de pregas laterais (denominadas pregas de Rathke), que crescem em direção à linha média da cloaca. Entretanto, um exame minucioso de embriões de camundongo, rato e humano sugere que o septo urorretal é formado pela fusão do mesoderma extraembrionário do saco vitelínico e do mesoderma da região do alantoide, que forma uma cunha de tecido entre o intestino posterior e o seio urogenital durante o dobramento craniocaudal do embrião (Fig. 14-2C para os locais do mesoderma da região caudal do saco vitelínico e do mesoderma da região do alantoide na região do intestino posterior, uma vez que essas regiões são reunidas durante o dobramento do corpo do embrião e a formação do cordão umbilical). À medida que o embrião humano cresce, a distância entre o septo urorretal e a membrana cloacal diminui. Não está claro se o septo urorretal desce em direção à membrana cloacal (composta pela justaposição do ectoderma com o endoderma) ativamente por meio de crescimento ou passivamente através de alterações no dobramento caudal do corpo do embrião e do aumento do volume de órgãos pélvicos. Independentemente disso, o septo urorretal e a membrana cloacal aproximam-se um do outro, mas, antes que eles possam se fundir, a membrana cloacal se rompe (por volta da 8^a semana). Isso abre o seio urogenital e o canal anorrectal dorsal para o exterior, com a ponta do septo urorretal formando a futura área perineal (Fig. 14-31C, D).

Estudos em camundongos mostram que a expressão de Shh é necessária para a manutenção da proliferação celular mesenquimal no septo urorretal, uma vez que a perda da sinalização por Shh resulta na falha da divisão da cloaca no seio urogenital e canal anorrectal. Mutações em vias de sinalização hedgehog em seres humanos também têm sido associadas a defeitos anorrectais.

À medida que a membrana cloacal se rompe, o mesoderma adjacente ao segmento fálico do seio urogenital se expande, gerando o **tubérculo genital**, que finalmente forma o falo. Com a ruptura da membrana cloacal, grande parte do assoalho do segmento fálico é perdido, enquanto que o teto do segmento fálico se expande ao longo da superfície

inferior do tubérculo genital à medida que o tubérculo genital aumenta de tamanho (Fig. 14-32). Esta extensão endodérmica forma a **placa urogenital** (Figs. 14-32 e 14-33). Conforme discutido no Capítulo 16, esta placa forma parte da uretra peniana em indivíduos do sexo masculino e o vestíbulo vaginal em indivíduos do sexo feminino. Em seguida, as **pregas urogenitais** (ou **pregas cloacais**) se formam em ambos os lados desta placa por meio da expansão do mesoderma subjacente ao ectoderma adjacente à placa urogenital.

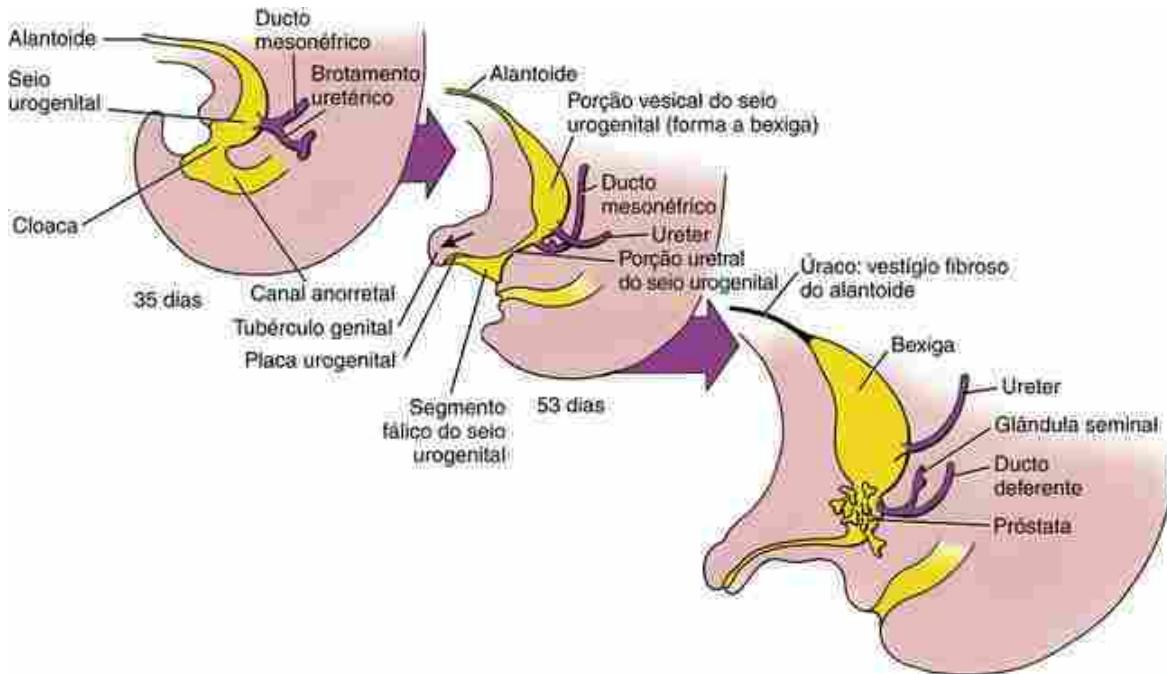


FIGURA 14-32 Destino do alantoide e do seio urogenital. O seio urogenital é subdividido em uma presumível bexiga, uma estreita região uretral e um segmento fálico. Normalmente, o alantoide se torna ocluído para formar o úraco (ou ligamento umbilical mediano) do adulto. Com a ruptura da membrana cloacal, o teto do segmento fálico forma uma placa urogenital de células endodérmicas que se alonga à medida que o tubérculo genital cresce.

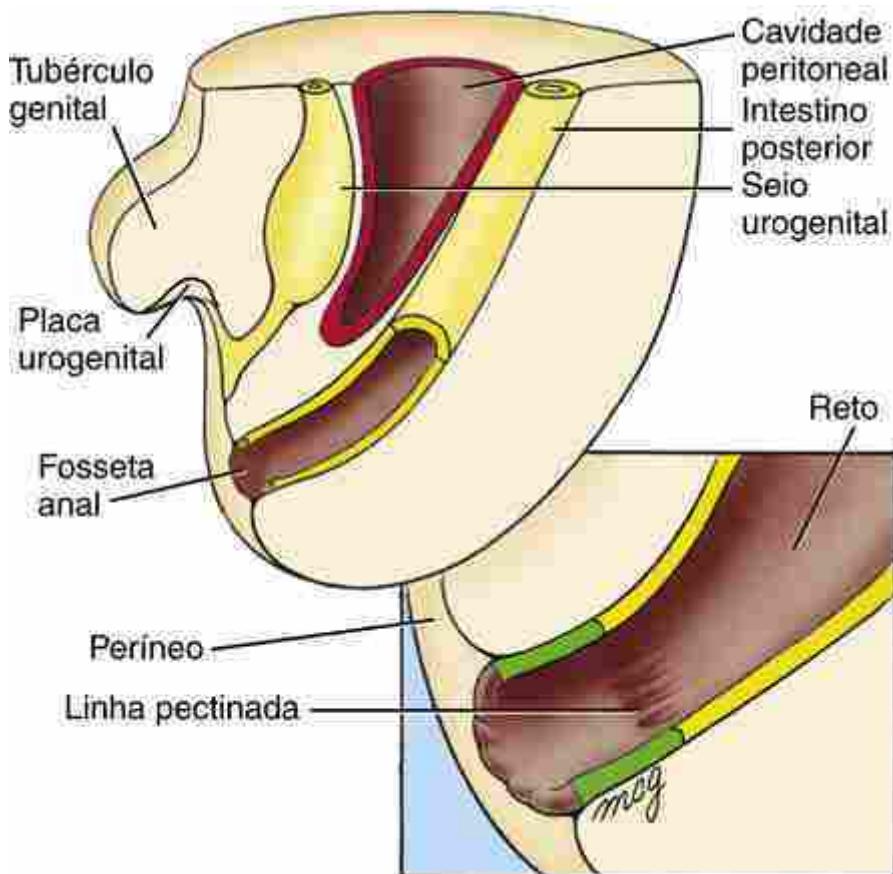


FIGURA 14-33 Desenvolvimento do ânus e do reto. Após a formação do orifício anorrectal, o mesênquima em torno do canal anal prolifera, formando uma borda elevada adjacente à abertura anal e constituindo uma fosseta anal. Os dois terços craniais do canal anorrectal definitivo é derivado da parte distal do intestino posterior (revestido por um epitélio derivado do endoderma, *em amarelo*); o terço inferior do canal anorrectal definitivo é derivado da fosseta anal (revestida por um epitélio derivado do ectoderma; *em verde*). A localização desta junção é demarcada no adulto como pregas da mucosa que constituem a linha pectinada.

Logo após a formação do orifício anorrectal, as paredes anorrectais se tornam opostas uma à outra e o lúmen se torna estreito. Ainda não se sabe, e há controvérsias, sobre se um tampão ectodérmico (por vezes referido como a membrana anal) oblitera temporariamente o canal anal à medida que o canal anorrectal se estreita em seres humanos. Enquanto isso, o mesênquima circunjacente ao canal anal prolifera, formando uma borda elevada adjacente à abertura anal, criando uma **fosseta anal** ou **proctodeu** (Fig. 14-33). Consequentemente, os dois terços craniais do canal anorrectal definitivo derivam da parte distal do intestino posterior (revestido com epitélio derivado do endoderma); o terço inferior do canal anorrectal definitivo é derivado da fosseta anal (revestida com epitélio derivado do ectoderma). A localização dessa junção é marcada no adulto por um pregueamento irregular da mucosa dentro do canal anorrectal, denominado **linha pectinada**. A vascularização do canal anorrectal é consistente com esta origem dupla: superior à linha pectinada, o canal é suprido por ramos e tributárias da artéria e da veia mesentéricas inferiores, respectivamente, que servem ao intestino posterior; inferior à linha pectinada, ele é suprido por ramos e tributárias da artéria e veia ilíacas internas, respectivamente. Anastomoses entre tributárias da veia retal superior e tributárias da veia retal inferior na mucosa do canal anorrectal podem, futuramente em condições patológicas, formar hemorroidas caso o fluxo sanguíneo portal normal para a veia cava inferior for restrito.

Na Clínica

Malformações anais

O desenvolvimento anormal do septo urorrectal pode fazer com que o reto termine em fundo cego na parede do corpo (Fig. 14-34A). Esta condição é chamada de **agenesia** ou **atresia anal**. O reto usualmente termina cranialmente ao diafragma pélvico, o qual em geral é acompanhado por uma fistula. Por vezes o canal anorrectal se forma normalmente, mas a membrana anal que separa as porções ectodérmica e endodérmica do ânus é anormalmente espessa. Este espessamento da membrana anal pode falhar em se romper ou pode romper incompletamente, resultando em um **ânus imperfurado** ou **estenose anal**, respectivamente (Fig. 14-34B).

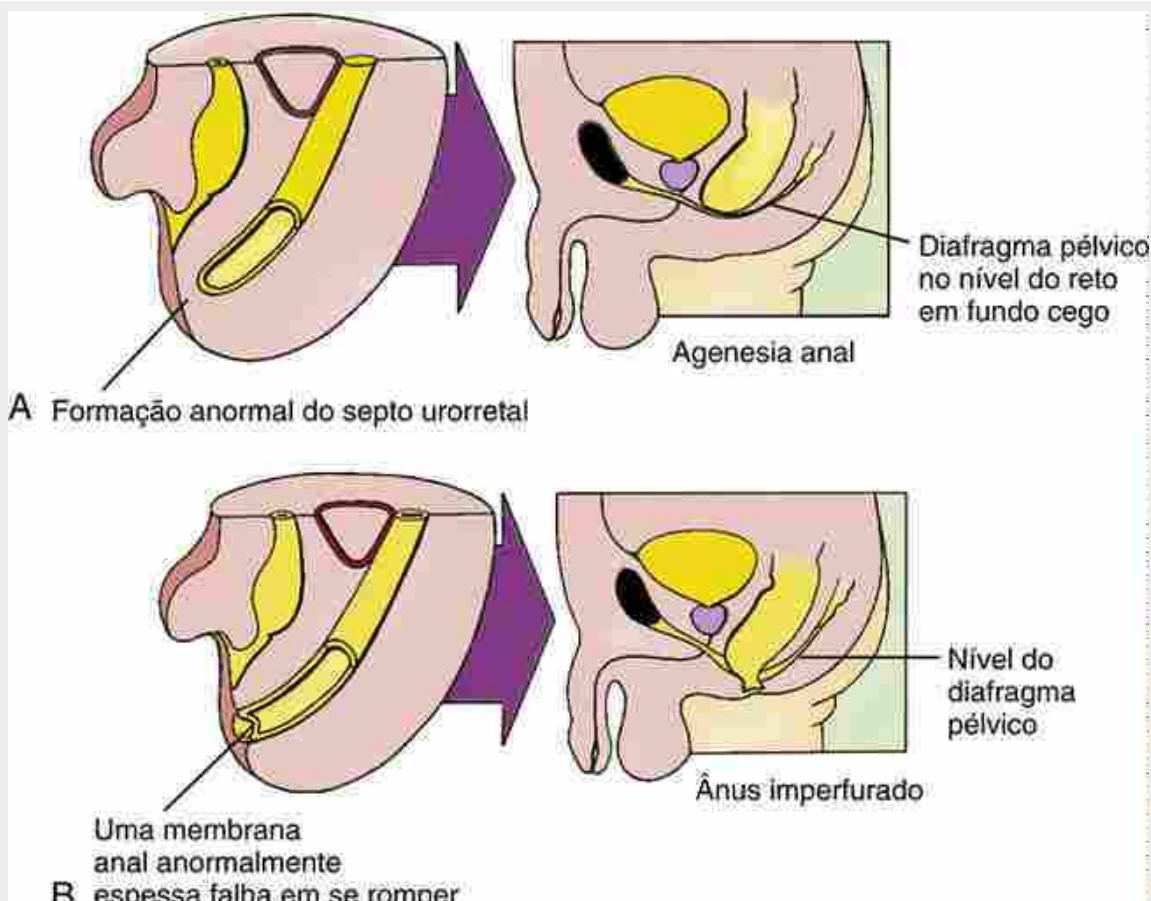


FIGURA 14-34 Anomalias do ânus. A, Agenesia anal resultante da falha na formação do septo urorretal propriamente dito. B, O ânus imperfurado pode ocorrer nos casos em que uma membrana anal anormalmente espessa falha em se romper.

A excessiva fusão dorsal das pregas urogenitais pode cobrir o ânus parcial ou completamente. Esta condição, denominada **ânus coberto**, usualmente ocorre em indivíduos do sexo masculino porque as pregas genitais não se fundem normalmente em todos os indivíduos do sexo feminino. A malformação resultante é denominada **occlusão anocutânea** caso o ânus esteja completamente coberto. Em alguns casos, um defeito no mesoderma perineal imediatamente anterior ao ânus resulta no desenvolvimento de uma abertura anal anterior deslocada, uma condição denominada **ânus deslocado anteriormente** ou **ânus ectópico anterior**.

Embriologia na Prática

Problema com bolhas

Um jovem casal que espera seu primeiro filho faz um ultrassom na 20^a semana em uma clínica da periferia. Eles são informados de que seu bebê tem uma anomalia em seu intestino e que este defeito pode significar que seu bebê tenha síndrome de Down.

Entre os numerosos “sinais” e achados clínicos procurados durante a avaliação por ultrassom na metade da gestação está o sinal de “dupla bolha”. O nome descreve uma distensão do estômago e da região proximal do duodeno por líquido, a qual persiste durante toda a gravidez (Fig. 14-35); sua causa é uma obstrução duodenal. Os ultrassonografistas são frequentemente alertados para a dupla bolha por meio do acompanhamento de polihidrâmnios.



FIGURA 14-35 Ultrassonografia na 37^a semana de gestação que mostra o sinal característico da “dupla bolha”, indicando a presença de uma obstrução duodenal.

As causas da obstrução duodenal fetal podem ser intrínsecas ou extrínsecas. As causas intrínsecas incluem atresia duodenal, estenose e uma trama duodenal.² As causas extrínsecas incluem as bandas de Ladd (um pedículo de peritônio que fixa o intestino à parede posterior do abdome e obstrui o intestino), má rotação do tubo gastrointestinal ou vôlvulos e pâncreas anular. Qualquer que seja a causa, a obstrução duodenal pode ser tratada cirurgicamente no período neonatal.

Entretanto, preocupações adicionais acompanham o sinal da dupla bolha devido à associação de atresia duodenal com outras anomalias fetais. Cerca de metade das vezes, a dupla bolha é um prenúncio de outras doenças ou malformações. A mais conhecida delas é a associação de atresia duodenal com a trissomia do 21 (síndrome de Down).

No caso do casal descrito, uma análise mais aprofundada do feto não revela nenhuma das preocupações associadas à trissomia do 21 (p. ex., defeitos congênitos do coração, espessamento nucal), e a avaliação do soro materno já tinha dado previamente um risco baixo (1:3800) de trissomia do 21. Independentemente disso, o ansioso casal opta por ter um estudo cromossômico por meio de amniocentese.

²**Nota da Revisão Científica:** O termo “trama duodenal” se refere à presença de uma membrana perfurada que obstrui o lumen duodenal, resultante de uma recanalização incompleta ou parcial deste lumen.

Leituras sugeridas

- Burn, S. F., Hill, R. E. Left-right asymmetry in gut development: what happens next? *BioEssays*. 2009; 31:1026–1037.
- Gittes, G. K. Developmental biology of the pancreas: a comprehensive review. *Dev Biol*. 2009; 326:4–35.
- Heanue, T. A., Pachnis, V. Enteric nervous system development and Hirschsprung’s disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nat Rev Neurosci*. 2007; 8:466–479.
- Pan, F. C., Wright, C. Pancreas organogenesis: from bud to plexus to gland. *Dev Dyn*. 2011; 240:530–565.
- Si-Tayeb, K., Lemaigre, F. P., Duncan, S. A. Organogenesis and development of the liver. *Dev Cell*. 2010; 18:175–189.
- Spence, J. R., Lauf, R., Shroyer, N. F. Vertebrate intestinal endoderm development. *Dev Dyn*. 2011; 240:501–520.
- van den Brink, G. R. Hedgehog signaling in development and homeostasis of the gastrointestinal tract. *Physiol Rev*. 2007; 87:1343–1375.

van der Flier, L. G., Clevers, H. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiol.* 2009; 71:241–260.

van der Putte, S. C. The development of the perineum in the human. A comprehensive histological study with a special reference to the role of the stromal components. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2005; 177:1–131.

Zorn, A. M., Wells, J. M. Vertebrate endoderm development and organ formation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2009; 25:221–251.

Desenvolvimento do Sistema Urinário

Resumo

O **sistema urinário** mantém o equilíbrio eletrolítico e de água dos fluidos do corpo que banham os tecidos em um ambiente salino aquoso. O desenvolvimento deste sistema envolve a formação transitória e a regressão subsequente ou remodelação do sistema primitivo vestigial, proporcionando, assim, uma visão da história evolutiva (outro indício é fornecido pelo desenvolvimento do aparato faríngeo, abordado no [Cap. 17](#)). O desenvolvimento do sistema reprodutivo está estreitamente integrado com os órgãos urinários primitivos em machos e fêmeas, assim como a maneira como eles compartilham estruturas tubulares similares comuns que permitem o transporte de gameta e urina. Portanto, este capítulo tem alguma correspondência com o [Capítulo 16](#), que abrange o desenvolvimento do sistema reprodutivo.

O **mesoderma intermediário** em ambos os lados da parede do corpo dorsal dá origem a três estruturas néfricas sucessivas de organização cada vez mais complexa. O mesoderma intermediário, também conhecido como **nefrótomo**, forma uma série segmentar de brotos epiteliais. Na região cervical, essas estruturas presumidamente representam um vestígio de **pronefros** ou rins primitivos, que se desenvolvem em alguns vertebrados inferiores. Como esses pronefros cranianos regressam na 4^a semana, um par alongado de mesonefros se sucede, se desenvolvendo nas regiões torácicas e lombares. Os mesonefros se tornam os primeiros rins funcionais, embora simples, formados no embrião: os **nefros**. Um par de **ductos mesonéfricos** (de Wolff ou **néfrico**) drena os mesonefros; estes crescem caudalmente para abrir na parede posterior do seio urogenital primitivo. Por volta da 5^a semana, um par de **brotos uretéricos** brota a partir dos ductos mesonéfricos distais, e interações tecido-tecido com o mesoderma intermediário sacral sobrejacente, vasos sanguíneos em desenvolvimento e nervos coletivamente dão origem aos **metanefros** ou rins definitivos.

Como descrito no [Capítulo 14](#), a cloaca (expansão distal do intestino posterior) é dividida em canal anorrectal dorsal e seio urogenital ventral. Este último é contínuo com o alantoide, que se projeta no cordão umbilical. A porção superior expandida do seio urogenital torna-se a bexiga, enquanto a porção inferior dá origem, no macho, à **uretra pélvica (membranosa e prostática)** e à **uretra peniana** e, na fêmea, à **uretra pélvica (membranosa)** e ao **vestíbulo da vagina**. Durante esse período, as aberturas dos ductos mesonéfricos são translocadas para baixo da uretra pélvica pelo processo que também posiciona as aberturas da uretra na parede da bexiga. Várias malformações no úraco, fistulas e anomalias no trato anorrectal podem ocorrer como resultado do desenvolvimento incorreto do septo urorrectal e da membrana cloacal.

Caso Clínico

Uma mulher grávida é vista na 20^a semana de gestação para seu segundo ultrassom transabdominal. As imagens revelam uma grave escassez de fluido amniótico (**oligo-hidrâmnio**) sem nenhuma evidência de perda de líquido amniótico. Os rins não estão sendo encontrados dentro da fossa renal ou em locais ectópicos. Ela consulta um especialista obstétrico de alto risco, e 2 semanas depois o ultrassom confirma a suspeita de diagnóstico de **agenesia renal bilateral** com base na ausência de rins, ureteres e bexiga e acompanhado de grave oligo-hidrâmnio.

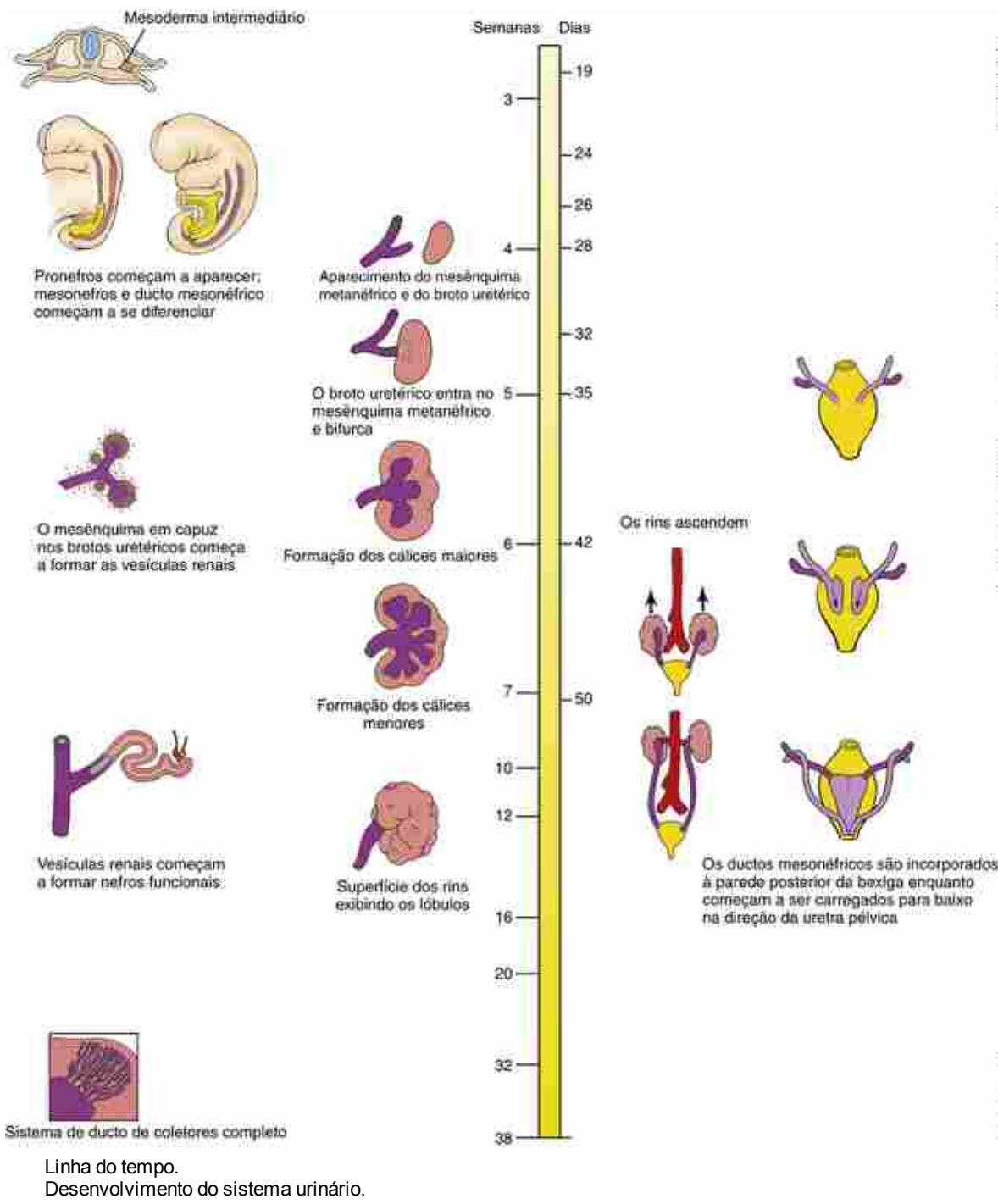
O especialista obstétrico comunica o diagnóstico aos pais e explica que é uma condição incompatível com a vida extrauterina. Os pais são informados sobre as opções. Eles podem decidir pela interrupção da gravidez agora ou seguir com o processo de gravidez, sabendo que o recém-nascido pode nascer morto ou vai sobreviver por apenas algumas horas. Embora não seja urgente decidir imediatamente, as dificuldades éticas e legais da interrupção da gravidez após 24 semanas são discutidas.

A incidência de agenesia renal bilateral é de aproximadamente 1 em 4.000 a 4.500 nascidos, e é uma condição mais comum em homens. Como a principal fonte de líquido amniótico a partir da 16^a semana de gestação é a produção de urina, o mais proeminente recurso de diagnóstico pré-natal de agenesia renal bilateral é um reduzido ou ausente líquido amniótico. Como consequência, os neonatos são caracterizados por um universo de anomalias (**sequência de Potter**), incluindo uma face plana, contraturas nos membros, orelhas de implantação baixa e pele

seca e enrugada. A mortalidade de neonatos é acompanhada de **hipoplasia pulmonar** causada por alteração dinâmica de circulação de líquido pulmonar durante o desenvolvimento. A agenesia renal bilateral é associada a outras anomalias estruturais em mais de 50% dos casos, incluindo ausência da bexiga, atresia anal, atresia esofágica e anomalia genital.

A agenesia renal é uma característica frequente em síndromes causadas por mutações em um único gene (p. ex., genes EYA1 RET, GDNF, SIX1, WT1) ou é associada a anomalias cromossômicas como a trissomia 13, 18 e 21, ou deleção do 22q11.2. Cerca de um terço dos casos associa-se a herança autossômica dominante com penetrância variável. Estima-se que 9% a 14% dos parentes de primeiro grau de recém-nascidos com agenesia renal bilateral ou disgenesia apresentam anomalias renais. Portanto, recomenda-se que as mães sejam avaliadas quanto a possíveis defeitos renais no momento do ultrassom pré-natal e que tanto os pais quanto os irmãos passem por avaliação genética e aconselhamento. O risco de recorrência em uma gravidez subsequente é estimado em 3% a 6%.

A sequência de Potter pode ter múltiplas causas. Outro quadro clínico que resulta nas síndromes é mostrado no quadro “Embriologia na Prática” deste capítulo e no “Caso Clínico” do [Capítulo 6](#).



Três sistemas néfricos surgem durante o desenvolvimento

Como abordado no [Capítulo 3](#), o mesoderma intraembrionário formado em cada lado da linha média durante a gastrulação diferencia-se em três subdivisões: mesoderma paraxial, **mesoderma intermediário** (também chamado de **nefrótomo**) e mesoderma lateral ([Fig. 15-1](#)). Os destinos da placa lateral mesodérmica e paraxial são discutidos em outros capítulos. O mesoderma intermediário dá origem a estruturas néfricas de embrião, porções das glândulas suprarrenais, gônadas e ao sistema ducto genital. Durante o desenvolvimento embrionário, três sistemas néfricos se desenvolvem sucessivamente no sentido craniocaudal a partir do mesoderma intermediário. Esses sistemas são denominados **pronefros**, **mesonefros** e **metanefros** (ou rins definitivos). A formação do rim pronéfrico (p. ex., pronefro) estabelece as bases para a indução dos mesonefros, e eles, por sua vez, estabelecem as bases para a indução dos metanefros. Assim, a formação de um pronefro é realmente o início de um desenvolvimento em cascata que conduz à formação do rim definitivo.

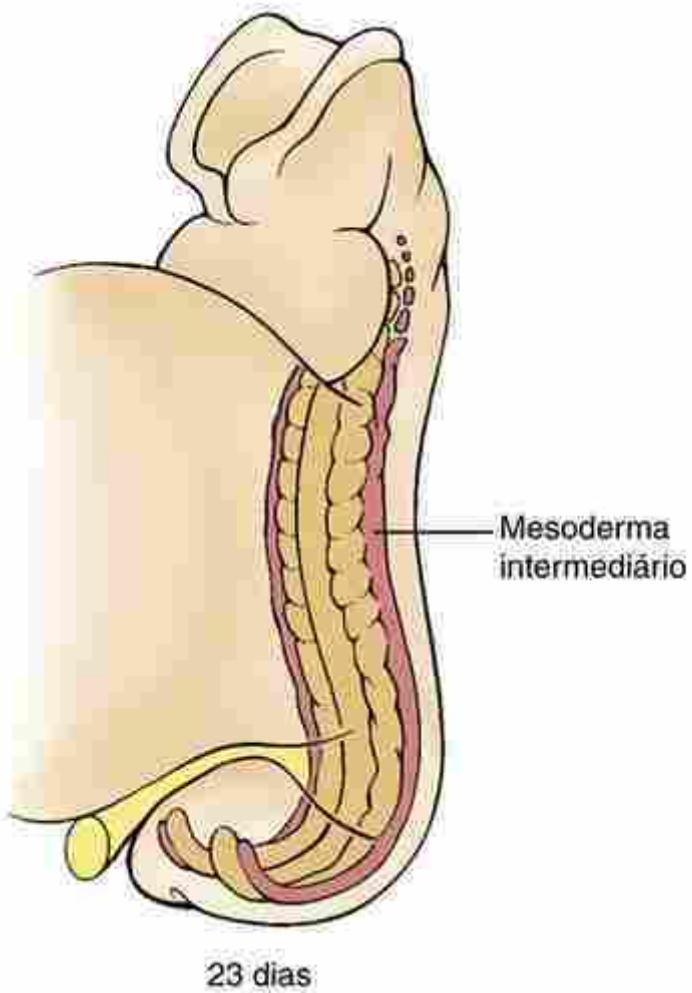
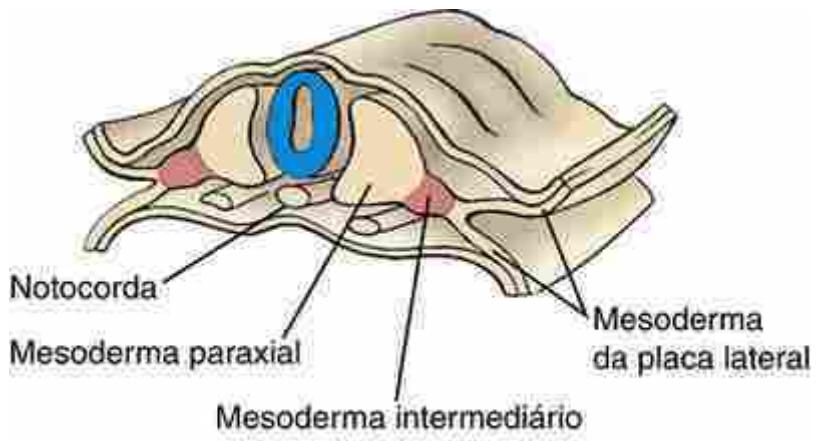


FIGURA 15-1 O mesoderma intermediário. O mesoderma intermediário dá origem a pares de brotos segmentadamente organizados da região sacral e cervical.

Formação dos ductos pronéfricos e mesonéfricos

No início da 4^a semana, o mesoderma intermediário ao longo do 5º ao 7º nível do eixo cervical dá origem a um pequeno ducto gerado pela epitelização de parte do mesoderma intermediário. Este ducto é denominado **ducto mesonéfrico (ducto de Wolff ou néfrico)**. O ducto mesonéfrico aparece primeiro como uma haste longitudinal maciça que se condensa dentro do mesoderma intermediário, começando na região do pronefro (Figs. 15-2A-C e 15-3). Essas condensações longitudinais se desenvolvem na direção caudal, guiadas por mecanismos induktivos durante a contínua transição mesênquima-epitélio das células nas suas extremidades caudais. Enquanto isso, o mesoderma intermediário ventrolateral e adjacente ao ducto mesonéfrico condensa e se reorganiza em uma série de brotos epiteliais (Fig. 15-2).

Esses brotos, que rapidamente tornam-se ocos, constituem o **pronefro** (do grego *pronephroi*, “primeiro rim”) porque se assemelham a pronefros embrionários funcionais de alguns vertebrados inferiores. Em humanos, essas unidades não chegam a se diferenciar em estruturas excretoras funcionais; em vez disso, cessam o desenvolvimento e desaparecem por volta do 24º ou 25º dia.

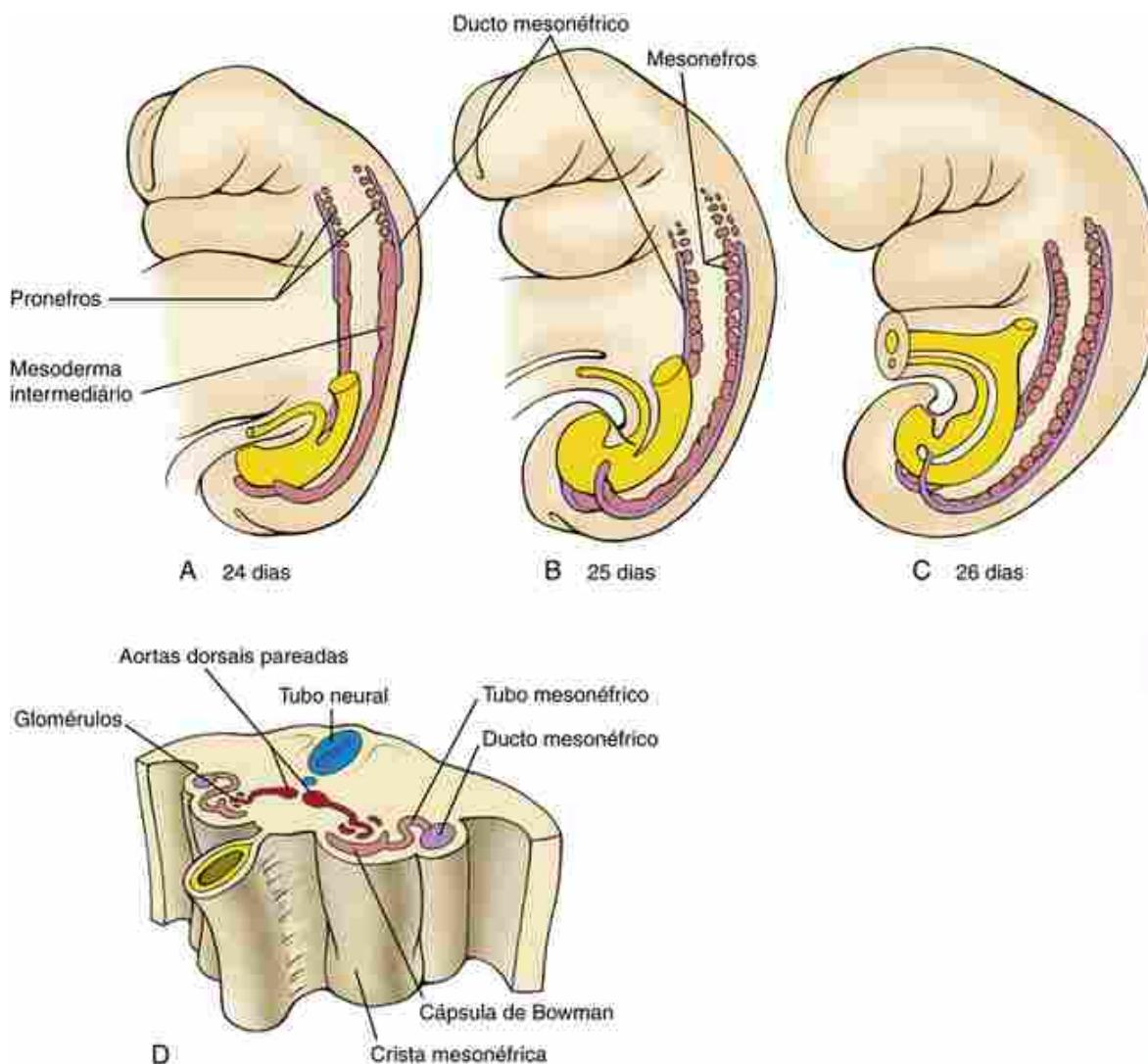


FIGURA 15-2 Desenvolvimento do pronefro e do mesonefro. *A*, Um par de pronefros se forma ao longo do 5º para o 7º segmento cervical, mas rapidamente se degenera durante a 4ª semana. O ducto mesonéfrico aparece primeiro no 24º dia. *B, C*, Formas de túbulos mesonéfricos na sequência craniocaudal em toda a região lombar e torácica. Pares mais craniais regressam enquanto os mais caudais se formam, e os mesonefros definitivos contêm cerca de 20 pares, confinados nos três primeiros segmentos lombares. *D*, Os mesonefros contêm unidades néfricas que consistem em glomérulos, cápsulas de Bowman, túbulos mesonéfricos e ductos mesonéfricos.

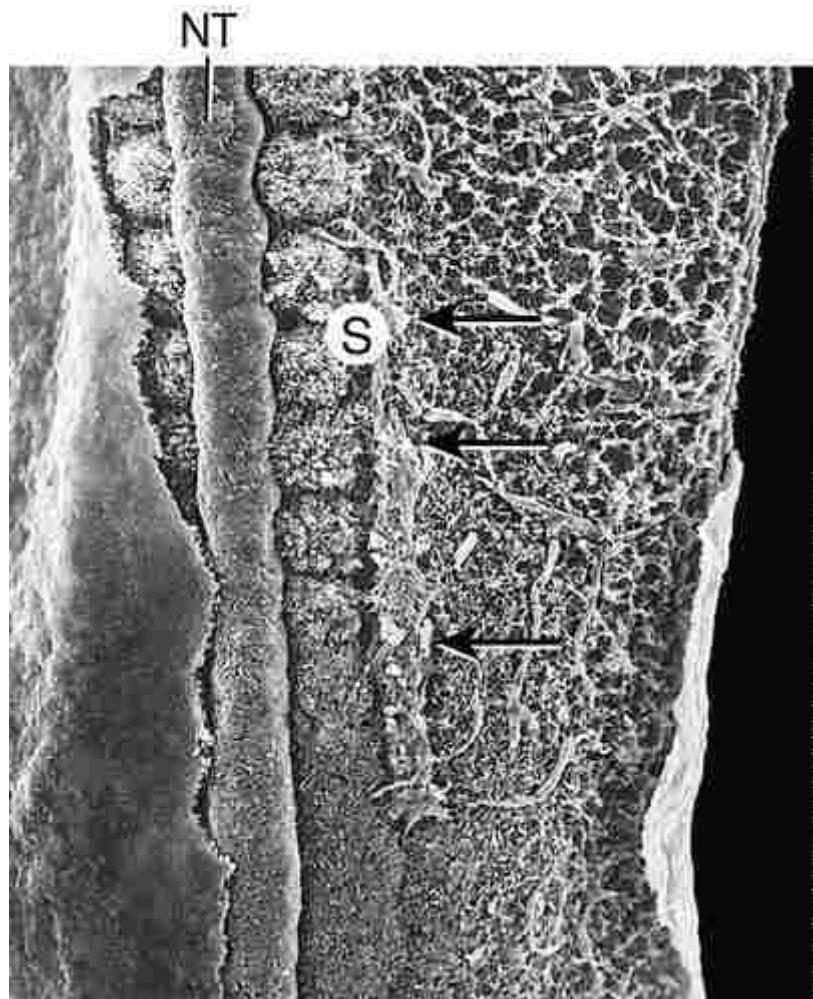


FIGURA 15-3 Formação do ducto mesonéfrico. Eletromicrografia de varredura mostra o crescimento do ducto mesonéfrico (*seta*) bem ao lado de um somito (S) de um lado do embrião. O ducto é alongado na direção cranial-para-caudal. A superfície foi removida para revelar o mesoderma subjacente. NT, tubo neural.

Conforme os ductos mesonéfricos se desenvolvem e expandem caudalmente, eles induzem a formação de **brotos mesonéfricos** no mesênquima do mesoderma intermediário mais caudal, desse modo iniciando a formação de mesonefros (Fig. 15-2B,C). Conforme os ductos crescem para a região lombar inferior, eles divergem do mesênquima do mesoderma intermediário e crescem na direção da parede ventrolateral da cloaca, fundindo-se a ela no 26º dia (Figs. 15-2 e 15-4A). Essa região da fusão se tornará uma parte da parede posterior da futura bexiga. Quando o bastão de células se funde com a cloaca, eles começam a cavitação em sua extremidade caudal, formando um lúmen, e esta canalização progride cranialmente. O final caudal de cada ducto mesonéfrico induz a evaginação de um broto uretrérico (Fig. 15-4).

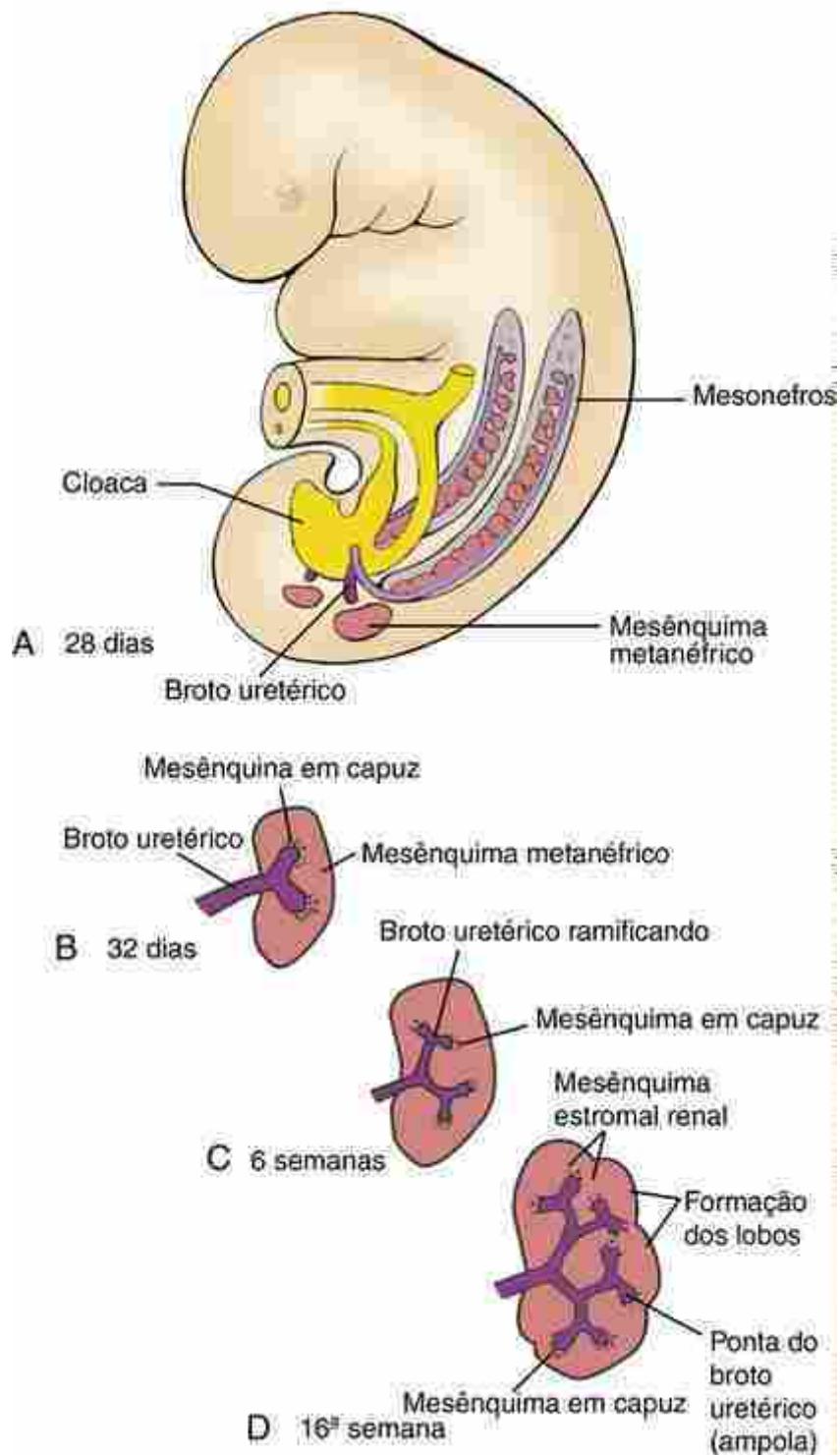


FIGURA 15-4 Origem dos metanefros. A, O mesênquima metanéfrico se desenvolve do mesoderma intermediário de cada lado do eixo do corpo inicialmente na 5^a semana. Simultaneamente, cada ducto mesonéfrico gera um broto uretérico que cresce dentro do mesênquima metanéfrico. B, D, Por volta da 5^a semana, o broto uretérico bifurca e duas pontas crescem (ampolas) induzindo os lobos cranial e caudal dos metanefros. Como a ponta do broto uretérico cresce e ramifica, cada uma adquire um agregado do tipo capuz de mesênquima metanéfrico. A interação célula-célula entre células da ponta uretrérica e células do mesênquima em capuz conduzem a ramificação contínua dos lóbulos renais durante as próximas 10 semanas.

Desenvolvimento do mesonefro

No início da 4^a semana, túbulos mesonéfricos começam a se desenvolver nos brotos mesonéfricos adjacentes ao ducto mesonéfrico em ambos os lados da coluna vertebral, da região torácica superior até o terceiro nível lombar (Fig. 15-2B-

D). Cerca de 40 **túbulos mesonéfricos** são produzidos sucessivamente no sentido craniocaudal no interior desse mesenquima mesonéfrico. Como as gônadas começam a se desenvolver medialmente à crista mesonéfrica, esta região é por vezes coletivamente denominada **crista urogenital**. Conforme os túbulos mais caudais se formam, os mais craniais regredem, logo, nunca existirão 30 pares nos mesonefros. No final da 5^a semana, a região craniana dos mesonefros sofre regressão massiva, restando somente cerca de 20 pares de túbulos ao longo dos três primeiros níveis lombares. Os túbulos mesonéfricos diferenciados nas unidades excretoras se parecem com uma versão abreviada do nefro metanéfrico no adulto ([Fig. 15-2D](#); discutido mais adiante), com o final medial do túbulo formando um saco no formato de taça, denominado **cápsula de Bowman**, que envolve um tufo de capilares, chamado **glomérulo**, para formar o **corpúsculo renal**.

As pontas laterais do 6º e do 7º túbulos mesonéfricos craniais se fundem com o ducto mesonéfrico, abrindo assim a passagem das unidades excretoras para a cloaca. Essas unidades excretoras mesonéfricas começam a funcionar por volta da 6^a à 10^a semana e produzem uma pequena quantidade de urina. Depois da 10^a semana, eles cessam a função; eles regredem na fêmea, enquanto no macho acredita-se que darão origem aos díctulos eferentes. Como abordado no [Capítulo 16](#), os ductos mesonéfricos também regredem na fêmea. Entretanto, no macho, os ductos mesonéfricos persistem e formam importantes elementos do sistema genital masculino.

No Laboratório de Pesquisa

Especificação da linhagem néfrica

Um dos primeiros genes expresso no mesoderma intermediário nefrogênico é Pax2. Camundongos deficientes de Pax2 formam ducto mesonéfrico nas regiões pronéfrica e mesonéfrica, mas o ducto mesonéfrico falha se não se estender para a região metanéfrica. Assim, o metanefro não se desenvolve (pois é dependente da ramificação do ducto mesonéfrico caudal). Quando camundongos duplos nocautes para Pax2 e Pax8 (outros membros da família Pax expressos no mesoderma intermediário) são gerados, o mesoderma intermediário não forma nenhuma porção do ducto mesonéfrico nem expressa marcadores néfricos Lhx1 (Lim homeobox1) e Ret (ambos necessários para o subsequente desenvolvimento do rim metanéfrico). Um dos alvos das atividades de Pax2 e Pax8 é Gata3, que é necessário para a ativação Ret e especificação da linhagem néfrica. Pax2 particularmente é um potente iniciador do desenvolvimento do nefro; estruturas néfricas ectópicas podem ser induzidas em quase todo o mesoderma intermediário, incluindo o da crista genital, quando Pax2 é expresso ectopicamente por meio da transfecção de vírus no mesoderma de embriões de galinha no estado de linha primitiva.

A interação tecidual responsável por especificar a linhagem néfrica no mesoderma intermediário é incerta, mas esta linhagem parece depender do somito em desenvolvimento, pois a expressão Pax2 e Lhx1 é perdida em embriões de galinha se o mesoderma intermediário for separado do somito. Além disso, pode-se induzir um tecido pronéfrico ectópico no mesoderma intermediário e na placa lateral através do enxerto de somitos em localizações ectópicas. O ectoderma pode também ter um papel na manutenção ou especificação da capacidade néfrica do mesoderma intermediário; a remoção do ectoderma sobrejacente diminui a expressão de Pax2 e Lhx1 pelo mesoderma intermediário e ocorre a perda de sua capacidade nefrogênica. Portanto, fatores secretados de tecidos adjacentes são necessários para induzir e manter o mesoderma néfrico.

Desenvolvimento dos metanefros

Os rins definitivos ou **metanefros** são compostos por dois componentes funcionais: a porção excretora e a porção coletora. Estas duas porções são derivadas de diferentes sítios do mesoderma intermediário ([Tabela 15-1](#)). O desenvolvimento do metanefro envolve conversão mesenquimal-para-epitelial, formação e elongação do tubo epitelial, ramificação tubular, condensação celular, angiogênese e especificação e diferenciação dos numerosos tipos especializados de células.

Tabela 15-1**Composição das estruturas da porção excretora e coletora do metanefro**

Porção Coletora (Broto Uretérico)	Porção Excretora (ou Nefro) (Mesênquima Metanéfrico)
Ureter	Cápsula de Bowman
Pelve renal	Túbulo contorcido proximal
Cálice maior e menor	Alça de Henle
Ductos coletores	Túbulo contorcido distal

A formação dos metanefros inicia com a indução e formação de um par de novas estruturas, os **brotos uretéricos**, no mesoderma intermediário da região sacral. Um broto uretérico brota da porção caudal de cada ducto mesonéfrico por volta do 28º dia (Fig. 15-4). No 32º dia, cada broto uretérico penetra a porção sacral do mesoderma intermediário, chamado de **mesênquima metanéfrico**, e o broto começa a bifurcar (Figs. 15-4B e 15-5). Conforme o broto uretérico se bifurca, cada nova **ponta uretérica (ampola uretérica)** em crescimento adquire um agregado de tecido mesenquimal metanéfrico em forma de coifa denominado **blastema metanefrogênico**. Por volta do final da 16ª semana, 14 a 16 lóbulos serão formados, dando aos metanefros uma aparência lobulada.

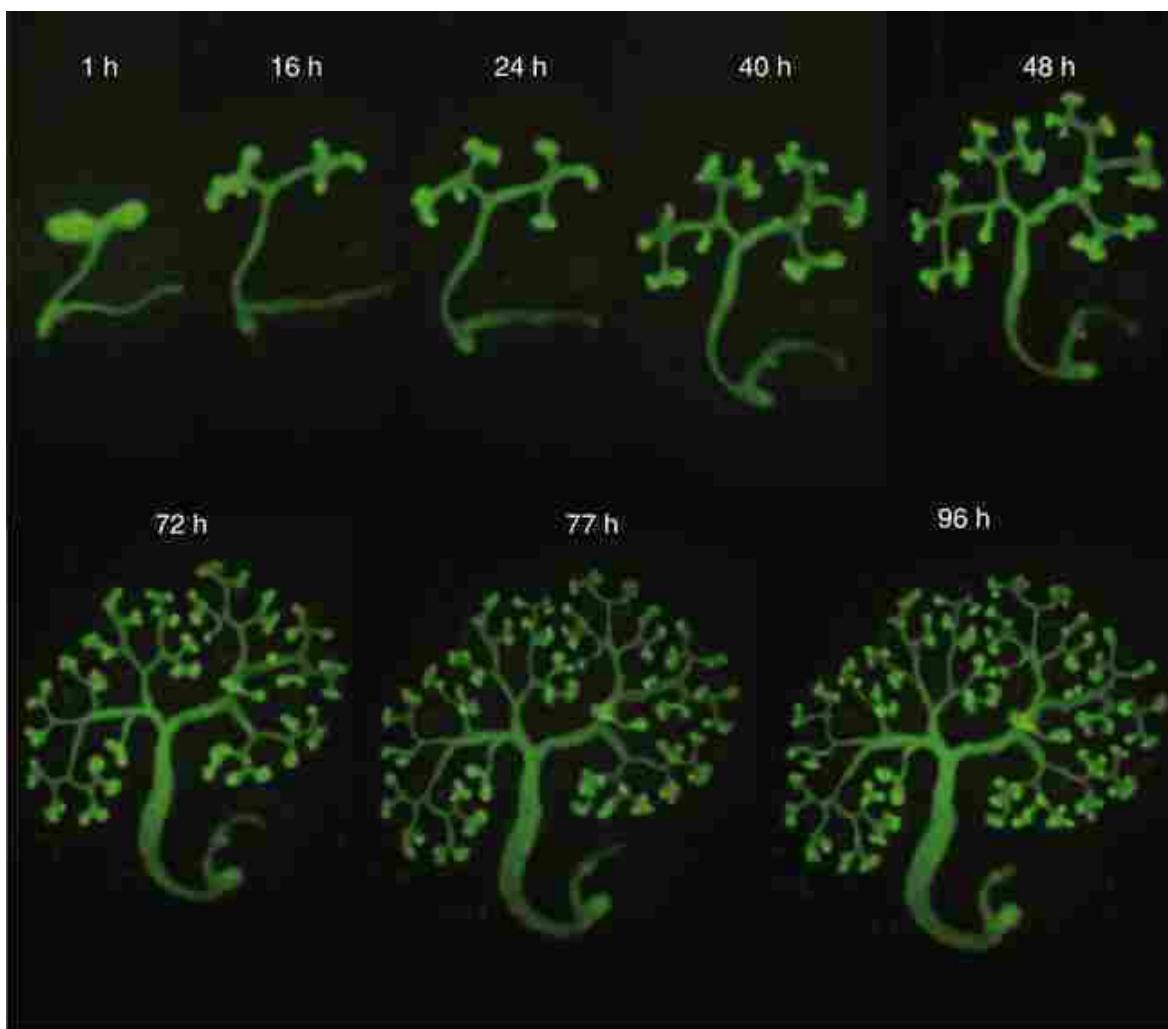


FIGURA 15-5 Imagens ao longo do tempo da ramificação do broto uretérico na região metanéfrica isolada de um camundongo transgênico E11.5 e colocado em cultura de órgão. A expressão induzida por Hoxb7 de uma proteína fluorescente ligada à membrana foi utilizada para visualizar o epitélio uretérico.

O sistema de ductos coletores e ureteres dos rins se diferenciam do broto uretérico; os **nefros** (as unidades definitivas formadoras de urina dos rins) se diferenciam do mesênquima metanéfrico. Nos rins maduros, a urina produzida pelos

nefrons flui através do sistema coletor consistindo de ductos coletores, cálice maior, cálice menor, pelve renal e, finalmente, o ureter. Este sistema é inteiramente derivado do broto uretrérico. O broto uretrérico sofre uma sequência exata de bifurcações (Fig. 15-6), e os cálices maior e menor expandidos surgem através de fases em que os ramos previamente formados se aglutanam. Quando o primeiro broto uretrérico se expande para dentro do mesênquima metanéfrico, sua ponta se expande para formar uma ampola inicial que dará origem a **pelve renal**. Durante a sexta semana, o broto uretrérico bifurca quatro vezes, produzindo dezesseis ramos. Esses ramos, em seguida, aglutanam-se para formar 2 a 4 **cálices maiores** se estendendo da pelve renal. Por volta da 7^a semana, as quatro próximas gerações de ramos também se aglutanam formando os **cálices menores**. Em 32 semanas, aproximadamente serão adicionadas 11 gerações de bifurcações, que formarão de um a três milhões de ramos e se tornarão os futuros **ductos coletores** dos rins (Fig. 15-6F). A morfologia definitiva dos ductos coletores é criada por variações da padronização dos ramos pela tendência dos ramos distais em elongar.

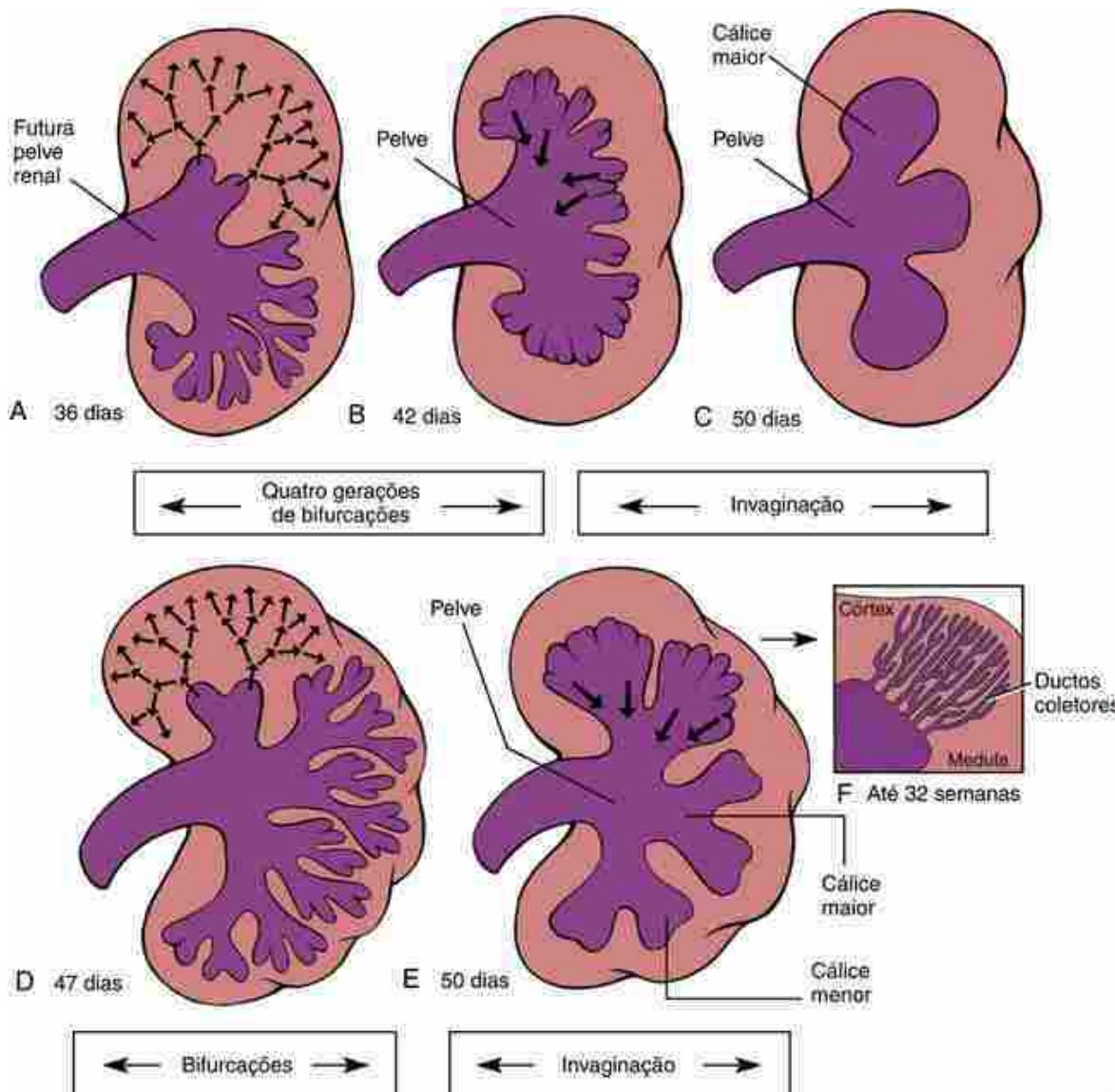


FIGURA 15-6 Desenvolvimento dos cálices e da pelve renal. A-C, A primeira bifurcação do botão uretrérico forma a pelve renal, e a coalescência das quatro seguintes gerações de bifurcações produz os principais cálices. D, E, As próximas quatro gerações de bifurcações se aglutanam para formar os cálices menores do sistema coletor renal. F, Brotos uretréricos continuam a bifurcar até a 32^a semana, produzindo 1 a 3 milhões de dutos coletores.

Como o nefro e o ducto mesonéfrico do rim mesonéfrico, a diferenciação do nefro metanéfrico depende de sinais induktivos entre o broto uretrérico e o mesênquima em capuz adjacente (veja o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Fatores Expressos no Mesoderma Metanéfrico Regulam a Indução e a Ramificação do Broto Uretérico”). Como os brotos continuam a crescer dentro do futuro córtex renal, algumas das células do mesênquima metanéfrico chegam a ficar adjacentes à **haste uretrérica** (a porção do broto uretrérico encontrada imediatamente adjacente à ponta

uretérica: [Fig. 15-7A, B](#)), onde as células se condensam e sofrem conversão mesênquima-epitélio para formar a **vesícula renal**. Várias horas em contato direto entre a haste uretérica e a vesícula renal em formação são requeridas para induzir a diferenciação subsequente do nefro na vesícula renal. Se o broto uretrérico estiver ausente ou anormal, o nefro não se desenvolverá. Por outro lado, **sinais indutores recíprocos** a partir da capa mesenquimal regulam a ramificação ordenada e o crescimento das pontas em bifurcação dos brotos uretréricos. O número de nefros formados, em última análise, depende do crescimento e ramificação do broto uretrérico e da proliferação do mesênquima metanéfrico, bem como da formação da vesícula renal e da conversão em túbulos epiteliais.

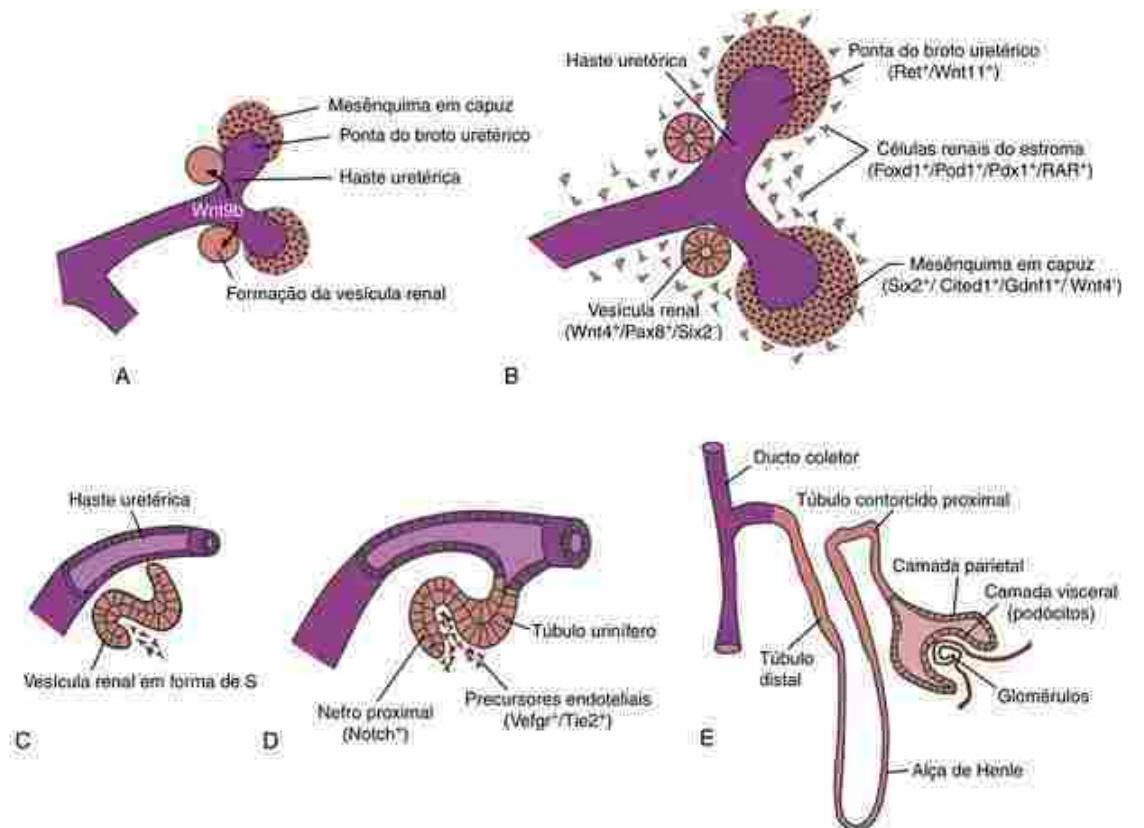


FIGURA 15-7 Desenvolvimento dos nefros e da vesícula renal. **A, B**, Interação recíproca indutiva entre a ponta do broto uretrérico e o mesênquima em capuz ordenando a ramificação e crescimento do broto e proliferação continuada de células-tronco no mesênquima em capuz. Wnt4b, expresso pela haste uretrérica, promove a expressão de Wnt4 nas células do mesênquima em capuz que se encontram ao lado da haste uretrérica, e essas células sofrem conversão mesenquimal-para-epitelial, formando a vesícula renal; Wnt4 é necessário para a manutenção da sobrevivência deste mesênquima e para a subsequente diferenciação dos nefros. As células estromais expressam Foxd1, Pod1 e Pdx1 e receptores de ácido retinoico, Rara e Rar β 2, todos necessários para o equilíbrio do estroma e para especificação e sobrevivência dos progenitores do nefro. **C-E**, A vesícula renal se desenvolve em um tubo em forma de S, funde-se com a haste uretrérica e forma o nefro. A sinalização de Notch no tubo em forma de S delimita a porção proximal do nefro, incluindo as camadas proximais e viscerais da cápsula de Bowman, túbulos contorcidos proximais e distais e as alças de Henle. Unidades funcionais néfricas (do tipo mostrado em **E**) aparecem primeiramente na região distal dos metanefros em 10 semanas.

Cada nefro originado da vesícula renal deriva da proliferação do mesênquima adjacente. A formação de nefros a partir dessas vesículas se dá em vários estágios. Primeiro, a vesícula néfrica desenvolve uma estrutura em forma de vírgula, a qual depois gera um tubo em forma de S ([Fig. 15-7C, D](#)). O tubo em S se funde à haste uretrérica e, eventualmente, os dois lumens se tornam contínuos, formando um **túbulo urinífero**. Enquanto isso, o segmento do futuro corpúsculo renal (porção proximal) do tubo em S forma a camada externa (parietal) da cápsula de Bowman e as células epiteliais glomerulares (**podócitos**) que circundam o tufo glomerular de capilares em desenvolvimento no estroma adjacente. Enquanto o corpúsculo renal está se formando, o tubo urinífero em alongamento forma os restantes elementos do nefro: tubo contorcido proximal, membros ascendente e descendente da alça de Henle e o tubo contorcido distal ([Fig. 15-7E](#)). A medula do rim também comece a tomar forma com o crescimento dos túbulos dos nefros e com o desenvolvimento do tecido intersticial. Em humanos, a **nefrogênese** está completa ao nascimento.

A morfogênese do suprimento vascular renal durante o desenvolvimento do nefro e dos sistemas coletores é pouco compreendida. A cultura de órgãos e experimentos de enxertos interespécies mostra que a angiogênese é

provavelmente o principal mecanismo responsável pelo desenvolvimento da vasculatura renal, incluindo os capilares glomerulares. Entretanto, o mesênquima metanéfrico pré-vascular expressa marcadores vasculogênicos (p. ex., Vegf, Vegfr, Tie2) e, se o tecido fetal renal de camundongos for enxertado no interior da câmara anterior do olho (uma área desprovida de vasos sanguíneos), o tecido enxertado poderá formar capilares, sugerindo que tenha uma capacidade intrínseca de vasculogênese.

Durante a 10^a semana, os metanefros começam a funcionar. O plasma sanguíneo dos capilares glomerulares é filtrado no corpúsculo renal para a produção de um filtrado glomerular diluído, que é concentrado e convertido em urina pela atividade dos túbulos contorcidos e da alça de Henle. A urina é passada adiante no sistema coletor para o ureter e daí para o interior da bexiga. Embora os rins fetais produzam urina durante o restante da gestação, a principal função não é a de limpar o sangue de produtos residuais; essa tarefa é feita principalmente pela placenta. Em vez disso, a produção de urina fetal é importante porque a urina contribui para a formação do fluido amniótico. Fetos com **agenesia renal bilateral** (completa ausência de ambos os rins) não têm fluido amniótico suficiente (**oligo-hidrâmnio**) e logo estão confinados a um pequeno espaço amniótico anormal. Isso leva ao desenvolvimento de uma condição denominada **sequência de Potter** (abordada a seguir no quadro “Na Clínica” intitulado “Agenesia Renal e Displasia” e no “Caso Clínico” e “Embriologia na Prática” deste capítulo, bem como no “Caso Clínico” do [Cap. 6](#)).

A [Figura 15-8](#) mostra uma estrutura geral de um rim fetal definitivo. Esta estrutura reflete os eventos das dez primeiras semanas do desenvolvimento renal, ou seja, semanas cinco a quinze do desenvolvimento intrauterino. O rim é dividido em uma medula interna e um córtex externo. O tecido cortical contém os ductos coletores e os nefros, enquanto a medula contém os ductos coletores e a alça de Henle. Cada cálice menor drena uma árvore de ductos coletores de uma **pirâmide renal**; os ductos coletores convergem para formar a **papila renal**. Zonas de tecido cortical contendo nefros denominadas colunas renais separam as pirâmides renais do rim. Assim, no rim definitivo, o tecido cortical não só torna-se a camada periférica do rim, mas também forma projeções que crescem na direção da pelve. No entanto, todos os nefros no tecido cortical surgem a partir de regiões corticais do mesênquima metanéfrico.

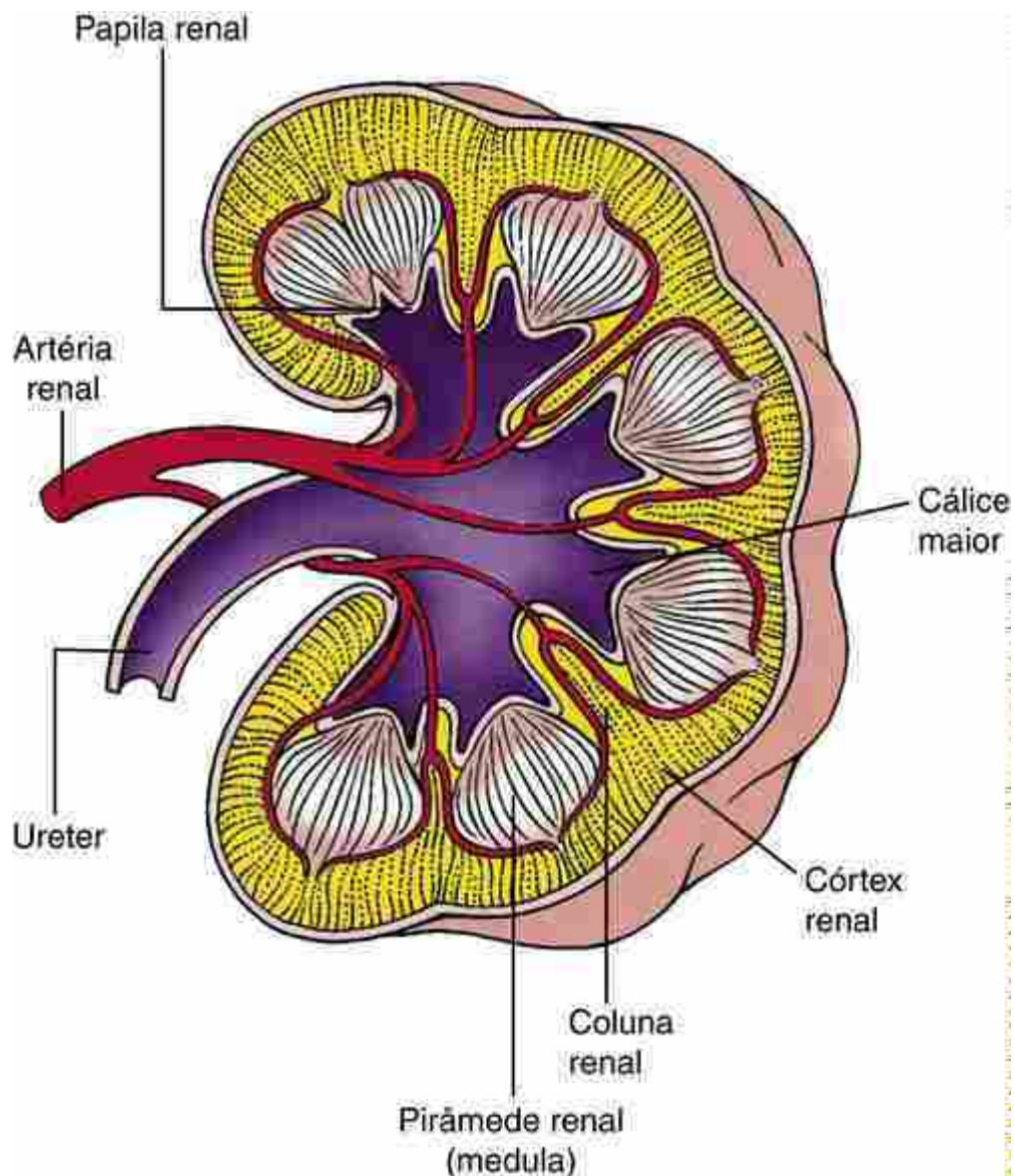


FIGURA 15-8 A arquitetura renal definitiva dos metanefros é aparente por volta da 10^a semana.

O sistema nervoso autonômico do rim, que regula o fluxo sanguíneo e a função secretora, surge de células da crista neural que invadem o metanefro no início de seu desenvolvimento. Mais aspectos do desenvolvimento do sistema nervoso autonômico do abdome e da pelve são abordados no [Capítulo 10](#).

No Laboratório de Pesquisa

Fatores expressos no mesoderma metanéfrico regulam indução e ramificação do broto uretérico

O que诱导 a formação de broto uretérico e especifica sua localização ao longo do ducto mesonéfrico? Parece que a indução e localização do broto uretérico é amplamente dependente do mesênquima nefrogênico do mesoderma intermediário. A formação do broto uretérico no ducto mesonéfrico é induzida por sinais oriundos do mesoderma adjacente e envolve o receptor Ret, seu correceptor, Gfr1 α e seu ligante Gdnf. Ret e Gfr1 α são expressos no ducto mesonéfrico, enquanto o ligante, Gdnf (e também Gfr1 α), é expresso no mesênquima metanéfrico (Fig. 15-9). A expressão ectópica de Gdnf em outro lugar do mesoderma intermediário é suficiente para induzir um broto uretérico ectópico, e camundongos deficientes de Ret ou Gndf exibem agenesia renal bilateral. Portanto, a falha na interação tecido-tecido entre o mesoderma metanéfrico e o ducto mesonéfrico mediado através da sinalização de Ret pode ser responsável pela formação de rins duplos ou pela agenesia renal vista em humanos. Em humanos com agenesia, aproximadamente 40% têm mutação em Ret e 5% a 10% têm mutação no GDNF.

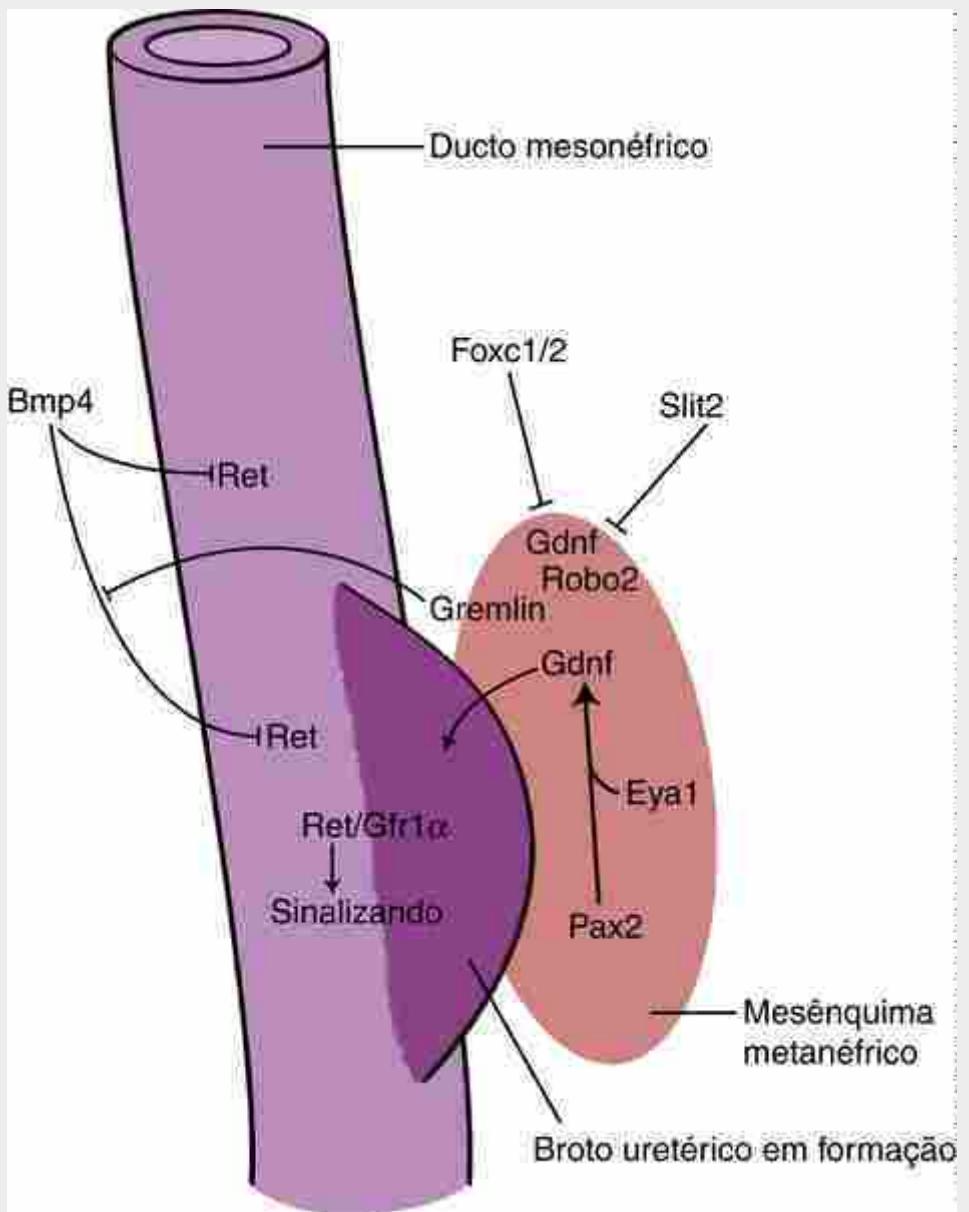


FIGURA 15-9 O posicionamento da formação do broto uretrérico é mediada por sinalização Ret. A expressão de Ret no epitélio do ducto mesonéfrico é restrita a porções caudais do ducto por Bmp4 liberado pelo mesenquima cranial da crista urogenital e por *gremlin*, um inibidor de Bmp expresso pelo mesenquima metanéfrico. A expressão mesenquimal do ligante Ret, Gdnf, requer a expressão de Pax2 na crista urogenital, mas é restrita à região metanéfrica pela expressão craniana de Foxc1, Foxc2 e Slit2 no mesenquima. Robo2, o receptor para Slit2, é expresso no mesenquima da crista urogenital.

Experimentos sugerem que o posicionamento craniocaudal da formação do broto uretrérico pode ser o resultado da repressão de determinantes nefrogênicos nas regiões mais craniais do mesoderma intermediário. Genes *forkhead* compõem um grupo de fatores de transcrição que parecem estar envolvidos. A expressão Foxc1/2 é normalmente restrita ao final da porção cranial do mesoderma nefrogênico. Quando Foxc1 é deletado em camundongo ou Foxc1/2 heterozigotos nulos são gerados, brotos uretréricos ectópicos se formam ao longo de uma vasta porção do ducto mesonéfrico. Um fenótipo semelhante é observado em camundongos deficientes em Slit2 ou em seu receptor Robo2 (moléculas de sinalização que guiam o crescimento axonal; Cap. 10). Foxc1/2 e Slit2/Robo2 talvez reprimam a expressão de Gdnf na região mais cranial porque a expressão de Slit2 ocorre em um gradiente cranial-caudal no mesenquima e que é o inverso da expressão Gdnf.

A Bmp4 é outra molécula de sinalização extracelular implicada em restringir o desenvolvimento do broto uretrérico. Camundongos com deficiência de Bmp4 desenvolvem brotos uretréricos ectópicos e ureteres duplos. Bmp4 é normalmente expresso no mesoderma circundante ao ducto mesonéfrico e brotos uretréricos, mas não no próprio ducto mesonéfrico. Experimentos sugerem que Bmp4 inibe sinalização Ret dentro do ducto mesonéfrico (Fig. 15-9), em vez de alterar o nível Gdnf liberado do mesoderma, pois Bmp4 pode bloquear o efeito de Gdnf ectópico na formação do broto uretrérico em cultura de órgão metanéfrico. O mesenquima metanéfrico também

produz Gremlin, um inibidor Bmp4, bloqueando assim qualquer potencial de inibição de Bmp sobre a sinalização de Ret nesta região.

Outros fatores importantes na formação e brotamento do broto uretrico são Eya1 (do inglês *eyes absent 1*; olhos ausentes 1) e o grupo de genes homeóticos Hox11. Os mutantes deficientes desses genes não conseguem ativar Gdnf e não desenvolvem brotos uretricos. Assim, a indução e a posição do broto uretrico parecem depender de um equilíbrio entre a ativação mediada pelo mesoderma e a regulação negativa da sinalização do Ret no ducto mesonéfrico. Várias malformações podem surgir se os brotos uretricos brotarem em locais incorretos ao longo de ducto mesonéfrico, e como resultado, os ureteres podem ser posicionados incorretamente na parede dorsal da bexiga em desenvolvimento.

O broto uretrico induz condensação do mesoderma nefrogênico enquanto o mesoderma conduz ramificação e crescimento uterino contínuos

Conforme o broto uretrico cresce e se ramifica no mesoderma metanéfrico, o mesenquima adjacente se condensa ao redor das pontas dos ramos uretricos. Essas condensações eventualmente servem como os primórdios dos nefros. Entretanto, a sinalização recíproca do mesenquima metanéfrico é necessária para contínua expansão e ramificação dos brotos uretricos para formarem o ureter, os cálices, os túbulos e ductos coletores.

Um dos genes identificados como importante na ramificação do broto uretrico em humanos foi o gene **WT1 (SUPPRESSOR TUMORAL WILMS 1)** (não deve ser confundido com Wnt1, um membro da família *wingless*). WT1 é essencial para o desenvolvimento urogenital normal. WT1 é aumentado no mesenquima metanéfrico durante a condensação, e continua a ser expresso durante a transição mesenquimal-para-epitelial responsável por formar a vesícula renal epitelial. Camundongos que perdem o gene WT1 falham na indução dos brotos uretricos, embora o Gdnf ainda seja expresso pelo mesenquima em capuz, sugerindo que o WT1 opera independentemente da sinalização Gndf. Um exame mais detalhado de camundongos-nocaute para WT1 evidenciou ondas de apoptose ocorrendo no mesenquima metanéfrico, começando no início da condensação do mesenquima. Embora o papel preciso de WT1 no desenvolvimento renal não esteja claro, parece que WT1 faz com que a população mesenquimal se torne receptiva aos sinais indutivos derivados do broto uretrico e que são necessários para a manutenção da população mesenquimal. Portanto, a incapacidade de manter condensação do mesenquima em capuz adjacente ao broto uretrico pode ser a razão para a falha no crescimento e ramificação do broto uretrico nestes camundongos.

O mesenquima em capuz pode ser dividido em dois grupos: mesenquima mantenedor da população de "células-tronco" do capuz, e o mesenquima induzido a condensação e a gerar a vesícula renal. A expressão de Wt1, Six2 (*sine oculis homeobox homolog-2*) e Cited1 ("Cbp/p300-interacting transactivator with Glu/Asp-rich carboxil-terminal domain 1") no mesenquima em capuz (Fig. 15-7B) é necessário para manter a propriedade tronco do mesenquima em capuz proliferativo, e a perda da expressão reduz rapidamente a população de células mesenquimais em capuz, impedindo, assim, novas ramificações uretricas e formação do nefro. Ao nascimento, a expressão Six2 desaparece nos camundongos, convertendo todas as células mesenquimais em capuz remanescentes em nefros. Não se sabe o que desencadeia essa perda da expressão.

Um dos primeiros marcadores induzidos na condensação do mesenquima em capuz é a expressão de Wnt4, membro da família *wingless*. A expressão de Wnt4 é necessária para a transformação mesenquimal-epitelial e formação da vesícula renal, pois, em sua ausência, a vesícula renal e os nefros não se formam. Além disso, em culturas de órgãos, Wnt4 pode induzir formação de nefros na ausência do epitélio do broto uretrico, e recentes estudos sugerem que Wnt4 induz a conversão mesenquimal-epitelial através da via de sinalização cálcio-dependente não canônica. O que o epitélio do broto uretrico libera que regula *in vivo* a expressão de Wnt4 no mesenquima? Evidências sugerem que é Wnt9b (Fig. 15-7A). Em camundongos deficientes de Wnt9b, o broto uretrico sofre ramificação, mas o mesenquima não se condensa e sofre transição mesenquimal-para-epitelial, resultando em agenesia do nefro. O Wnt9b é expresso pelo epitélio do broto uretrico, e, em culturas de explantes, Wnt9b pode substituir o epitélio uretrico, promovendo a nefrogênese. Vários membros da família *frizzled* (receptores de Wnt) também são expressos no mesenquima em capuz. Entretanto, o papel deles na via de sinalização mediada por Wnt durante o desenvolvimento renal ainda é incerto.

A padronização dos rins durante o desenvolvimento depende das interações entre os ramos uretricos e o mesenquima nefrogênico em condensação, mas isso também envolve interação com as células estromais intersticiais circundante, ao mesenquima em condensação (Fig. 15-7B). A expressão de Fgf8 no mesenquima metanéfrico medeia as ramificações através da expansão do compartimento estromal necessário à manutenção da população mesenquimal do capuz. Sem Fgf8, poucas vesículas renais se formam e o desenvolvimento é interrompido. Six1 (*sine oculis homeobox homolog-1*) e Cited1 comprometem o mesenquima para linhagem renal epitelial, enquanto células do estroma especificamente expressam Foxd1, Pod1 e Pdx1. Camundongos com mutação nula para os genes Foxd1, Pod1 e Pdx1 desenvolvem rins pequenos e dismórficos com defeitos nas ramificações e nos nefros. Todos os três camundongos-nocaute expressam Ret ectopicamente ao longo de todo

epitélio uretérico em vez de apenas nas pontas uretéricas. Essa expansão da expressão de Ret pode ser responsável pelos defeitos de ramificação observados nesses camundongos, já que defeitos semelhantes são obtidos com a superexpressão de Ret. Estudos sugerem que Foxd1, Pod1 e Pdx1 podem também regular o balanço das especificações entre um progenitor néfrico e um estromal. Por exemplo, em culturas de explantes de metanefro de rato, fatores de crescimento que induzem o crescimento estromal, Fgf2 e Bmp7, aumentam o número de células positivas para Foxd1 à custa da população néfrica.

Outro fator de sinalização estromal importante na padronização do rim é o ácido retinoico. Os receptores de ácido retinoico, Rara e Rar β 2 são expressos exclusivamente no compartimento estromal do rim em desenvolvimento (Fig. 15-7B). Embriões de camundongos deficientes de Rara e Rar β 2 não têm a expressão de Ret iniciada no broto uretérico, o que resulta em agenesia renal. Além disso, tais camundongos, deficientes nesses receptores, exibem uma expressão ectópica de Foxd1, Pod1 e Pbx1 no epitélio uretérico. O desenvolvimento renal normal pode ser resgatado se a expressão Ret for restaurada nesses camundongos. Por isso, Rara, Rar β 2, Foxd1, Pod1 e Pbx1 são normalmente expressos exclusivamente no compartimento estromal; esses experimentos implicam que sinais essenciais que influenciam a expressão de Ret no broto uretérico também emanam do estroma.

Formação do nefro por meio da conversão mesenquimal-para-epitelial do mesênquima

O mesênquima adjacente à ponta do ramo do prolongamento uretérico é circundado pela matriz extracelular, que rapidamente muda em composição em resposta às influências induutivas do epitélio da haste uretérica. Inicialmente, o mesênquima adjacente à haste é circundado pela matriz extracelular, que contém colágeno intersticial (tipo I e tipo III), fibronectina e sindecans. Contudo, com a indução, os colágenos tipo I e tipo III são substituídos pelo colágeno tipo IV, a fibronectina é substituída pela laminina e o mesênquima começa expressando proteoglicanos de sulfato de heparan. À medida que o mesênquima condensado se forma, ele aumenta a expressão de Ncam caderina-11 e sindecan-1 (bem como Wnt4), mas estes começam a desaparecer à medida que aumentam os níveis de R-caderina, caderina-6 e E-caderina, e o mesênquima começa a assumir a organização de um epitélio. O aumento da expressão de integrina α 6 e α 8 ocorre concomitantemente com as alterações que conduzem a polarização celular e a formação epitelial.

O processo responsável pela condução da conversão do mesênquima para epitélio é desconhecido, mas, como já discutido antes, é necessária a indução de Wnt4 no epitélio do broto uretérico. Durante a fase de condensação, a expressão de Wnt4 aumenta e é mantida conforme o mesênquima é convertido em um epitélio em forma de vírgula e depois em um epitélio em forma de S. Se Wnt4 for eliminado no camundongo, o mesênquima começará a condensação, mas, em vez de se organizar em um epitélio, ele entrará em apoptose.

A troca de caderina desempenha um papel importante no estabelecimento da polaridade da célula epitelial. Intracelularmente, as caderinas interagem com o citoesqueleto através de uma rede de α , β e γ cateninas. Conforme as células alteram os tipos de caderinas associadas a organização de um epitélio, as β -cateninas se tornam localizadas na superfície lateral das células. Portanto, além de mediar a atividade transcricional de β -catenina, a sinalização de Wnt no mesênquima nefrogênico provavelmente altera a atividade de caderina necessária à conversão mesenquima-epitelial.

Uma vez formada, a vesícula renal em forma de S se funde com a haste do broto uretérico para formar um tubo contínuo epitelial. Como a vesícula renal se estende, ele deve adquirir designações de regiões proximais e distais para formar segmentos proximais e distais. A padronização proximal-distal da vesícula em forma de S é dependente da sinalização de notch (15-7C, D). Camundongos nulos para notch2 perdem todo o segmento proximal (isto é, cápsula glomerular parietal e visceral, túbulos contorcidos proximais e alça de Henle), mas tem ramificação uretérica normal e porções distais do nefro. Além disso, a ativação forçada da sinalização de notch na parte distal da vesícula renal em forma de S pode transformar essa região para assumir destinos proximais.

Na Clínica

Agenesia renal e displasia

Os rins podem falhar no desenvolvimento de um ou ambos os lados por causa de falhas nas interações tecido-tecido entre o broto uretérico e o mesênquima nefrogênico e estromal. Bebês com **agenesia renal bilateral** são natimortos ou morrem poucos dias após o nascimento. Em contraste, as crianças com **agenesia renal unilateral** geralmente vivem porque o rim remanescente sofre hipertrofia compensatória. As frequências relativas de agenesia renal unilateral e bilateral são difíceis de determinar porque agenesia renal unilateral muitas vezes passa despercebida, os dados de autópsia sugerem que a agenesia renal unilateral é de cerca de quatro a oito vezes mais comum do que a agenesia renal bilateral.

A agenesia renal é tipicamente associada a outros defeitos congênitos. Os rins contribuem para o fluido

amniótico. Portanto, agenesia renal bilateral resulta em **oligo-hidrâmnio** ou insuficiente líquido amniótico (também abordados no [Cap. 6](#)). O oligo-hidrâmnio pode resultar em um espectro de anormalidades denominado **sequência de Potter**. Essas anormalidades incluem membros deformados; pele seca enrugada e fácies anormal (neste contexto, fácies significa “aparência facial”), que consiste em olhos bem definidos com víncos infraorbitais na pele, nariz em bico, queixo recuado e implantação baixa das orelhas. A agenesia renal é frequentemente associada a um espectro de anomalias genitourinárias ipsilaterais, incluindo defeitos em estruturas derivadas do ducto mesonéfrico em machos e ducto paramesonéfrico (ducto de Müller) nas fêmeas. A falha no desenvolvimento do ducto mesonéfrico leva à ausência de ambos os canais deferentes e do rim, porque o rim se desenvolve a partir do crescimento deste ducto, que no sexo masculino é também o progenitor dos vasos deferentes ([Cap. 16](#)). Isso pode ocorrer bilateralmente ou unilateralmente.

Rins anormais podem resultar de interações indutivas anormais. Em alguns casos, os defeitos subtils na interação entre o broto ureterico e o mesênquima metanéfrico resultam em hipoplasia ou displasia do rim em desenvolvimento. Um pequeno número de nefros em um rim hipoplásico resulta tanto de ramificação inadequada do broto ureteral ou a partir de uma resposta inadequada pelo tecido metanéfrico do capuz. Em casos de displasia renal, os próprios nefros se desenvolvem de forma anormal e consistem em ductos revestidos por epitélios primitivos indiferenciados dentro de espessas camadas de tecido conjuntivo. As causas genéticas para algumas dessas anomalias renais estão começando a ser identificadas. Mutações em PAX2 estão associadas com a transmissão dominante de hipoplasia e displasia renal (visto em **síndrome renal-coloboma**). Mutações que conduzem a haploinsuficiência de Gata3 são responsáveis pela **síndrome HDR (hipoparatireoidismo-surdez e doença renal)**, em que os pacientes apresentam múltiplas deficiências, incluindo displasia renal. Mutações em EYA1 (um fator de transcrição necessário para a expressão do Gdnf e, portanto, do broto ureterico desenvolvimento) e SIX1 (um fator de transcrição que interage com EYA1) causam **síndrome BOR (brânquio-otorrenal)** (abordada no “Caso Clínico” do [Cap. 18](#)). Além de anomalias renais, os indivíduos EYA1 haploinsuficientes podem desenvolver cistos de faringe fissurados e têm defeitos tanto na orelha externa quanto na interna.

Mutações que causam patologias nos nefros

Os sistemas glomerulares e tubulares do nefrônio são compostos de tipos de células altamente especializadas responsáveis pela secreção de resíduos. Filtração inicial ocorre entre as células capilares e podócitos no glomérulo. Defeitos em processos na base dos podócitos dos capilares circundantes e defeitos na membrana basal que separa os dois geralmente resultam na perda excessiva de proteínas na urina (**proteinúria**).

Em modelos animais, as mutações em vários genes e genes-alvos foram identificadas como associadas a formação e função glomerular deficientes. Pdgfs e seus receptores exercem um papel importante no desenvolvimento do corpúsculo renal. Inicialmente, os receptores Pdgf e Pdgf são expressos em todo o mesênquima néfrico, células do estroma e células vasculares, porém, mais tarde, tornam-se restritos para **células mesangiais** intraglomerulares (pericitos essenciais dos capilares glomerulares). Caso o ligante Pdgfb ou receptor Pdgfr β seja eliminado em camundongos, os glomérulos ficam desprovidos de células mesangiais e não conseguem formar tufo capilar normal. A formação glomerular é iniciada e as linhagens endoteliais e podócitos estão presentes, mas eles simplesmente não se organizam de modo adequado quando não há células mesangiais.

Camundongos sem o gene que codifica a integrina $\alpha 3$ apresentam anomalias renais graves, resultando em defeitos nos estágios mais avançados da nefrogênese. Embora o número de nefros formados seja o mesmo que em camundongos de tipo selvagem, os leitos capilares circundantes dos túbulos proximais contorcidos são anormais, a membrana basal glomerular é desorganizada e os podócitos falham na formação de processos base.

Mutações no WT1 estão associadas a várias malformações renais e são a causa mais comum (embora raros) de tumores nos rins das crianças. O **tumor de Wilms** (nefroblastoma) afeta aproximadamente 1:10.000 crianças. A inativação de mutações no gene supressor de tumor, WT1, é responsável por 10% a 15% desses neoplasmas. Tumores são tipicamente diagnosticados em crianças de 3 ou 4 anos de idade; felizmente, elas podem ser tratadas com quimioterapia e a taxa de cura fica em cerca de 80% a 90%. Wt1 é encontrado no cromossoma humano 11p13, e mutações no WT1 levam a malformações dos sistemas urinário e genital.

Modificações pós-transcrição de RNAm de WT1 levam à produção de até 24 isoformas diferentes de WT1 como resultado de *splicing* alternativo de RNAm, da presença de múltiplos códons de iniciação ou de edição de RNA. As alterações na proporção de duas variantes de processamento alternativo do gene WT1 – WT1 (-Kts) e WT1 (+ Kts), e cada um deles tem um local de ligação de DNA diferente e distinta atividade transcrecional – podem conduzir a um desenvolvimento anormal glomerular. Por exemplo, uma mutação heterozigótica que causa diminuição nos níveis de WT1 (+KTS) está associada à **síndrome de Frasier**. Esses pacientes desenvolvem **esclerose renal mesangial** (espessamento anormal da membrana glomerular basal e da matriz extracelular mesangial) com insuficiência renal progressiva e gônadas com listras (WT1 tem um papel fundamental no desenvolvimento inicial

gonadal, como descrito no [Cap. 16](#); gônadas com listras, também chamadas de raia, são subdesenvolvidas), além de tumores de Wilms.

Mutações heterozigóticas em WT1 também estão ligadas à **síndrome de Denys-Drash**. Esses pacientes apresentam malformações do aparelho geniturinário, incluindo ambiguidade sexual, bem como subdesenvolvimento de podócitos e nefropatia glomerular causada pela esclerose mesangial difusa que leva à fase final da insuficiência renal. Neste caso, a mutação é restrita ao *locus* de WT1, em que uma mutação sem sentido resulta na substituição de arginina por triptofano no resíduo 394 no domínio do dedo de zinco da proteína WT1. Outras mutações que ocorrem neste domínio dedo de zinco também foram identificadas em crianças com síndrome de Denys-Drash. Em adultos, a expressão de WT1 no rim é restrita a podócitos glomerulares. WT1 regula PODOCALIXINA, uma proteína de membrana integral ligada ao citoesqueleto do podócito e sobre a qual supõe-se que mantém a forma tridimensional do podócito. Mutações no gene WT1 causam glomerulopatias associadas a síndromes de Denys-Drash e Frasier, possivelmente por desregulação da expressão de PODOCALIXINA.

Mutações humanas nos genes que codificam para NEPHRIN (NPHS1, uma proteína de fenda de membrana de podócito) ou PODOCIN (NPHS2), ou a perda de COLÁGENO TIPO IV na membrana basal (como visto na **síndrome de Alport**) podem levar a defeitos na função glomerular em humanos. Em camundongos, o gene Kreisler (ou MafB) regula os níveis de expressão de nefrina e podocina glomerular e é necessário para o desenvolvimento normal dos podócitos. Camundongos mutantes para Kreisler apresentam defeitos glomerulares e proteinúria.

Aproximadamente 40% a 50% das crianças com **síndrome de Alagille**, um distúrbio autossômico dominante devido a mutações no NOTCH2 ou o seu ligante, JAG1, exibem várias formas de doença renal e displasia, incluindo glomeruloesclerose, nefronofitíase juvenil, acidose renal e insuficiência renal. Mutações no gene LMX1B (LIM homeobox FATOR DE TRANSCRIÇÃO 1 BETA) são responsáveis pela **síndrome da unha-patela**, que é caracterizada por anomalias ósseas e disfunção glomerular. A expressão de LMX1B está envolvida na regulação da transcrição do COLÁGENO TIPO α 3 (IV) (ou ANTÍGENO GOODPASTURE), COLÁGENO TIPO α 4 (IV) e genes NPHS2, que, assim, se ligam juntos à síndrome da unha-patela, Alport e síndrome nefrótica congênita (causada por uma mutação no gene NPHS1).

Doença renal congênita policística

A **doença renal policística autossômica dominante (DRPAD)** é uma doença genética comum associada à formação de cistos nos rins e ductos epiteliais no fígado, pâncreas, ovários e testículos. Mutações nos genes que codificam POLICISTINA1 (PDK1) e POLICISTINA2 (PDK2) contam para 85% e 15% de DRPAD, respectivamente. As funções precisas das proteínas POLICISTINA1 e POLICISTINA2 ainda não foram elucidadas. No entanto, POLICISTINA1 parece ser necessária para o alongamento normal e a maturação das estruturas tubulares durante o desenvolvimento renal. Ela pode também funcionar como um canal mecanossensorial em cílios. Essas funções podem ser relacionadas com a capacidade de PDK1 de modular a sinalização de Wnt ao estabilizar níveis endógenos de β -catenina, alterando a expressão do gene β -catenina/TCF-dependente.

A **doença renal policística autossômica recessiva (DRPAR)** está associada a genes envolvidos na mediação da função ciliar. DRPAR é causada por mutações no gene PKHD1, que codifica a proteína POLIDUCTINA (também chamada FIBROCISTINA). Esta proteína é necessária para a montagem e função correta dos cílios. Os pacientes nos quais o gene sofre mutação desenvolvem lentamente cistos renais, hepáticos e biliares. As mutações ocorrem no HNF β 1 e TG737/POLARIS, dois outros genes associados a montagem e função ciliar, também associados à doença renal policística. O papel desempenhado pelos cílios na manutenção da estrutura normal renal, hepática e biliar ainda não está claro.

Deslocamento dos rins

Entre a 6^a e a 9^a semana, os rins se deslocam para a região lombar precisamente abaixo da glândula suprarrenal, seguindo um caminho em ambos os lados da aorta dorsal ([Fig. 15-10](#)). O mecanismo responsável por esse deslocamento para cima (cranial) não é compreendido, embora o crescimento diferencial das regiões lombar e sacral do embrião possa estar envolvido neste processo. Como descrito no [Capítulo 13](#), o rim é progressivamente revascularizado por uma série de brotamentos arteriais da aorta dorsal ([Fig. 13-16](#)), e a artéria renal original da região sacral desaparece. O rim direito geralmente não sobe tão alto quanto o rim esquerdo devido à localização do fígado no lado direito, embora este não seja sempre o caso.

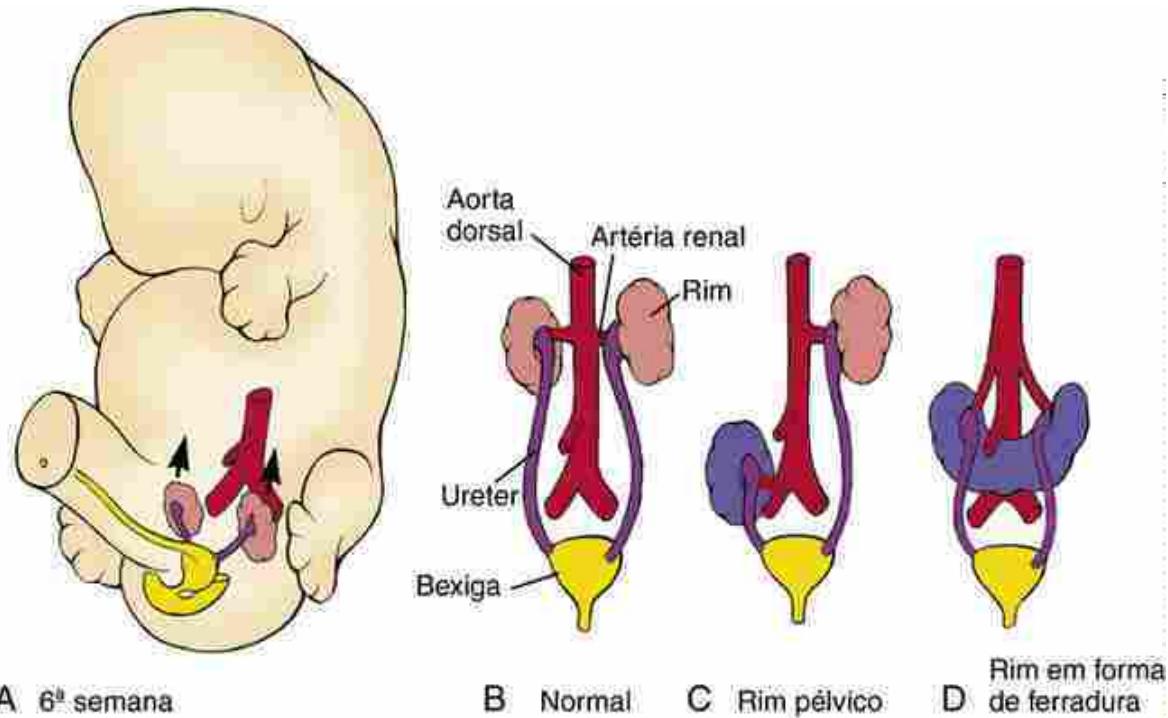


FIGURA 15-10 Deslocamento normal e anormal dos rins. A, B, Os metanefros normalmente mudam da região sacral para a posição lombar definitiva entre a 6^a e a 9^a semana. C, Raramente o rim pode falhar na mudança, resultando no rim pélvico (*em azul*). D, Se o polo inferior dos metanefros estabelecer contato e se fundir antes da mudança, o resultado será um rim em ferradura (*em azul*) preso à artéria mesentérica inferior.

Várias anomalias podem surgir de variações nesse processo de deslocamento. Ocasionalmente, uma ou mais das artérias renais inferiores transientes não regredem, resultando na presença de **artérias renais acessórias**. Raramente, um rim falha completamente para realocar, permanecendo como um **rim pélvico** (Fig. 15-10C). Os polos inferiores dos dois metanefros podem se fundir durante o deslocamento, formando uma **ferradura de rim** em forma de U (prevalência nos seres humanos é de cerca de 1: 1.000). Rins em ferradura atravessam para o lado anterior (ventral) da aorta, e uma teoria de longa data é que, durante o deslocamento, este rim é preso sob a artéria mesentérica inferior e, portanto, não chega ao seu local normal (Fig. 15-10D). Estudos recentes em camundongos sugerem que o Shh, liberado a partir da notocorda, desempenha um papel-chave na regulação do posicionamento correto do rim mediolateral, já que a perda de uma fonte axial de Shh resulta na fusão dos dois rins.

Contribuição do endoderma do intestino posterior para o trato urinário

Como descrito no Capítulo 14, a região cloacal do intestino posterior é dividida pelo septo urorretal em um **seio urogenital** ventral e um **canal anorrectal** dorsal (Fig. 15-11; Fig. 14-31). O seio urogenital forma a **bexiga** presuntiva (no entanto, como mencionado no Capítulo 14, estudos recentes sugerem que a bexiga se forma da expansão do alantoides inferior), um pescoço estreito que forma a **uretra membranosa** e **uretra prostática** nos machos e uretra membranosa nas fêmeas, e um **segmento fálico** que se expande sob o **tubérculo genital** crescente (Fig. 15-11). Nos machos, o segmento fálico contribui para a **uretra peniana**, e nas fêmeas que contribui para o **vestíbulo da vagina** (Cap. 16).

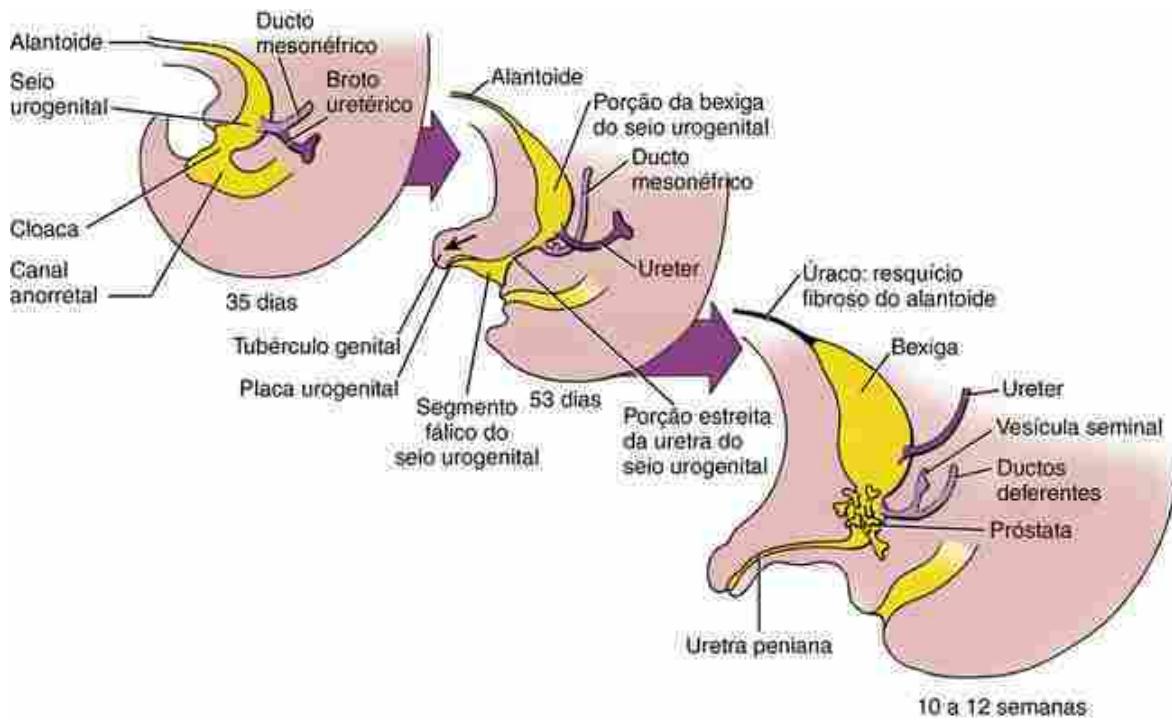


FIGURA 15-11 Desenvolvimento do seio urogenital. Entre a 4^a e a 6^a semana, o septo urorretal divide a cloaca em um seio urogenital ventral e um anorretal dorsal. O seio urogenital é subdividido em uma bexiga presuntiva, uma estreita região uretral e o segmento fálico. A porção estreita da uretra na base da futura bexiga forma a uretra membranosa nas mulheres e a uretra membranosa e prostática nos homens. A porção fálica no seio urogenital forma o vestíbulo da vagina nas fêmeas e a uretra peniana nos machos. Normalmente, o alantoide se oclui para formar o úraco no adulto (ou ligamento umbilical mediano).

Concomitantemente à septação da cloaca, as extremidades caudais dos ductos mesonéfricos e ductos uretéricos ligados tornam-se incorporados na parede posterior da bexiga presuntiva (Fig. 15-12). Este processo começa quando as bocas dos ductos mesonéfricos alongam em um par de estruturas em forma de trompeta que começam a se expandir, achatar, e misturar-se na parede da bexiga. A porção cranial desta trombeta expande e achatada mais rapidamente do que a parte caudal, de modo que a boca da porção mais estreita do ducto mesonéfrico parece migrar caudalmente ao longo da parede posterior da bexiga. Este processo incorpora a extremidade caudal dos ureteres na parede da bexiga e faz com que as bocas da parte estreita dos ductos mesonéfricos migrem caudalmente até abrirem na uretra pélvica, logo abaixo do pescoço da bexiga. Esta zona triangular do ducto mesonéfrico na parede posterior-inferior da bexiga é denominada **trígono** da bexiga. O tecido mesodérmico do trígono é depois coberto por endoderme da parede da bexiga circundante, mas a estrutura mantém-se visível na bexiga adulta como uma região lisa triangular que se encontra entre as aberturas dos ureteres, lateral e superiormente, e a abertura da uretra pélvica inferiormente. Mesoderma esplâncnico associado ao intestino posterior forma o músculo liso da parede da bexiga na 12^a semana.

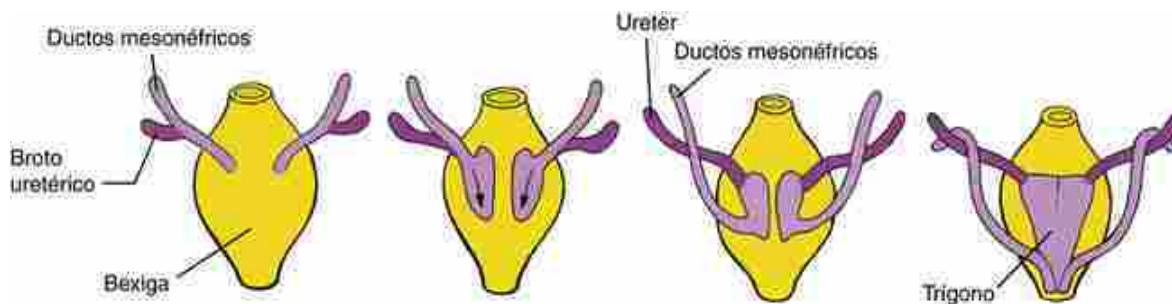


FIGURA 15-12 Incorporação dos ductos mesonéfricos e ureteres na parede da bexiga. Entre 4 e 6 semanas, a raiz do ducto mesonéfrico é incorporada na parede posterior da bexiga em desenvolvimento. Este processo traz as aberturas dos brotos ureterais na parede da bexiga, enquanto as aberturas dos ductos mesonéfricos são levadas inferiormente ao nível da uretra pélvica. A região triangular dos ductos mesonéfricos incorporados à parede posterior da bexiga forma o trígono da bexiga.

Na Clínica

Anormalidades no trato urinário

Cerca de 1% de todos os recém-nascidos têm uma anormalidade no desenvolvimento do trato urinário. A maioria destas anomalias não causa problemas clínicos. No entanto, cerca de 45% de todos os casos de insuficiência renal na infância resultam do desenvolvimento anormal do broto uretrérico ou do mesênquima metanéfrico. O desenvolvimento de cada um desses rudimentos é dependente de sinais indutores produzidos pelo outro. Assim, as anomalias em um rudimento muitas vezes resultam do desenvolvimento anormal do outro.

Ureter Duplicado

O broto uretrérico, habitualmente, não se bifurca até entrar na substância do mesênquima metanéfrico. No entanto, por vezes bifurca-se prematuramente, resultando em um **ureter bífido** em forma de Y (Fig. 15-13). A extremidade caudal indivisível do ureter normalmente se liga à bexiga. Normalmente, o ramo ligado ao polo caudal do rim drena a maior parte do rim. Um dos ramos ocasionalmente termina em uma ponta cega, sem abertura. Um ureter bífido é muitas vezes, mas não sempre, assintomático. Embora os dois ramos do Y surjam do mesmo broto uretrérico, as contrações musculares de suas paredes parecem ser assíncronas. Por conseguinte, a urina pode refluxar de um ramo para o outro, resultando em estagnação de urina e de predisposição do indivíduo para infecções do ureter.

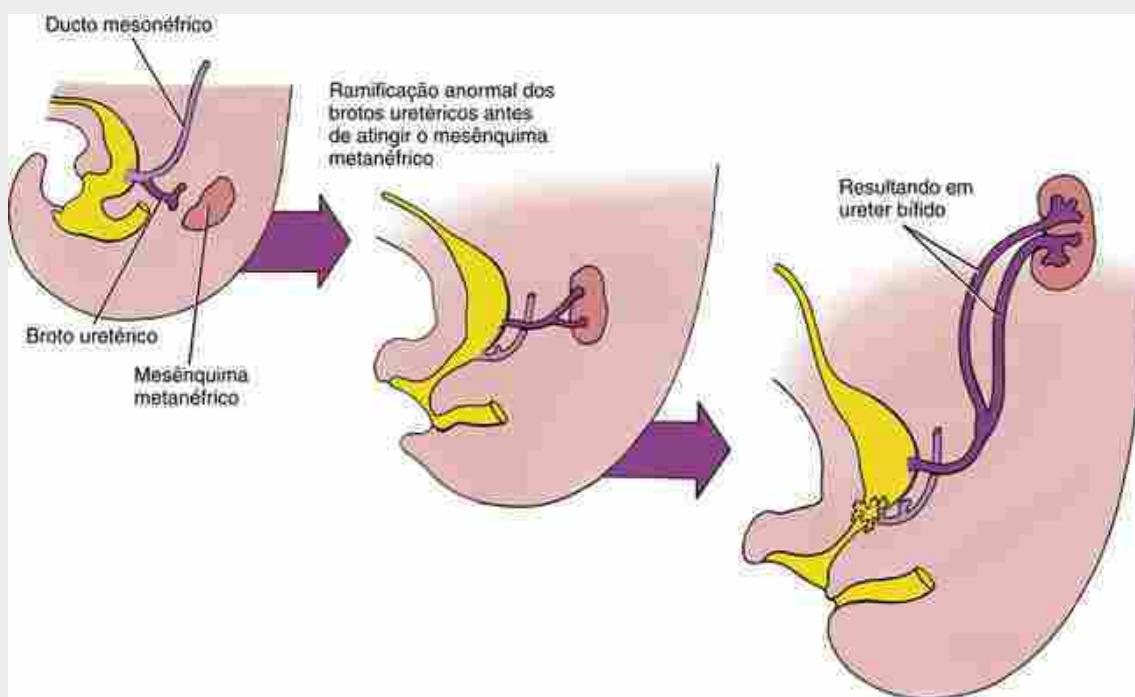


FIGURA 15-13 Formação do ureter bífido. O ureter bífido se forma quando o broto uretrérico bifurca antes de entrar no mesênquima metanéfrico.

Ocasionalmente, brotam de um ducto mesonéfrico dois brotos uretrais, que penetram no mesênquima metanéfrico independentemente (Fig. 15-14). O broto mais craniano induz a formação do polo craniano do rim, e o broto caudal induz a formação do polo caudal. Como o ducto mesonéfrico abre na parede posterior da bexiga, o broto uretrérico caudal é incorporado na parede da bexiga do modo normal. No entanto, o broto uretrérico cranial é levado caudalmente ao longo do ducto com mesonéfrico descendente e pode formar sua ligação final com qualquer derivado do ducto mesonéfrico caudal, uretra pélvica, ou seio urogenital (Fig. 15-14). O broto uretrérico caudal forma, assim, um ureter normal, ou **ortotópico**, ligado à bexiga, ao passo que o broto craniano forma um ureter **ectópico** caudal. Os dois ureteres se cruzam entre si porque o ureter normal drena o polo caudal do rim e o ureter ectópico drena o polo craniano. Este cruzamento dos ureteres normal e ectópico é denominado **regra de Weigert-Meyer**.

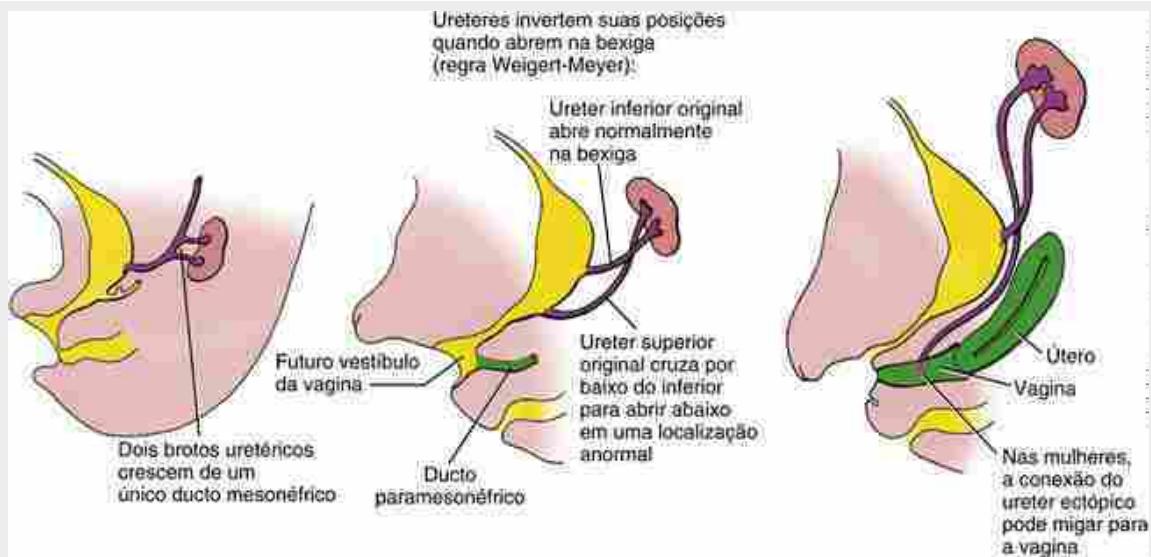


FIGURA 15-14 Formação de um ureter ectópico. Um ureter ectópico se forma a partir de um broto uretrérico anormal “extra”. O mecanismo de formação do trígono e da localização dos ductos deferentes e dos ureteres na parede posterior do seio urogenital primitivo foi deduzido em grande parte a partir da regra de Weigert-Meyer (veja no texto).

Nos machos, um ureter ectópico pode drenar para dentro da uretra prostática, do ducto ejaculatório, do canal deferente ou da vesícula seminal. Estes ureteres ectópicos, assim, abrem sempre superior ao músculo do esfíncter da uretra e não resultam em incontinência, embora possam causar micção dolorosa ou infecções recorrentes. Nas fêmeas, ureteres ectópicos muitas vezes se ligam ao vestíbulo da vagina (Fig. 15-14) ou, com menos frequência, ao útero. Estas saídas extras esfincterianas, do ureter ectópico resultam em uma contínua saída de urina, a menos que corrigida cirurgicamente. Inserção anômala do ureter dentro da bexiga também pode ser um problema, pois o mecanismo de válvula para evitar o refluxo de urina para o rim não se desenvolve. O refluxo predispõe os indivíduos à infecção do trato urinário.

Extrofia de bexiga e defeitos associados à parede abdominal

Em uma série de anomalias que variam de **epispádia** (a abertura uretral ocorre no dorso do tubérculo genital, em vez de no lado ventral; Cap. 16) à **extrofia da bexiga** ou da **cloaca**, estruturas do intestino posterior podem permanecer abertas para a superfície anterior do corpo por meio de um defeito na parede anterior do corpo. Na extrofia da bexiga, a bexiga é revelada por um defeito da parede abdominal; na extrofia da cloaca, os lúmens tanto da bexiga quanto do canal anorrectal são expostos. O defeito da parede abdominal, nestas condições, pode ser um efeito secundário do desenvolvimento anormal da membrana cloacal. De acordo com uma ideia, o defeito primário é que a membrana cloacal é anormalmente larga de modo que, quando se decompõe, produz uma abertura demasiadamente grande para permitir a fusão normal das camadas de tecido na linha média em ambos os lados dele. Uma teoria alternativa postula uma incapacidade de reduzir o tamanho da membrana cloacal nos seus lados superiores e laterais por causa de uma insuficiente proliferação e migração de tecido na região infraumbilical. Juntamente com a subsequente ruptura da membrana, isso também pode causar extrofia da bexiga, epispádia ou extrofia cloacal, dependendo do grau e momento das deficiências. Também pode surgir epispádia se o tubérculo genital se desenvolver a partir do septo urorrectal em vez do mesoderma adjacente ao segmento fálico do seio urogenital. A extrofia da bexiga com epispádia é a anomalia mais comum entre as que são discutidas nesta seção, ocorrendo em aproximadamente 1 em 40.000 nascimentos. A extrofia da cloaca é muito menos frequente, ocorrendo em cerca de 1 em 200.000 nascimentos. Todas essas malformações são cerca de duas vezes mais comuns em homens do que em mulheres.

Anomalias do úraco

Normalmente, o alantoide e o final superior presuntivo da bexiga regredem entre a 4^a e a 6^a semana, ao mesmo tempo em que o septo urorrectal divide a cloaca em seio urogenital e um canal anorrectal dorsal. O alantoide e o ápice da bexiga contraída são transformados em uma banda ligamentar, o **úraco** ou **ligamento umbilical mediano**, que atravessa a gordura subperitoneal da bexiga para o umbigo (Fig. 15-11). Essa banda mede aproximadamente 5 cm de comprimento e 1 cm de largura no adulto.

Em um número muito pequeno de indivíduos, parte ou todo o alantoide e o ápice da bexiga permanecem abertos, resultando em **úraco aberto** (**fistula uracal**), **seio uracial umbilical**, **divertículo vesicouracial** ou **cisto uracial** (Fig. 15-15). Os sintomas incluem perda de urina a partir do umbigo, infecções do trato urinário e peritonite

resultante da passagem pelo úraco aberto. Essas condições podem ser fatais. Os sintomas iniciais da infecção, com divertículo de Meckel, são facilmente confundidos com os de apendicite.

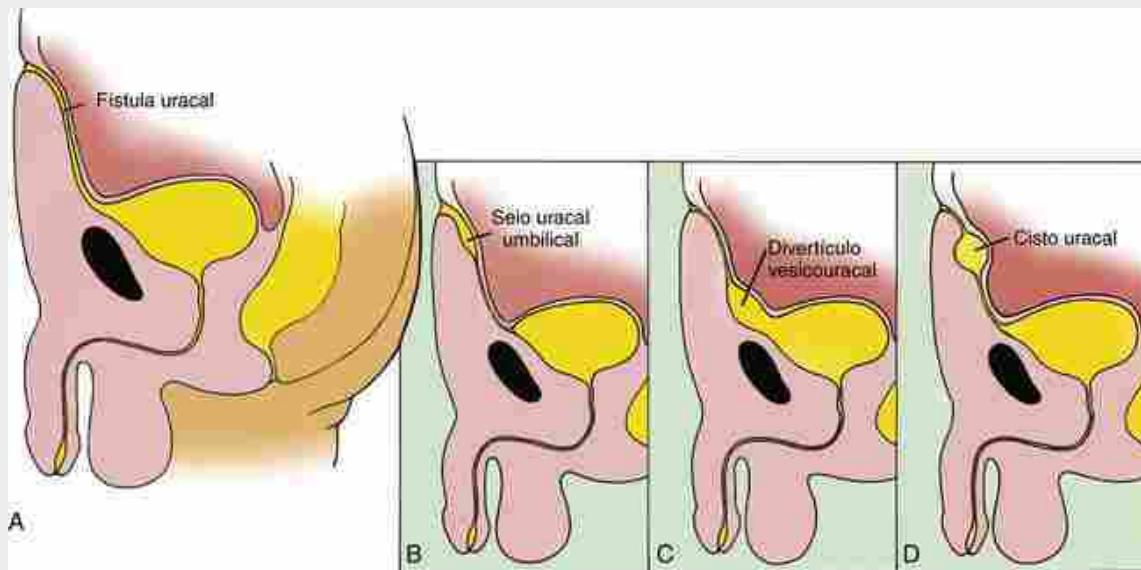


FIGURA 15-15 Destino do alantoide. Normalmente, o alantoide se oclui para formar o úraco ou o ligamento umbilical médio no adulto. Muito raramente, parte do alantoide pode permanecer aberta, produzindo fístula uracal (A), seio uracal umbilical (B), divertículo vesicouracal (C) ou cisto uracal (D).

Defeitos na divisão da cloaca

Como descrito no [Capítulo 14](#), o particionamento da cloaca pelo septo urorretal em seio urogenital e canal anorrectal é um processo complicado e que ainda não é bem compreendido. Em 1 de 5.000 crianças, este particionamento é incompleto. Dependendo da localização e do tamanho do defeito, pode resultar em uma ampla gama de malformações envolvendo derivativos de cloaca e suas conexões com os ureteres e ductos genitais. Alguns dos exemplos mais comuns são descritos no texto que se segue.

Malformações Anorrectais e Fístulas

Se o septo urorretal falhar na separação da cloaca em cavidade anorrectal e seio urogenital, ou se a membrana cloacal for muito pequena, o resultado poderá ser o desenvolvimento de várias fístulas entre a uretra e o canal anorrectal ([Fig. 15-16](#)). Nos homens, essas conexões geralmente assumem a forma de uma **fístula uretral retoprostática** estreita que liga o reto à uretra prostática ([Fig. 15-16C](#)) ou uma **fístula retouretral** que liga a uretra prostática à parte inferior do canal anal ([Fig. 15-16D](#)). Nesta última situação, a uretra peniana e o canal anal fluem através dos seus canais normais, mas a uretra peniana com frequência é estenótica, fazendo com que a urina saia preferencialmente através de uma fístula retouretral e para fora do canal anorrectal. Nas mulheres, a situação é complicada pela existência dos ductos paramesonéfricos. Na maioria das vezes, os ductos paramesonéfricos se conectam à uretra pélvica cranialmente à fístula retouretral. A região caudal não dividida da cloaca torna-se, assim, uma saída comum para a uretra, a vagina e o reto e é denominada **canal retocloacal** ([Fig. 15-16E](#)). Ocassionalmente, o canal uterovaginal incorpora a fístula retouretral enquanto se move para uma posição mais caudal na parede posterior da cloaca. Nesses casos, a vagina e a uretra se abrem separadamente no vestíbulo, mas o reto se comunica com a vagina por meio de uma **fístula retovaginal** ([Fig. 15-16F](#)). Esta fístula pode ser localizada acima ou abaixo na vagina. Quando a fístula é localizada abaixo da junção vaginal-cloacal, a **fístula retovestibular** resultante se abre no vestíbulo da vagina.

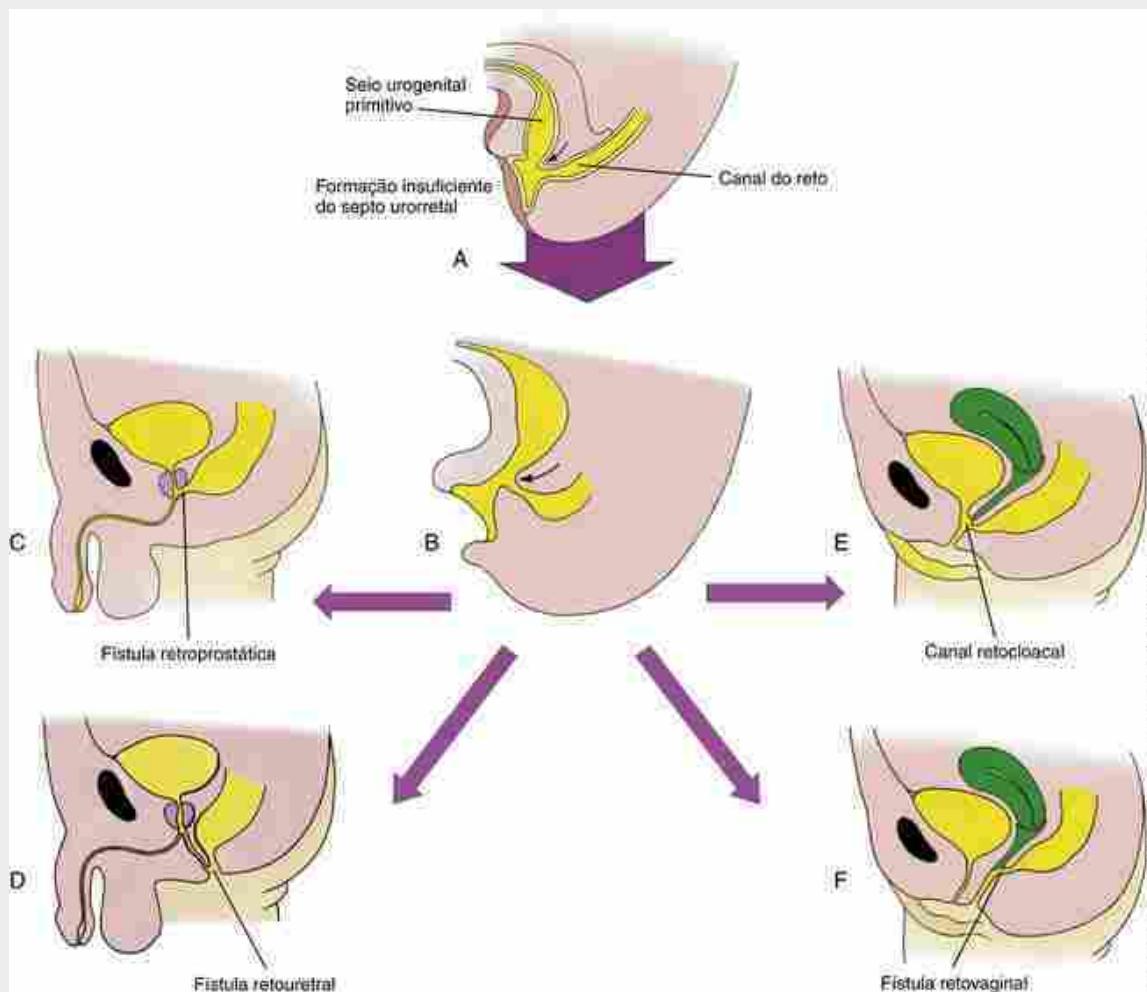
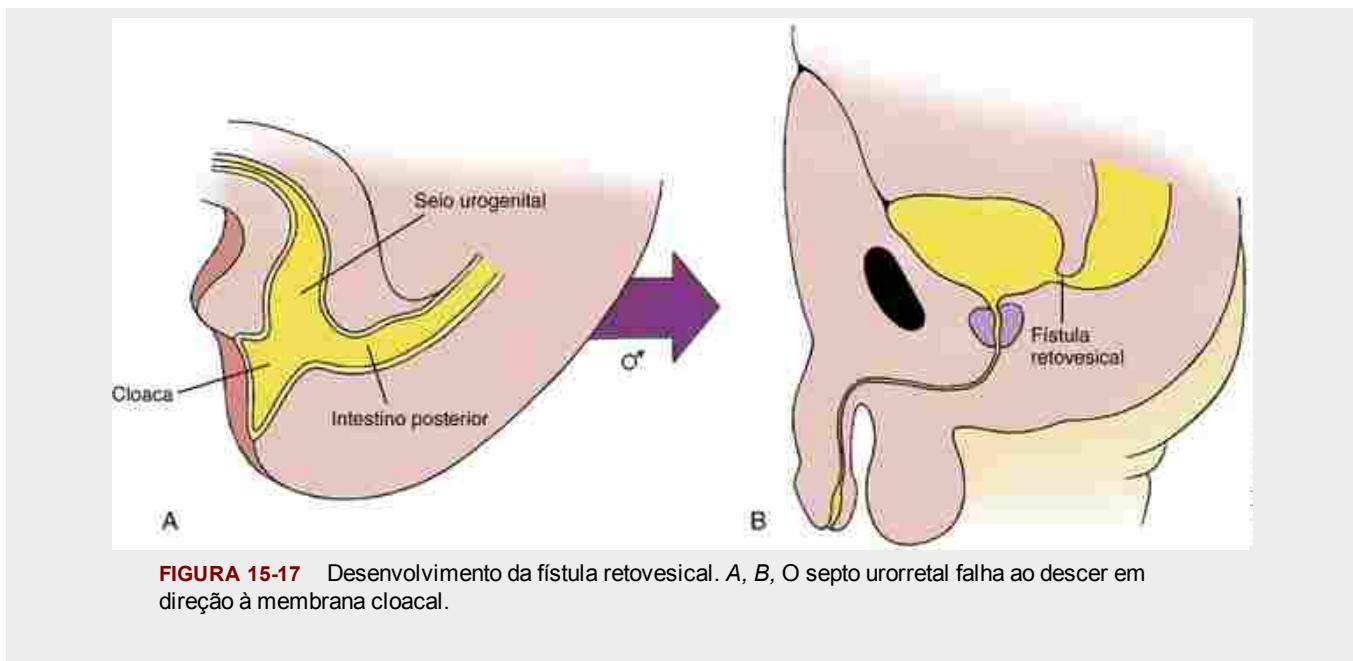


FIGURA 15-16 Anormalidades dos tratos urogenital e anorrectal. A formação insuficiente do septo uroretal (*A, B*) resulta no desenvolvimento de características anômalas no homem e na mulher: fistula uretral retroprostática (*C*), fistula retouretral (*D*), fistula retocoloanal (*E*), fistula retovaginal (*F*).

Uma comunicação anormal entre a bexiga e o reto, denominada **fistula retovesical** (Fig. 15-17), pode também se formar se o desenvolvimento do septo uroretal for insuficiente. Nas mulheres, essa anomalia pode interferir com a fusão normal das extremidades inferiores dos ductos paramesonéfricos, resultando em vaginas bilaterais separadas e úteros que se conectam diretamente na bexiga.



Desenvolvimento da glândula suprarrenal

A **glândula suprarrenal (adrenal)** é um componente crucial do eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal, que é responsável por coordenar a resposta dos mamíferos ao estresse e metabolismo. Inicialmente, a formação da glândula suprarrenal está intimamente ligada às gônadas; ambas surgem a partir de uma região comum do mesoderma intermediário adjacente ao rim em desenvolvimento. Ocorre segregação do primódio suprarrenal e gonadal quando as células germinativas primordiais entram na região gonadal. Na 9^a semana, os primórdios suprarrenais são completamente fechados por uma cápsula. Como seria de se esperar, a especificação dos primórdios da suprarrenal depende, em parte, dos mesmos fatores de transcrição e moléculas de sinalização envolvidos no desenvolvimento do rim e das gônadas (p. ex., WT1, Wnt4).

Durante a 5^a semana de desenvolvimento, o epitélio celômico adjacente ao da crista genital em desenvolvimento prolifera, e um subconjunto dessas células delamina e entra no mesoderma subjacente (Fig. 15-18). Essas células em delaminação diferenciam-se em grandes células acidofílicas, formando as **células do córtex suprarrenal fetal**. Uma segunda onda de células que estão delaminando migra subsequentemente, prolifera e forma um fino **córtex definitivo** que envolve quase por completo o córtex fetal. Ultraestruturalmente, células de ambas as camadas corticais fetais e definitivas exibem características citológicas de células produtoras de esteroides. Durante o 2º trimestre, a camada cortical fetal cresce rapidamente em tamanho e começa a secretar **diidroepiandrosterona (DHEA)**, um hormônio convertido pela placenta para o **estradiol**, que é essencial para a manutenção da gravidez. Além disso, os produtos provenientes do córtex suprarrenal fetal influenciam a maturação dos pulmões, do fígado e do trato digestivo e podem regular o **parto**. No 2º mês pós-nascimento, a maior parte do córtex fetal regredie rapidamente e as células corticais definitivas restantes organizam-se em seguida em camadas de **zona glomerular, zona fasciculada e zona reticular**, como visto na glândula suprarrenal do adulto.

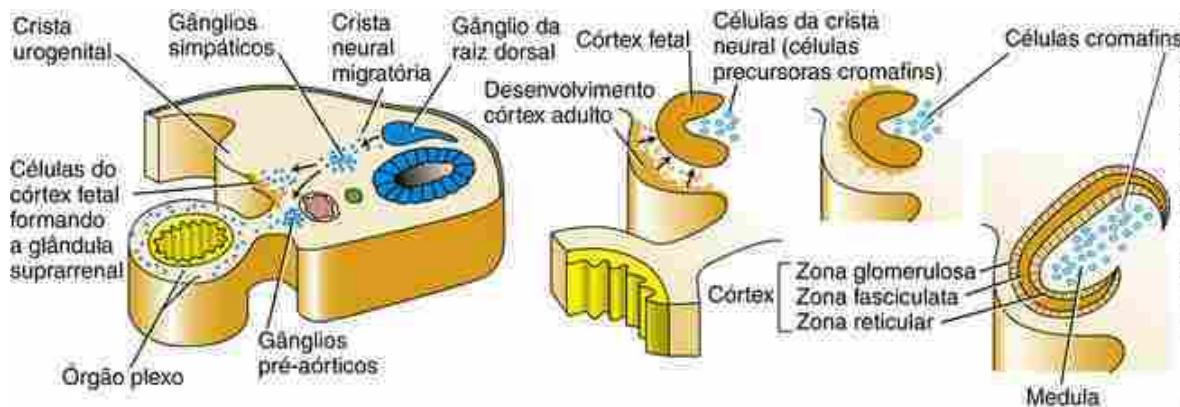


FIGURA 15-18 Desenvolvimento da glândula suprarrenal. Durante a 5^a semana do desenvolvimento, o epitélio celômico adjacente à crista genital em desenvolvimento prolifera, e um grupo de células delamina e entra no mesoderma subjacente, que forma as células do córteix suprarrenal fetal. Uma segunda onda de células que delaminam migram e formam um córteix definitivo mais fino, circundante ao córteix fetal. No 2º mês pós-natal, grande parte do córteix fetal regredie rapidamente e as células corticais definitivas restantes se organizam nas camadas da zona glomerular, zona fasciculada e zona reticular, sendo vista na glândula suprarrenal do adulto. Antes de serem isoladas pela formação da cápsula, as células da crista neural migram para a região medular e se diferenciam em células cromafins.

Antes de serem isoladas pela formação da cápsula suprarrenal, células da crista neural migram para a região da medula suprarrenal adjacente ao córteix fetal em desenvolvimento. Essas células da crista neural se diferenciam em **células cromafins**, que são neurônios simpáticos pós-ganglionares especializados inervados por fibras simpáticas pré-ganglionares que liberam adrenalina e noradrenalina sob estimulação simpática.

Na Clínica

Hiperplasia adrenal congênita

A **hiperplasia (HAC) adrenal congênita (suprarrenal)** é geralmente causada por uma deficiência, geneticamente determinada, das enzimas corticais suprarrenais necessárias para a síntese de **glicocorticoides**. Esta deficiência leva à hiperplasia do córteix suprarrenal ligada ao **hormônio adrenocorticotrófico**. A forma mais comum de HAC (uma incidência de 1:15.000 nascidos vivos) resulta de uma deficiência de 21-hidroxilase (codificada pelo gene CYP21A2). Essa deficiência causa redução na produção de cortisol pelo córteix suprarrenal, resultando numa acumulação de hidroxiprogesterona-17 que, por sua vez, resulta em hiperplasia suprarrenal e excesso de produção de andrógenos da suprarrenal (estes são negativamente regulados pela presença de cortisol). Os níveis excessivos de andrógenos suprarrenais masculiniza a genitália externa dos indivíduos XX durante o seu desenvolvimento no útero ([Cap. 16](#); [Fig 6-16](#) no [Cap. 6](#)). Durante a infância, níveis excessivos de andrógenos suprarrenais aceleram a maturação esquelética. Na forma de deficiência da HIDROXILASE-21 que resulta em perda de sal, a secreção insuficiente de aldosterona pode levar a risco de vida por **hiponatremia** (baixo teor de sódio no sangue).

As mutações no gene DAX1 (descrito no [Cap. 16](#) em relação ao desenvolvimento das gônadas) também podem levar a HAC. Esses pacientes (na maioria das vezes, homens) apresentam insuficiência suprarrenal, hiperpigmentação da pele e atraso na puberdade.

Embriologia na Prática

Problema na Urina

Uma criança nasce depois de 38 semanas de gestação e são descobertos **ânus imperfurado** e **genitália ambígua**. Ao exame médico, foi constatada uma estrutura semelhante a um pênis sem uretra clara ou abertura vaginal, e não há escroto ou tecidos labiais. O cordão umbilical é um pouco largo. O resto do exame é normal, incluindo a aparência da parede abdominal. O recém-nascido é admitido na unidade de terapia intensiva neonatal, e a cirurgia para criar uma estomia intestinal está prevista para a manhã seguinte.

O diagnóstico de **malformação da sequência do septo urorrectal** é proposto, e as preocupações sobre os rins e os pulmões são levantadas. O argumento é feito de que, embora não seja evidente no exame, a abertura da uretra deve estar presente, ou então a criança teria nascido com **oligo-hidrâmnio** e **hipoplasia pulmonar (sequência de Potter)**.

mas este bebê está chorando e estável no ambiente.

Após 12 horas a criança ainda não tinha anulado, e o exame sugere que a bexiga está começando a distender. A equipe permanece incapaz de identificar uma abertura da uretra, de modo que é realizada a cateterização da bexiga percutânea, obtendo-se um grande volume de urina.

Uma discussão mais aprofundada entre os especialistas da sala de parto revela que um líquido seroso parecia estar saindo do cordão depois de ter sido fixado, e isso foi interpretado como edema no cordão. O cordão foi refiado mais perto da parede abdominal, e a drenagem diminuiu.

Torna-se claro que este fluido era urina proveniente de um **úraco** patente. O pinçamento deste remanescente do ducto onfalomesentérico resultou na distensão da bexiga. Se não parasse a drenagem percutânea da bexiga, isso teria conduzido, por sua vez, a dilatação renal e, eventualmente, a danos permanentes nos rins.

Normalmente, o septo uroretal divide a cloaca dentro das cavidades urogenitais e retais após a quebra da membrana cloacal, criando as aberturas retais e urogenitais. Quando esse processo falha ou é incompleto, a persistência de uma cloaca com completa ou parcial persistência da membrana cloacal resulta em ânus imperfurado, ausência de abertura da uretra ou da vagina e genitálias ambíguas. Crianças com essa malformação na sequência do septo uroretal geralmente sucumbem de hipoplasia pulmonar e disfunção renal no período neonatal. Em casos em que há um raro sobrevivente, uma ruptura do úraco patente permite o desenvolvimento normal do rim e dos pulmões.

Um estudo mostrou um cromossoma normal de cariótipo 46,XX. A menina teve um excelente resultado depois de várias cirurgias para reparar anormalidades de seus genitais.

A sequência de Potter pode ter várias causas. Outros cenários clínicos que resultam nesta sequência são mostrados no “Caso Clínico” deste capítulo e do [Capítulo 6](#).

Leituras sugeridas

- Costantini, F., Kopan, R. Patterning a complex organ: branching morphogenesis and nephron segmentation in kidney development. *Dev Cell.* 2010; 18:698–712.
- Dressler, G. R. Advances in early kidney specification, development and patterning. *Development.* 2009; 136:3863–3874.
- Kluth, D. Embryology of anorectal malformations. *Semin Pediatr Surg.* 2010; 19:201–208.
- Little, M. H., Brennan, J., Georgas, K., et al. A high-resolution anatomical ontology of the developing murine genitourinary tract. *Gene Expr Patterns.* 2007; 7:680–699.
- Uetani, N., Bouchard, M. Plumbing in the embryo: developmental defects of the urinary tracts. *Clin Genet.* 2009; 75:307–317.
- van der Putte, S. C. The development of the perineum in the human. A comprehensive histological study with a special reference to the role of the stromal components. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2005; 177:1–131.

Desenvolvimento do Sistema Genital

Resumo

O desenvolvimento do **sistema genital** está estreitamente integrado aos órgãos urinários primitivos em machos e fêmeas, já que eles compartilham estruturas tubulares similares comuns que permitem tanto a urese (produção de urina) quanto o transporte de gametas. Além das estruturas néfricas, o **mesoderma intermediário** em ambos os lados da parede dorsal do corpo dá origem a uma crista gonadal. Por volta da 6^a semana, as **células germinativas** que migram a partir do saco vitelino começam a chegar ao mesênquima da parede dorsal do corpo. A chegada de células germinativas à área imediatamente medial aos mesonefros no décimo segmento torácico induz o epitélio celômico a produzir **células somáticas de sustentação** que envolvem as células germinativas. As células somáticas de sustentação se diferenciarão em **células de Sertoli** (epitelócito sustentador pela nova Nomenação Anatômica) nos homens e em **células foliculares** (ou células granulosas) nas mulheres. Durante o mesmo período, um novo par de ductos, os **ductos paramesonéfricos (müllerianos)**, é formado na parede dorsal do corpo a partir do epitélio celômico imediatamente lateral aos ductos mesonéfricos.

A diferenciação sexual genética masculina começa no fim da 6^a semana, quando um gene específico no cromossoma Y (SRY) é expresso nas células somáticas de sustentação. Embriões nos quais este gene não é expresso se desenvolvem como femininos. O produto deste gene, denominado **proteína SRY**, inicia uma cascata de desenvolvimento que conduz à formação dos testículos, dos ductos genitais masculinos e glândulas associadas, dos genitais externos masculinos e de toda a constelação de características sexuais secundárias masculinas. A proteína SRY exerce controle autônomo sobre o desenvolvimento de células somáticas de sustentação em **células pré-Sertoli**. Células pré-Sertoli, então, recrutam células mesenquimais para a crista gonadal e estas células dão origem a **células de Leydig** e células endoteliais testiculares. Células de Sertoli em diferenciação, em seguida, envolvem as células germinativas e, em conjunto com as células mioepiteliais, organizam-se em **cordões testiculares** (futuros **túbulos seminíferos**). As porções mais profundas das células somáticas de sustentação na gônada em desenvolvimento, que não contêm células germinativas, diferenciam-se na **rede testicular**. A rede testicular se conecta com um número limitado de túbulos mesonéfricos e se canaliza na puberdade para formar ductos que conectam os túbulos seminíferos ao ducto mesonéfrico. Estes túbulos néfricos se tornam os **dúctulos eferentes** dos testículos, e os ductos mesonéfricos se tornam os **epidídimos** e **ductos deferentes**. Os ductos paramesonéfricos se degeneram. Durante o 3º mês, do ducto deferente distal brota a **vesícula seminal** e a **próstata** e as **glândulas bulbouretrais** crescem a partir da uretra pélvica adjacente. Simultaneamente, as genitálias externas indiferenciadas (que consistem no par de **pregas urogenitais** e **labioescrotais** em ambos os lados da **placa urogenital** e um **tubérculo genital** anterior) se diferenciam em **pênis** e **escroto**. Mais tarde no desenvolvimento fetal, os testículos descem para o escroto pelos **canais inguinais**.

Como os organismos geneticamente femininos não têm o cromossoma Y, eles não produzem a proteína SRY. Assim, as células somáticas de sustentação não formam células de Sertoli, mas se diferenciam em células foliculares que circundam as células germinativas para formar **folículos primordiais** do ovário. Os ductos mesonéfricos se degeneram e os ductos paramesonéfricos se transmutam em ductos genitais. As porções proximais dos dutos paramesonéfricos se tornam **tubas de Falópio** (ou **tubas uterinas** ou **ovidutos**). A fusão das porções distais dos ductos dá origem ao **útero** e à **vagina**. A genitália externa indiferenciada se desenvolve na genitália externa feminina: **clitóris** e os pares de **pequenos e grandes lábios**.

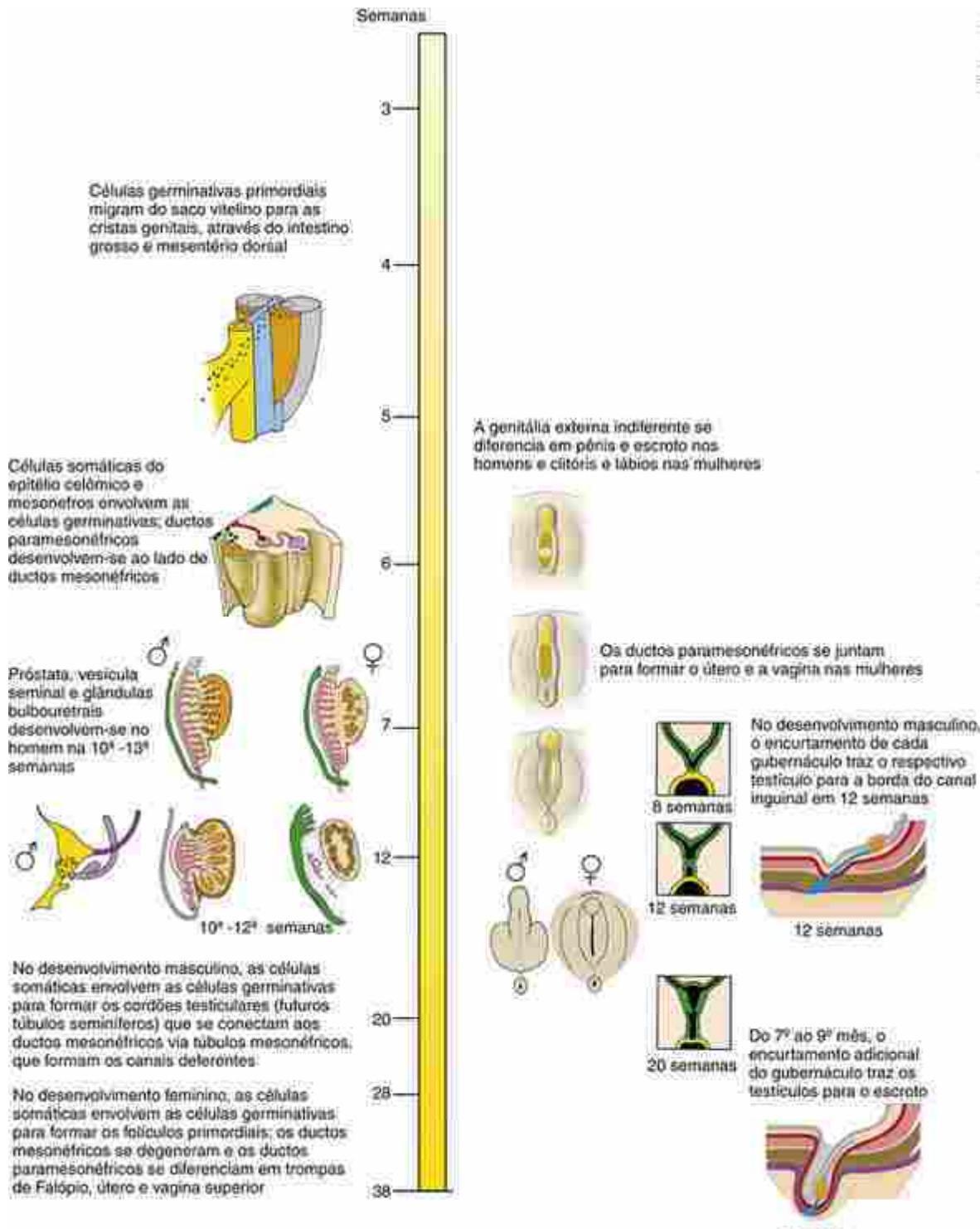
Caso Clínico

Um casal que, com base na ultrassonografia pré-natal, esperava por um menino é surpreendido pela afirmação da enfermeira da sala de parto de que, em vez disso, eles têm uma menina, o que resulta em alguma confusão entre os membros da equipe. Mais tarde, uma médica do berçário informa à família que seu filho tem “genitália ambígua”, com um clitóris aumentado que foi provavelmente confundido com um pênis na ultrassonografia. Ela diz que os órgãos genitais parecem mais com os de uma menina do que de um menino, com uretra e vagina

separados, mas que há uma fusão parcial dos lábios com o que podem ser testículos, sendo palpáveis na região da virilha. Ela explica que serão necessários mais testes para determinar o sexo do bebê.

A família é visitada por vários médicos ao longo dos próximos 2 dias, incluindo especialistas em urologia, endocrinologia e genética. Eles ouvem, diversas vezes, que a criança deve ser “considerada uma menina”, ou que a criança é “um menino, mas pode ter que ser criado como uma menina”. Eles ouvem termos até então desconhecidos para eles, como “intersexo” e “subvirilizado”. Uma bateria de testes é realizada, incluindo exames laboratoriais de sangue que mostram níveis normais de testosterona e de hormônio luteinizante e uma ultrassonografia que não mostra colo do útero, útero ou tubas de Falópio. Gônadas, provavelmente os testículos, são encontradas no canal inguinal. Ao final da semana, eles descobrem que seu filho tem um cromossoma “Y” (46, XY), sendo, portanto, geneticamente, um menino. Outros testes (como medida da resposta a andrógenos em fibroblastos da pele) confirmam o diagnóstico de síndrome da insensibilidade ao androgênio (AIS). Homens com AIS (também conhecida como feminilização testicular) têm mutações no gene do receptor de andrógenos e são incapazes de responder adequadamente à testosterona durante o desenvolvimento.

Opções para atribuição de sexo são apresentadas aos pais do bebê, sendo uma delas o sexo masculino. Embora esta escolha seja consistente com o cariótipo, envolveria várias cirurgias na infância e adolescência, juntamente com tratamento à base de testosterona (em geral, a resposta aos andrógenos não está completamente ausente). A outra atribuição seria o sexo feminino, que envolve terapia com estrogênio juntamente com cirurgia na infância ou na puberdade para remover as gônadas, aumentar a abertura vaginal e reduzir o tamanho do clitóris. Com qualquer das opções existe o risco de a criança, posteriormente, sentir-se desconfortável com a identidade do gênero escolhida. Devido a todas as incertezas, os pais consideraram difícil se comprometer com uma atribuição de gênero e se decidem por uma terceira opção: atribuir temporariamente o sexo feminino, mas aguardar para considerar a cirurgia até que a criança tenha idade suficiente para tomar suas próprias decisões.



Linha do tempo.
Desenvolvimento do sistema reprodutivo.

O sistema genital origina-se com o sistema urinário

A determinação e a manifestação sexuais começam com a determinação sexual genética (*i.e.*, 46,XX ou 46,XY), que ocorre na fertilização (Cap. 1). O genótipo sexual é responsável por direcionar o desenvolvimento gonadal (*i.e.*, testículo *versus* ovário). Isto, por sua vez, direciona o desenvolvimento do trato reprodutor (órgãos internos) e da genitália externa. As atribuições genotípica, gonadal e fenotípica de sexo podem ser discordantes. Embora tenha havido um constante progresso na compreensão dos mecanismos moleculares e de desenvolvimento responsáveis pela determinação do sexo e desenvolvimento genital, aproximadamente 75% das alterações genéticas responsáveis pela reversão sexual humana ainda permanecem desconhecidas.

Em indivíduos de ambos os sexos, a formação e a diferenciação das gônadas têm início com a chegada das células germinativas primordiais ao mesoderma intermediário. Como discutido no [Capítulo 1](#), as células germinativas primordiais normalmente migram do saco vitelino, através do mesentério dorsal, para preencher o mesênquima da parede posterior do corpo em uma área próxima ao décimo segmento torácico durante a 5^a semana ([Fig. 16-1A](#)). Uma vez lá, eles se deslocam para a área adjacente ao epitélio celômico, localizado medial e ventralmente em relação aos rins mesonéfricos em desenvolvimento. Em resposta, o epitélio celômico de cada lado se prolifera, torna-se mais espesso e, junto com as células germinativas primordiais, forma um par de **cristas genitais** ([Figs. 16-1 e 16-2](#)).

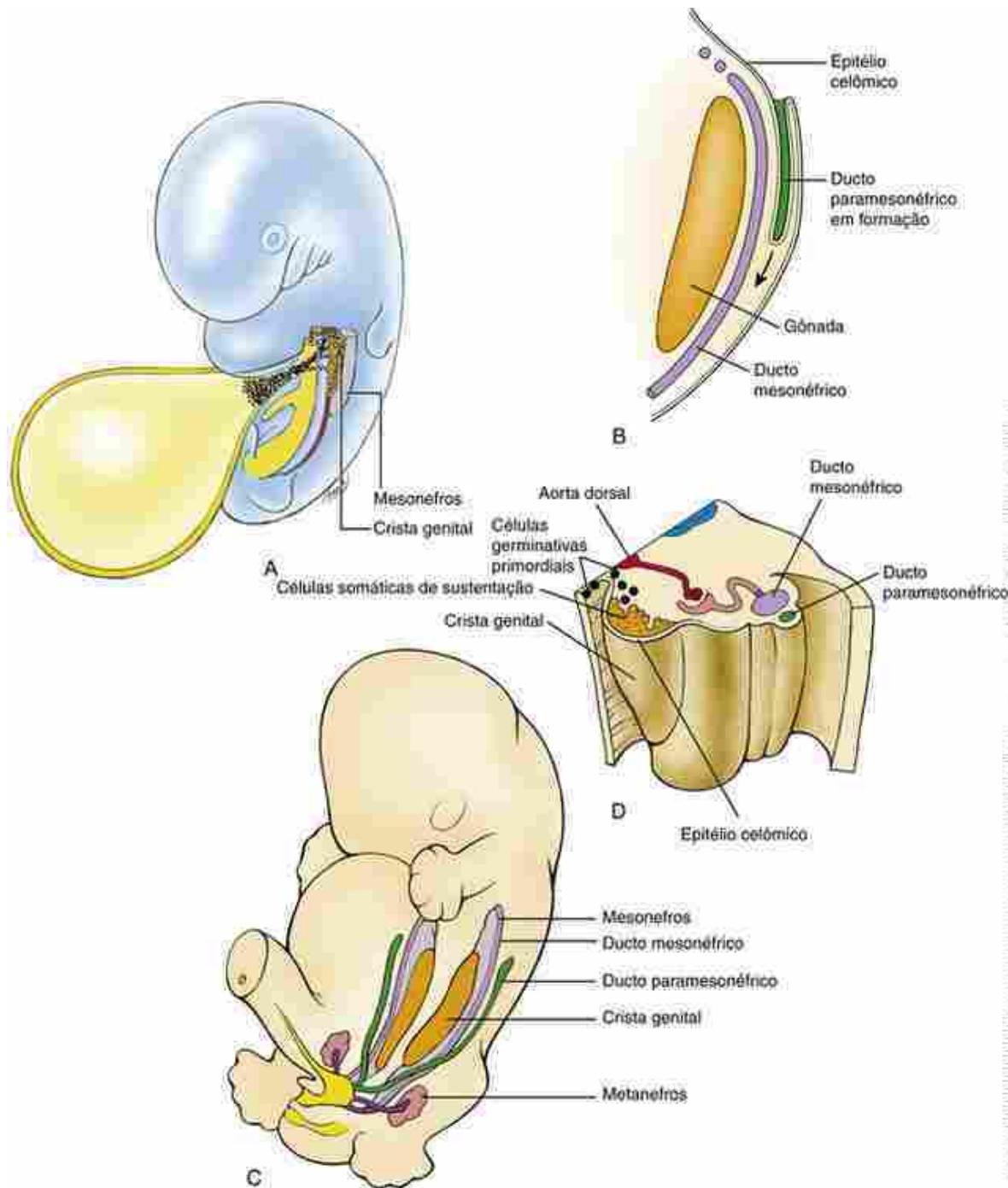


FIGURA 16-1 Formação das cristas genitais e dos ductos paramesonéfricos. *A, D*, Durante a 5^a e a 6^a semanas, as cristas genitais se formam na parede abdominal posterior, medialmente aos mesonefros em desenvolvimento, em resposta à colonização pelas células germinativas primordiais (*pontos negros*), que migram a partir do saco vitelínico. *B*, Cada ducto paramesonéfrico se desenvolve a partir de uma invaginação e da proliferação de células epiteliais celômicas que se estendem caudalmente (seta) ao lado e paralelamente ao ducto mesonéfrico. *C*, Relação dos ductos mesonéfricos e paramesonéfricos entre si e com as gônadas e rins em desenvolvimento. *D*, As células germinativas primordiais induzem o epitélio celômico que reveste a cavidade peritoneal a proliferar e formar as células somáticas de sustentação.

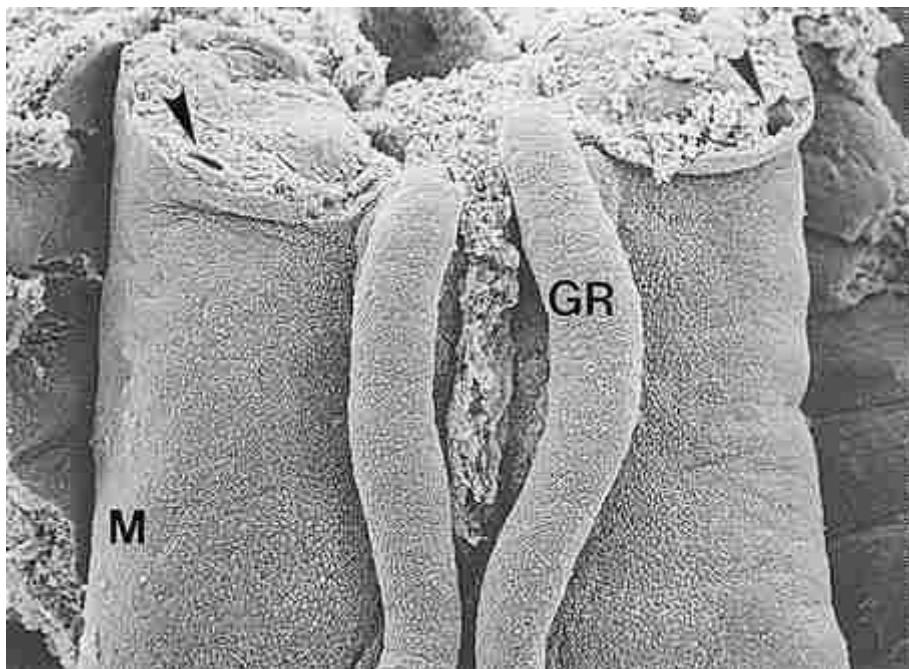


FIGURA 16-2 Micrografias eletrônicas de varredura mostram a relação entre as cristas genitais em desenvolvimento (GR) e o mesonefro (M). *Pontas de seta*, ducto mesonéfrico visto em seção transversal.

Durante a 6^a semana, as células derivadas de cada epitélio celômico formam células somáticas de sustentação (Fig. 16-1D), que então envolvem completamente as células germinativas. As **células somáticas de sustentação** são essenciais para o desenvolvimento das células germinativas no interior das gônadas; se estas células não envolvem as células germinativas, estas se degeneram. Depois da 6^a semana, essas células somáticas de sustentação seguem destinos diferentes em machos e fêmeas.

Também durante a 6^a semana, um novo par de ductos, os **ductos paramesonéfricos** (ou **ductos de Müller**), começa a se formar lateralmente aos ductos mesonéfricos em embriões de ambos os sexos, masculino e feminino (Fig. 16-1B-D). Estes ductos surgem pela invaginação craniocaudal de uma banda de células epiteliais celômicas espessadas em proliferação que se estende a partir do terceiro segmento torácico caudalmente para a parede posterior do seio urogenital. As extremidades caudais dos ductos paramesonéfricos então crescem para se unir à uretra pélvica em desenvolvimento, medialmente às aberturas dos ductos mesonéfricos direitos e esquerdos. As extremidades caudais dos dois ductos paramesonéfricos se aderem uma à outra um pouco antes de entrarem em contato com a uretra pélvica em desenvolvimento. As extremidades cranianas dos ductos paramesonéfricos formam aberturas em forma de漏斗 para o celoma. O desenvolvimento posterior dos ductos paramesonéfricos na mulher é abordado mais adiante neste capítulo.

No final da 6^a semana, os sistemas genitais masculino e feminino são indistinguíveis pela aparência, embora diferenças celulares sutis já possam estar presentes. Em ambos os sexos, as células germinativas e as células somáticas de sustentação estão presentes nas futuras gônadas e os ductos mesonéfricos e paramesonéfricos completos encontram-se lado a lado. A **fase ambissexual ou bipotencial** de desenvolvimento genital termina neste estágio. Da 7^a semana em diante, os sistemas masculino e feminino seguem vias diferentes. A Tabela 16-1 lista as células reprodutivas masculinas e femininas homólogas e os órgãos derivados destes precursores embrionários.

Tabela 16-1**Derivados adultos e remanescentes vestigiais das estruturas reprodutivas embrionárias do homem e da mulher**

Rudimentos presuntivos	Estrutura masculina	Estrutura feminina
Gônada indiferenciada	Testículos	Ovários
Célula germinativa primordial	Espermatogônia	Oócitos
Célula somática de suporte	Células de Sertoli	Células foliculares
Células do estroma	Células de Leydig	Células da Teca
Gubernáculo	Gubernáculo dos testículos	Ligamento redondo do ovário Ligamento redondo do útero
Túbulos mesonéfricos	Ductos eferentes dos testículos Paradídimos	Epoóforo e paraoóforo
Ducto mesonéfrico	Apêndice do epidídimos Epidídimos Canais deferentes Vesícula seminal Ducto ejaculatório	Apêndice vesiculoso Ducto do epoóforo Ducto de Gartner
Ductos paramesonéfricos	Apêndice dos testículos	Trompas de Falópio Útero Vagina
Seio urogenital	Uretra prostática e membranosa Utrículo prostático Glândula prostática Glândulas bulbouretrais	Uretra membranosa Glândulas uretral/parauretral Glândulas vestibulares maiores
Tubérculo genital	Glande do pênis Corpo cavernoso do pênis Corpo esponjoso do pênis	Glande do clitóris Corpo cavernoso do clitóris Bulbo esponjoso do vestíbulo
Pregas urogenitais e placa urogenital e da glande	Uretra peniana/parte ventral do pênis	Pequenos lábios
Pregas labioescrotais	Escroto	Grandes lábios

Na presença do cromossoma Y, o desenvolvimento masculino acontece

Como detalhado no [Capítulo 1](#), organismos geneticamente femininos têm dois cromossomas sexuais X, ao passo que organismos masculinos têm um cromossoma sexual X e um Y. Embora o padrão de cromossomas sexuais determine a escolha entre o caminho para o desenvolvimento masculino ou feminino, as fases subsequentes do desenvolvimento sexual são controladas não só pelos genes do cromossoma sexual, mas também por hormônios e outros fatores, muitos dos quais codificados nos **autossomos**.

Um único fator determinante do sexo parece controlar a cascata de eventos que leva ao desenvolvimento masculino. Este fator de transcrição determinante do sexo é codificado pelo gene **SRY (REGIÃO DETERMINANTE DO SEXO DO CROMOSSOMA Y)**. Quando este fator de transcrição é expresso nas células somáticas de sustentação das futuras gônadas indiferenciadas, o desenvolvimento masculino é desencadeado. Este passo é chamado de **determinação sexual primária**. Caso este fator esteja ausente ou defeituoso, ocorre o desenvolvimento feminino ([Fig. 16-3](#)). Desta forma, a feminilidade vem sendo descrita como o caminho de desenvolvimento básico para o embrião humano. No entanto, deve ser enfatizado que se trata de uma simplificação grosseira e excessiva considerar que o desenvolvimento ovariano e a feminilidade é um processo passivo (*i.e.*, padrão) e não ativo (abordado adiante neste capítulo).

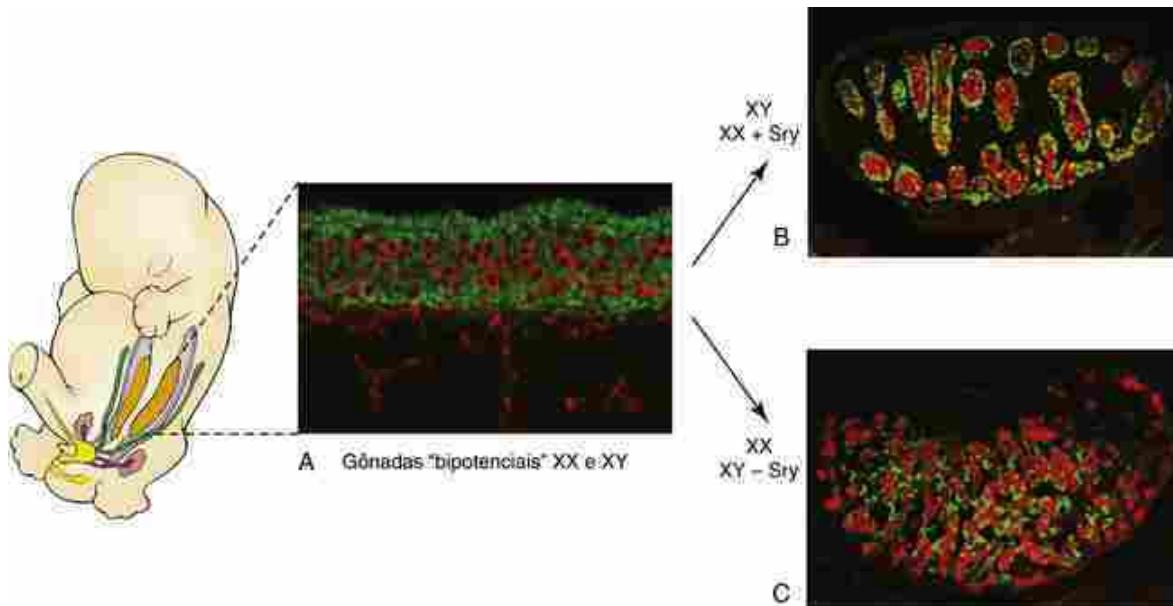


FIGURA 16-3 Determinação sexual primária das gônadas bipotenciais. *A*, Gônadas são inicialmente bipotentes, mas, com a expressão de Sry, elas se tomam o destino de desenvolvimento em testículos. *B*, Em camundongos XY ou XX que experimentalmente expressam Sry, as células somáticas de sustentação se diferenciam em células de Sertoli (verde). As células de Sertoli, em conjunto com as células germinativas (vermelho), organizam, em seguida, os cordões testiculares. *C*, Na ausência do gene Sry cariótipo (XX ou XY sem o gene Sry), as células somáticas de sustentação se diferenciam em células foliculares (verde) e envolvem as ovogônias (vermelho) para formar os folículos primordiais. A gônada, então, tem um destino de desenvolvimento ovariano.

O desenvolvimento genital masculino se inicia com a diferenciação das células de sertoli

O primeiro evento no desenvolvimento genital masculino é a expressão da proteína SRY no interior das células somáticas de sustentação da gônada XY (Figs. 16-3 e 16-4). Sob a influência deste fator as células somáticas de sustentação começam a se diferenciar em células de Sertoli e envolver as células germinativas (Figs. 16-3 e 16-5). Caso o SRY esteja ausente (*i.e.*, nas gônadas XX), as células somáticas de sustentação irão se diferenciar em células foliculares ovarianas, que envolvem as células germinativas (Figs. 16-3 e 16-5).

Em indivíduos geneticamente masculinos, o gene de determinação testicular ligado ao cromossoma Y (SRY) é expresso em células somáticas de sustentação, resultando na produção da proteína SRY; indivíduos geneticamente femininos não têm esse gene e não produzem a proteína SRY

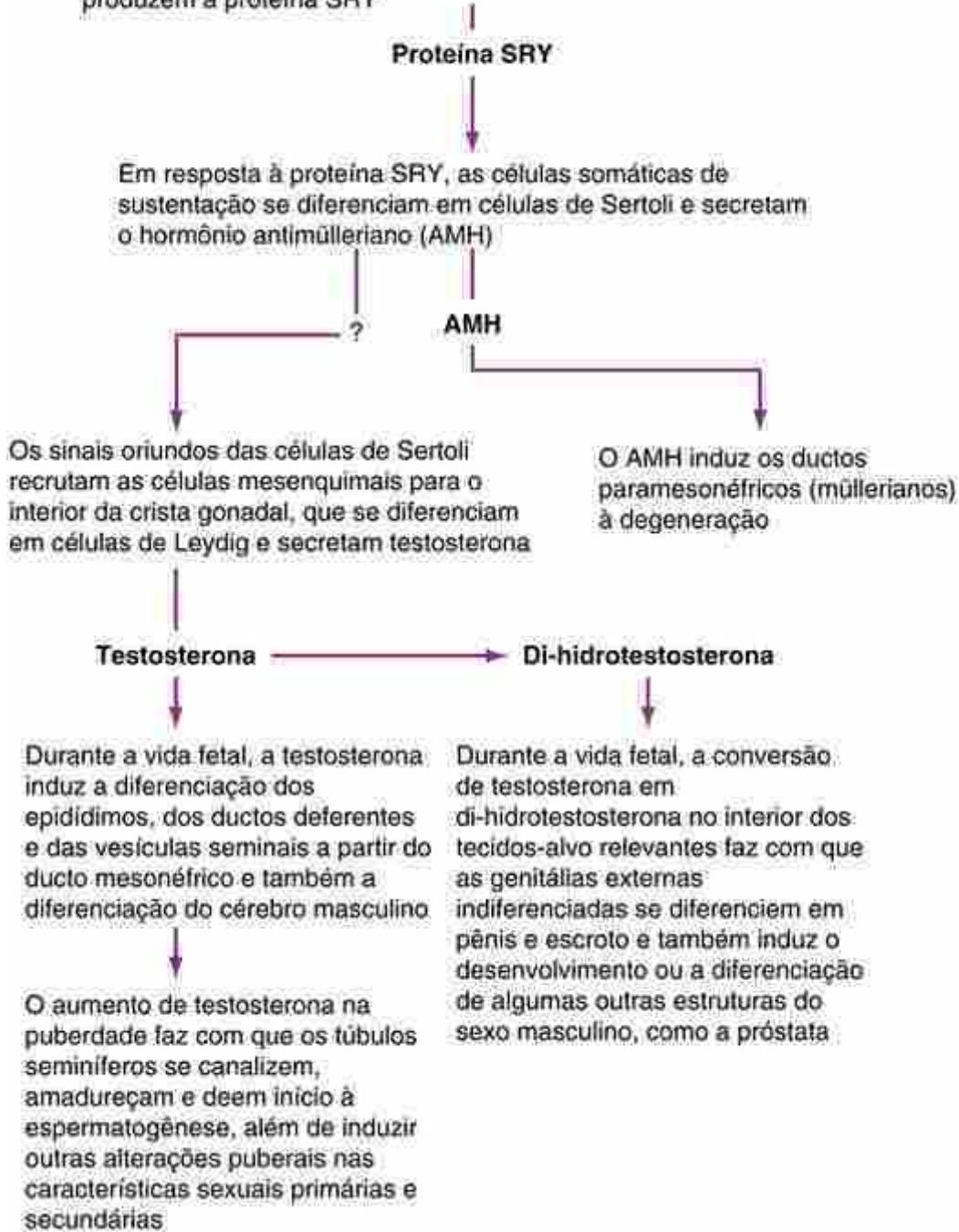


FIGURA 16-4 Resumo da cascata de diferenciação do desenvolvimento do sistema genital masculino.

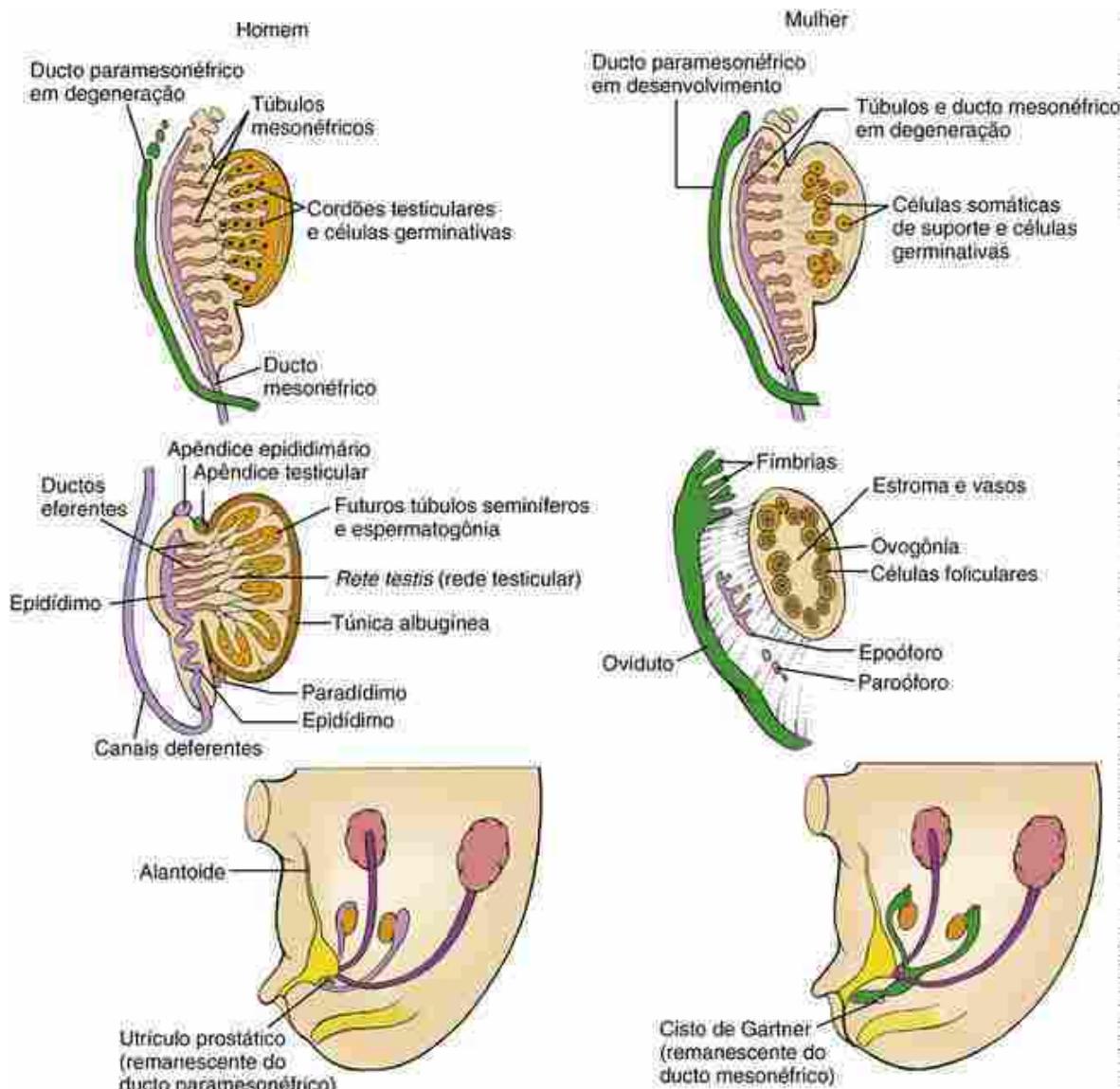


FIGURA 16-5 Comparação do desenvolvimento gonadal humano masculino e feminino em nível tissular.

Os sistemas genitais masculinos e femininos são praticamente idênticos até a 7^a semana. No homem, a proteína SRY faz com que as células somáticas de sustentação se diferenciem em células de Sertoli. As células de Sertoli, juntamente com as células germinativas e as células precursoras mioepiteliais, então se organizam em cordões testiculares e túbulos da *rete testis*. O AMH produzido pelas células de Sertoli faz com que os ductos paramesonéfricos regredam. As células de Leydig também se desenvolvem e, por sua vez, produzem testosterona, o hormônio que estimula o desenvolvimento do sistema ductal genital masculino. Na ausência de SRY, as células somáticas de sustentação se diferenciam em células foliculares e circundam as células germinativas para formar os folículos primordiais, as células de Leydig não se desenvolvem e o ducto mesonéfrico se degenera, ao passo que o ducto paramesonéfrico é mantido, formando o sistema ductal genital feminino.

O SRY é um gene de cópia única localizado no cromossoma Y. O gene SRY, um fator de transcrição, é ativado apenas por um curto período no interior das células somáticas gonadais e parece suprarregular genes testiculares específicos e reprimir os genes ovarianos (assunto abordado a seguir no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “O Gene Sox9 é o Provável Alvo Primário da Expressão de SRY”). A expressão do SRY é primeiramente detectada 41 a 44 dias após a ovulação e lá permanece detectável até o 52º dia.

Durante a 7^a semana, as células de Sertoli em diferenciação, associadas às células intersticiais da gônada, organizam-se para formar os **cordões testiculares**, circundando as células germinativas no centro destes cordões (Figs. 16-3, 16-5 e 16-6). Na puberdade, os cordões testiculares se canalizam e se diferenciam em um sistema de **túbulos seminíferos**. Na região adjacente aos mesonefros e desprovida de células germinativas, as células de Sertoli se organizam em um grupo de ductos de paredes finas denominado **rede testicular** (Fig. 16-6). Na puberdade, a rede testicular, que conecta os túbulos seminíferos com um número limitado de túbulos mesonéfricos (futuros díctulos eferentes), canaliza-se para formar uma conexão entre os túbulos seminíferos e os ductos mesonéfricos. Posteriormente, os ductos mesonéfricos se desenvolvem, no homem, em **epidídimo**, **ductos espermáticos** ou **ductos deferentes** e **vesículas seminais** (assunto

discutido adiante).

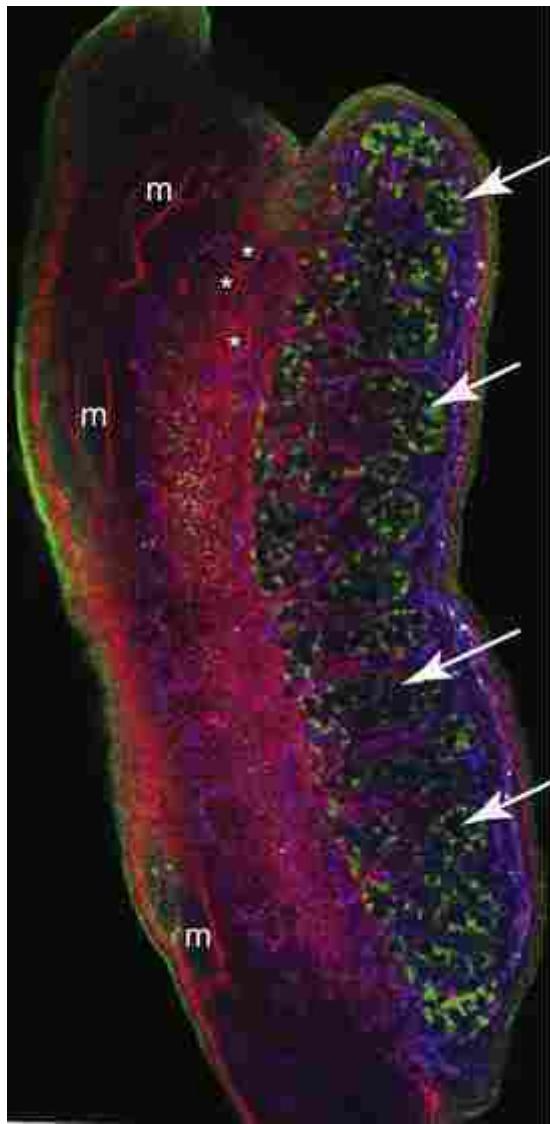


FIGURA 16-6 Desenvolvimento do testículo de um camundongo mostrando morfogênese dos cordões testiculares. Os cordões testiculares em desenvolvimento (setas) são demarcados por células de Sertoli (expressão de Sox9, em verde) e delineados por membranas basais (vermelho). A vascularização da gônada (VE-caderina, azul) também desempenha um importante papel na formação do cordão testicular (ver texto). As membranas basais também demarcam o ducto mesonéfrico (m) e os túbulos mesonéfricos (asteriscos).

Durante a 7^a semana, os testículos começam a assumir o formato arredondado e reduzem sua área de contato com os mesonefros (Figs. 16-3, 16-5 e 16-6). À medida que os testículos continuam seu desenvolvimento, o epitélio celômico é separado dos cordões testiculares por uma camada intermediária de tecido conjuntivo denominada túnica albugínea.

Desenvolvimento dos gametas masculinos

Embora o mecanismo não tenha sido elucidado, está claro que o contato direto entre as células de Sertoli e as células germinativas primordiais, no interior das cristas gonadais, desempenha um importante papel no desenvolvimento dos gametas masculinos. Esta interação acontece logo após a chegada das células germinativas primordiais na região da futura crista genital. Ela apresenta o efeito imediato de inibir as futuras mitoses das células germinativas e impedi-las de entrar em meiose. Nenhum desenvolvimento adicional das células germinativas acontece até 3 meses após o nascimento, quando elas se diferenciam em espermatogônias tipo A. O restante das fases da gametogênese masculina – novas mitoses, diferenciação em espermatogônias tipo B, meiose e espermatogênese – é retardado até a puberdade (Cap. 1).

No Laboratório de Pesquisa

O gene *sox9* é o provável alvo primário da expressão de *sry*

Muito do que aprendemos sobre os mecanismos celulares e moleculares envolvidos no desenvolvimento gonadal resulta de análises de camundongos mutantes e **correlações genótipo-fenótipo** com humanos que têm distúrbios no desenvolvimento sexual. Vários genes são necessários para a formação inicial da gônada indiferenciada, incluindo Wt1, fator esteroidogênico 1 (Sf1; também conhecido como Nr5a1), Emx2, proteína homeobox Lim 9 (Lhx9) e proteína de ligação à GATA 4 (Gata4). Vários destes genes, além de serem necessários para a formação inicial da gônada indiferenciada, são necessários também para a expressão subsequente dos genes Sry e de genes alvo de Sry ([Fig. 16-7](#)). Por exemplo, mutações em WT1 e SF1 em humanos resultam em gônadas malformadas e genitália ambígua.

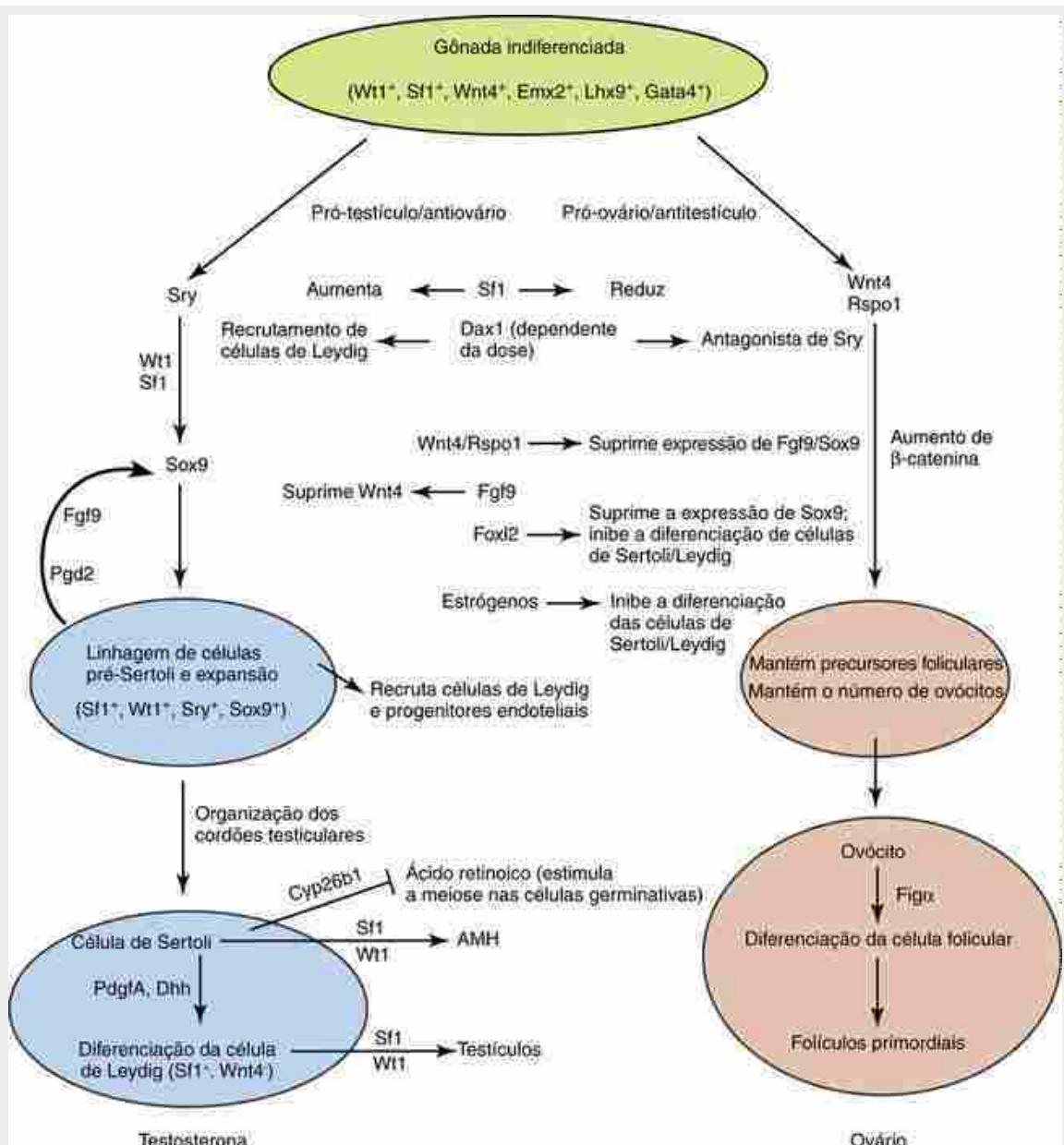


FIGURA 16-7 Comparação entre a determinação gonadal masculina e a feminina nos níveis celular e molecular. A expressão do gene Sry na gônada indiferenciada inicia uma cascata de eventos “pró-testiculares”, incluindo o início da expressão de Sox9 e Fgf9 e o aumento da expressão de Sf1. O desenvolvimento gonadal feminino é promovido por fatores “pró-ovarianos” e “antitesticulares”, incluindo Wnt4/Rspo1 e Foxl2. Dependendo da dosagem, a expressão de Dax1 pode ser “pró-testicular” ou “antitesticular”, entretanto, independentemente disso, é essencial para o desenvolvimento normal dos testículos. A expressão do gene Sry resulta na diferenciação das células de Sertoli e, em seguida, estas células recrutam outras células e organizam os cordões testiculares. Na ausência do gene Sry, as células somáticas de sustentação se diferenciam em células foliculares sob a influência dos ovócitos. Juntamente com os ovócitos, as células foliculares se organizam em folículos ovarianos primordiais.

Embora o gene Sry seja fundamental na determinação do sexo, genes-alvo específicos de Sry ainda não foram identificados. A proteína Sry se liga aos sulcos menores no DNA por meio de seu motivo HMG box, e isso induz alterações na curvatura e na conformação do DNA que expõem sítios de ligação para vários outros reguladores transacionais. Isso torna mais difícil identificar alvos específicos de Sry especificamente envolvidos na condução da determinação do sexo.

O gene Sox9 (Sry-related HMG box-9) parece ser um alvo importante da expressão de Sry. Na gônada indiferenciada, Sox9 é fracamente expresso tanto em embriões de camundongo XX quanto XY. Em camundongos XY, o Sox9 é suprarregulado logo após a expressão do gene Sry em células pré-Sertoli (Figs. 16-7, 16-8A e 16-9). Camundongos XY com um *knockout* condicional para Sox9 não apresentam cordões testiculares, não formam células de Sertoli e expressam marcadores femininos específicos no interior da gônada. A suprarregulação da expressão de Sox9 nas gônadas XX também pode levar ao crescimento testicular. Humanos com mutações heterozigóticas que inativam SOX9 desenvolvem **displasia campomélica** (um grave defeito nos ossos longos dos

membros discutido no Cap. 8; Sox9 tem um papel importante no desenvolvimento da cartilagem, o que também é descrito no Cap. 8). Quase 75% dos pacientes XY com displasia campomélica exibem certo grau de inversão sexual (*i.e.*, desenvolvimento feminino), enquanto os pacientes XX que apresentam displasia campomélica têm gônadas normais. Além disso, indivíduos XX com duplicações cromossômicas no gene SOX9 desenvolvem-se como homens. Essas observações sugerem fortemente que muitos efeitos do SRY na determinação do sexo são transmitidas por meio da ativação de SOX9.

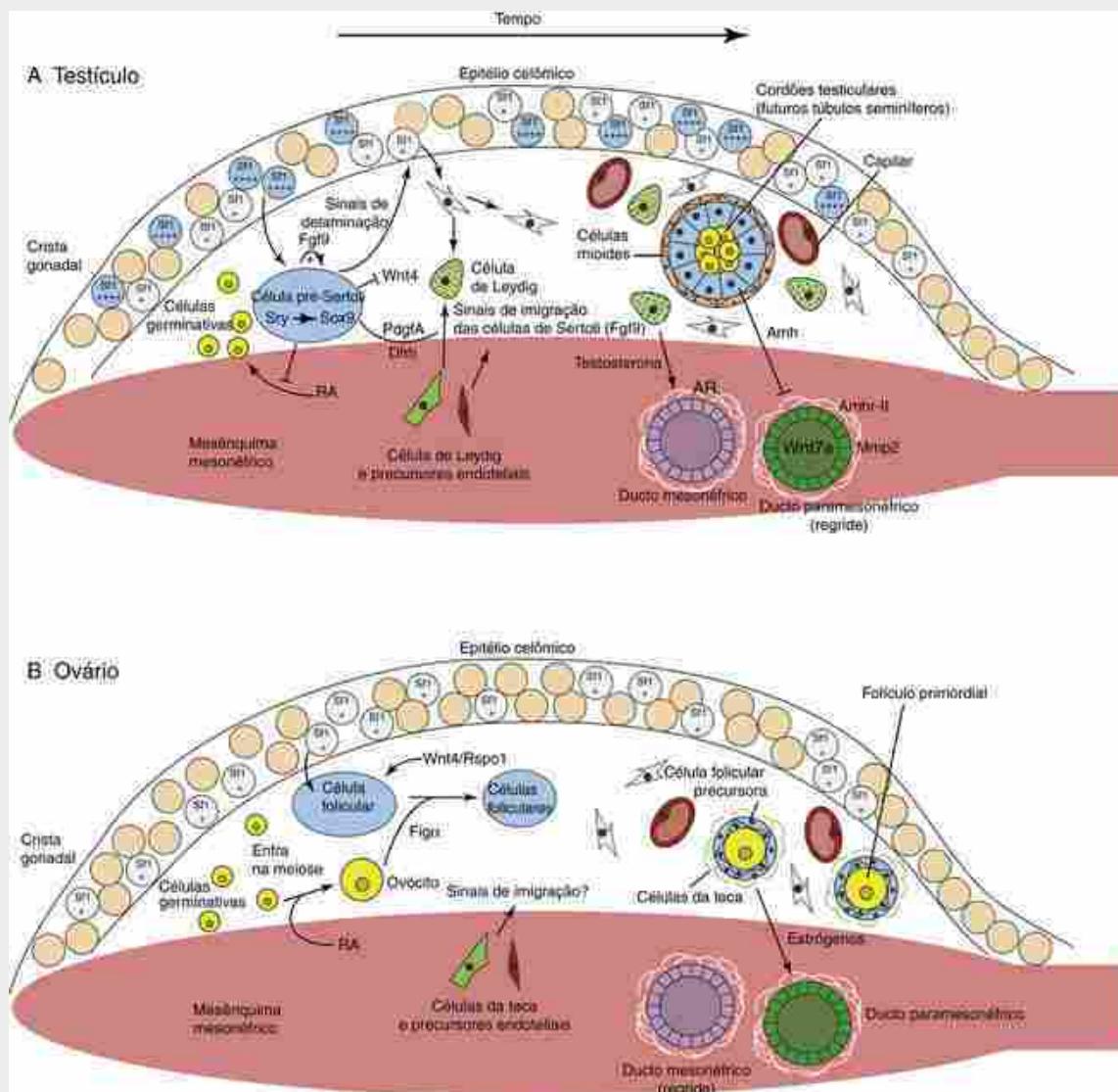


FIGURA 16-8 Visão geral de fatores de transcrição, fatores de crescimento e origem de vários tipos celulares responsáveis pela formação das gônadas no sexo masculino (A) e no feminino (B). AMH, hormônio antimülleriano; AR, receptor de andrógenos; RA, ácido retinoico.

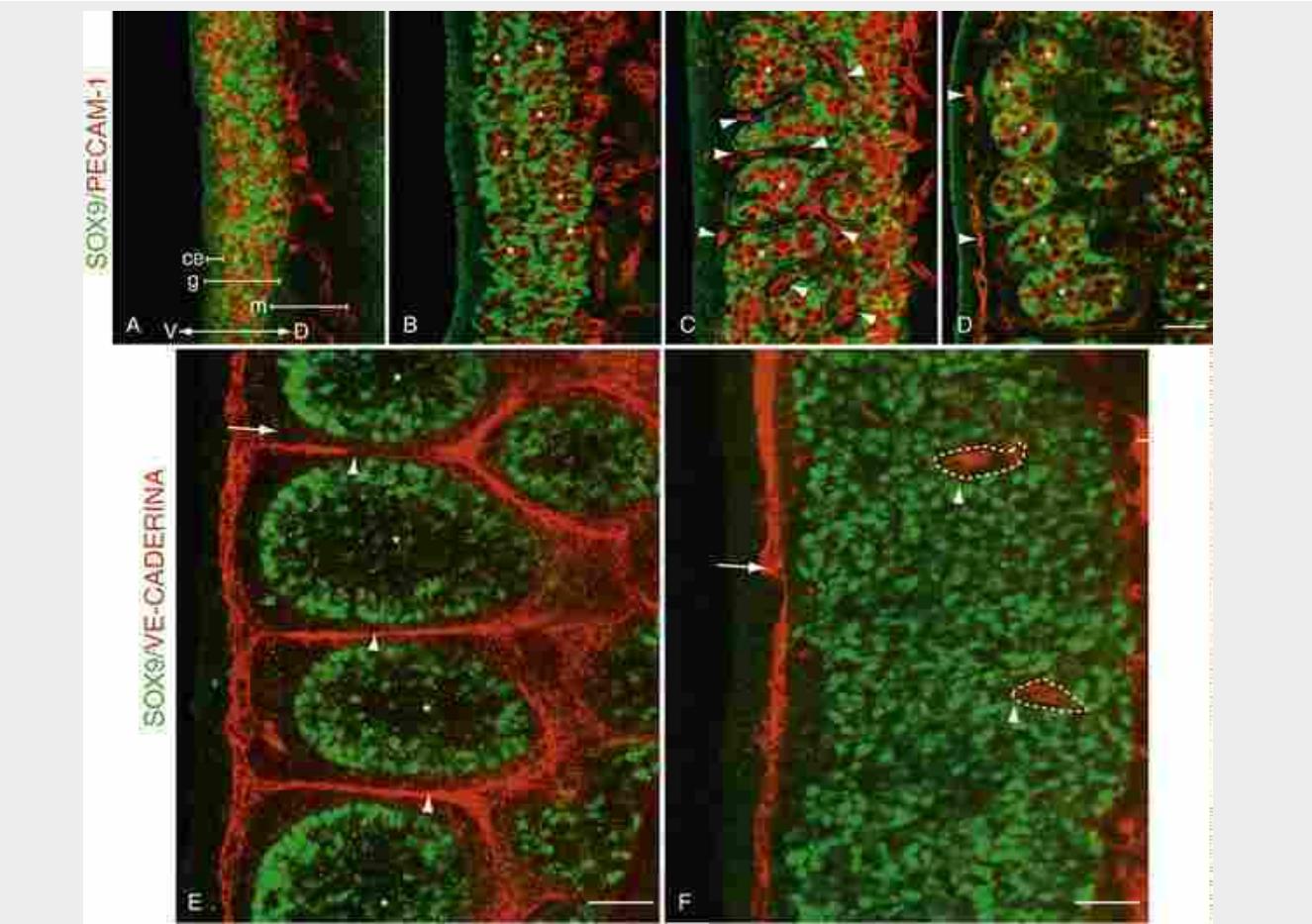


FIGURA 16-9 Decurso temporal da formação do cordão testicular e invasão de células endoteliais do mesênquima mesonéfrico no camundongo. *A*, As células de Sertoli (Sox9, verde) e as células germinativas (PECAM-1, vermelho) são igualmente distribuídas na gônada bipotente (*g*), enquanto as células endoteliais (também PECAM-1 positivas, vermelho) estão igualmente distribuídas no interior do mesênquima mesonéfrico (*m*). *B-D*, Conforme o desenvolvimento prossegue, as células endoteliais invadem a gônada e organizam-se em vasos sanguíneos (*setas*), enquanto as células de Sertoli e germinativas se organizam em cordões testiculares (*asteriscos*). *E*, Desenvolvimento dos explantes gonadais do camundongo controle em cultura por 24 horas. *F*, Desenvolvimento dos explantes gonadais do camundongo em cultura por 24 horas na presença de anticorpo contra VE-caderina. O bloqueio de migração de células endoteliais utilizando anticorpos contra VE-caderina interrompe tanto a formação do cordão de testicular quanto a organização vascular da gônada. Apenas algumas células endoteliais (vermelho) entram nas gônadas (*pontas de seta*), mas os vasos celômicos ainda estão presentes (*setas*). *Ce*, epitélio celômico; *D*, dorsal; *V*, ventral. A barra representa 100 µm em *A-D* e 50 µm em *E, F*.

As células de sertoli são as principais organizadoras dos testículos

Células germinativas primordiais respondem muito diferentemente ao ambiente gonadal, dependendo do sexo. Ao entrarem na gônada, as células germinativas primordiais proliferam. No sexo masculino, as células germinativas primordiais são envolvidas por células pré-Sertoli e entram em uma longa parada mitótica. No sexo feminino, as células germinativas primordiais continuam a mitose um pouco mais e, em seguida, entram em meiose e rapidamente param. Estas células germinativas meióticas paradas aparentemente induzem a diferenciação de células foliculares, já que, na sua ausência, as células do folículo nunca se formam. O motivo por que as células germinativas em homens não iniciam a meiose não é claro, mas estudos recentes em camundongos sugerem que eles são protegidos contra os efeitos do ácido retinoico produzido dentro dos mesonefros quando circundados por células de Sertoli (células de Sertoli expressam Cyp26b1, um gene que codifica uma enzima que metaboliza ácido retinoico). O que direciona as células primordiais germinativas masculinas para a parada mitótica é desconhecido, mas pode incluir a prostaglandina D2 (Pdg2) e a proteína codificada pelo gene Tdl (Cap. 1).

As células de Sertoli atuam como o centro organizador principal do desenvolvimento de testículo porque dirigem a especificação de linhagem e a diferenciação de outras células dentro da gônada. Em camundongos, as células pré-Sertoli começam expressando Sry e são capazes de iniciar o recrutamento de outras células que não expressam Sry para a linhagem de células de Sertoli. As células pré-Sertoli produzem Fgf9, que medeia a proliferação do precursor da célula de Sertoli e mantém a expressão de Sox9 nestas células (abordado mais adiante neste capítulo), e Pgd2, que suprarregula a expressão de Sox9; ambos reforçam o desenvolvimento gonadal

masculino por meio de um ciclo de *feedback* positivo autorregulatório, mantendo níveis elevados de Sox9 (Figs. 16-7 e 16-8).

Qual é a origem da população inicial de células de Sertoli? Estudos de rastreamento de linhagem em camundongos mostram que os precursores iniciais de células de Sertoli se delaminam do epitélio celômico da crista genital, em vez de surgirem do mesênquima mesonéfrico/crista gonadal (embora pré-células de Sertoli adicionais possam ser recrutadas a partir dos mesonefros pelas células pré-Sertoli no interior da crista gonadal). Além disso, esses experimentos mostraram que uma população celular intersticial não identificada e de função desconhecida também se delamina do mesmo epitélio. Os estudos sugerem que essas duas linhagens derivadas do epitélio se diferenciam pelo grau da expressão de Sf1. Sf1 codifica uma proteína receptora de hormônio nuclear e é expressa na glândula suprarrenal em formação e nas células somáticas primitivas das gônadas XX e XY primárias. Em camundongos XX, a expressão gonadal de Sf1 logo diminui, mas em camundongos XY é retida em células de Sertoli e Leydig primitivas (onde promove a produção de hormônio antimülleriano pelas células de Sertoli e de testosterona pelas células de Leydig). Estudos em camundongos sugerem que um subconjunto de células celômicas epiteliais proliferativas que expressam altos níveis de Sf1 se delamina primeiro e que essas células dão origem a células pré-Sertoli (Fig. 16-8A). Na ausência do Sry, estas células delaminadas não se diferenciam em células de Sertoli, e sim adotam uma linhagem de células foliculares (Fig. 16-8B). As células pré-Sertoli recém-formadas, agora expressando Sry, Sox9 e Fgf9, então sinalizam para células celômicas epiteliais que expressam baixos níveis de Sf1 se dividirem, delaminarem e produzirem precursoras de células intersticiais (Fig. 16-8A). Esses resultados são consistentes com observações que mostram que as mutações em SF1 resultam em disgenesia gonadal XY em humanos e que níveis dependentes da dose de SF1 medeiam a determinação do sexo em função da temperatura das gônadas bipotenciais (indiferenciadas) em alguns vertebrados (p. ex., em alguns répteis e pássaros).

O epitélio celômico não é a única fonte de células no interior gônada em desenvolvimento. Células são recrutadas para a crista gonadal a partir dos mesonefros por sinais que emanam de células pré-Sertoli Sf1-positivas (cuja natureza é desconhecida) (Figs. 16-7 e 16-8A). Estas células migratórias incluem as células endoteliais e precursoras das células de Leydig, que são essenciais para o desenvolvimento das gônadas. No passado, pensava-se que precursores de células mioepiteliais se incluíam neste grupo de células migratórias, mas estudos recentes mostram que não. Em vez disso, células precursoras mioepiteliais parecem ser induzidas a partir de dentro do estroma testicular. No entanto, a organização dos cordões testiculares é dependente da migração das células endoteliais do mesênquima mesonéfrico, já que a perturbação de sua migração e a capacidade de formar vasos sanguíneos bloqueiam a formação dos cordões testiculares (Fig. 16-9). Os progenitores mioepiteliais, em conjunto com as células de Sertoli e células germinativas, então se organizam em cordões testiculares epiteliais.

O hormônio antimülleriano e o desenvolvimento genital masculino

À medida que as células pré-Sertoli começam sua diferenciação morfológica em resposta ao Sry, elas também iniciam a secreção de um hormônio glicoproteico denominado **hormônio antimülleriano (Amh)** ou **substância inibidora mülleriana (Mis)**. O Amh é um membro da família Tgf β e é expresso especificamente pelas células de Sertoli, começando, em humanos, por volta da 8^a semana, fazendo com que os ductos paramesonéfricos regridam rapidamente entre a 8^a e a 10^a semana (Figs. 16-4, 16-5 e 16-8). No entanto, pequenos fragmentos de ductos paramesonéfricos podem ser detectados no homem adulto, incluindo uma pequena massa de tecido associada ao testículo, denominada **apêndice testicular**, e uma expansão da uretra prostática, denominada **utrículo prostático** (Fig. 16-5). Nos embriões femininos, como descrito mais adiante, os ductos paramesonéfricos não regridem.

No Laboratório de Pesquisa

A regressão do ducto paramesonéfrico necessita de interações epitélio-mesenquimais

A sinalização do Amh atua indiretamente por meio de interações com o receptor de Amh tipo II (Amhr-II, também conhecido como Misr-II) nas células mesenquimais adjacentes ao ducto paramesonéfrico, em vez de diretamente sobre o epitélio do ducto (Fig. 16-8A). Após a ativação do receptor, a sinalização mesênquima-epitélio induz regressão do ducto paramesonéfrico. A sinalização mesênquima-epitélio recíproca e contínua é importante para a manutenção da expressão de Amhr-II no mesênquima porque, na ausência do ducto epitelial que expressa Wnt7a, a expressão de Amhr-II é perdida e derivados paramesonéfricos são indevidamente mantidos no homem. Mutações nos genes AMH e AMHR-II foram identificadas em humanos do sexo masculino e resultaram em características típicas da **síndrome do ducto mülleriano persistente** (abordado adiante), incluindo **criptorquidia** (testículo não descendido) ou testículos ectópicos com hérnias inguinais.

Recentemente, outro grupo de receptores Amh, o grupo de receptores Amh tipo I (Amhr-I), foi identificado com

base no fato de o Amh ser um membro da família TGF β /BMP. Estudos descobriram que Alk2, Alk3 (ou Bmpr1a) e Alk6 também servem como receptores Amhr-I. Quando camundongos machos *knockout* para esses receptores são usados, ou se sua sinalização é bloqueada no mesênquima do ducto paramesonéfrico, a regressão do ducto paramesonéfrico induzida pelo Amh também não ocorre mais.

Que alvos dos sinais de Amh no mesênquima podem ser responsáveis pela perda do epitélio do ducto? Poucos foram encontrados, mas um deles pode ser a metaloproteinase de matriz tipo 2 (Mmp2), uma protease extracelular (Fig. 16-8A) que degrada inúmeros componentes da membrana basal e libera peptídeos bioativos e fatores de crescimento da matriz extracelular. Logo depois de ocorrer a sinalização de Amh no mesênquima, as células do ducto paramesonéfrico começam a sofrer apoptose, mas só depois aparecem evidências da degradação da membrana basal. Aumentos na expressão de Mmp2 ocorrem paralelamente ao surgimento da expressão de Amhr-II, e em camundongos machos com deficiência de Amh não ocorre a suprarregulação de Mmp2. Além disso, inibidores sintéticos gerais da atividade enzimática da Mmp inibem *in vitro* a regressão do ducto paramesonéfrico induzida pelo Amh (no entanto, bloqueando especificamente a expressão de Mmp2 por meio de tecnologias *antisense*, a regressão ocorre apenas parcialmente, sugerindo que outras Mmps estão envolvidas). Assim, por meio da degradação da membrana basal ou da liberação de sinais pró-apoptóticos, as Mmps (incluindo a Mmp2) podem promover a regressão do ducto paramesonéfrico dependente do Amh.

Na Clínica

Mutações no amh ou em seu receptor causam síndrome do ducto mülleriano persistente em indivíduos xy

Indivíduos que são 46,XY e possuem mutações no AMH ou nos genes dos RECEPTORES DE AMH apresentam características típicas da **síndrome do ducto mülleriano persistente**, pois os ductos paramesonéfricos (müllerianos) não regredem. Estes indivíduos desenvolvem estruturas que são derivadas do ducto paramesonéfrico, em adição aquelas derivadas do ducto mesonéfrico (Fig. 16-10). Consequentemente, um homem com síndrome do ducto paramesonéfrico persistente desenvolve vagina, cérvix, útero e tubas de Falópio, bem como ductos deferentes e genitália externa masculina. Os órgãos femininos estão em suas posições normais, porém a posição dos testículos varia. Em 60% a 70% dos casos, ambos os testículos encontram-se na posição normal para os ovários (*i.e.*, dentro do ligamento largo) (Fig. 16-10A); em cerca de 20% a 30% das vezes, um testículo se posiciona no interior do saco inguinal hernial (Fig. 16-10B); em outras ocasiões, ambos os testículos se encontram dentro do mesmo saco inguinal hernial (Fig. 16-10C). Em todos os casos, os ductos deferentes correm ao lado do útero.

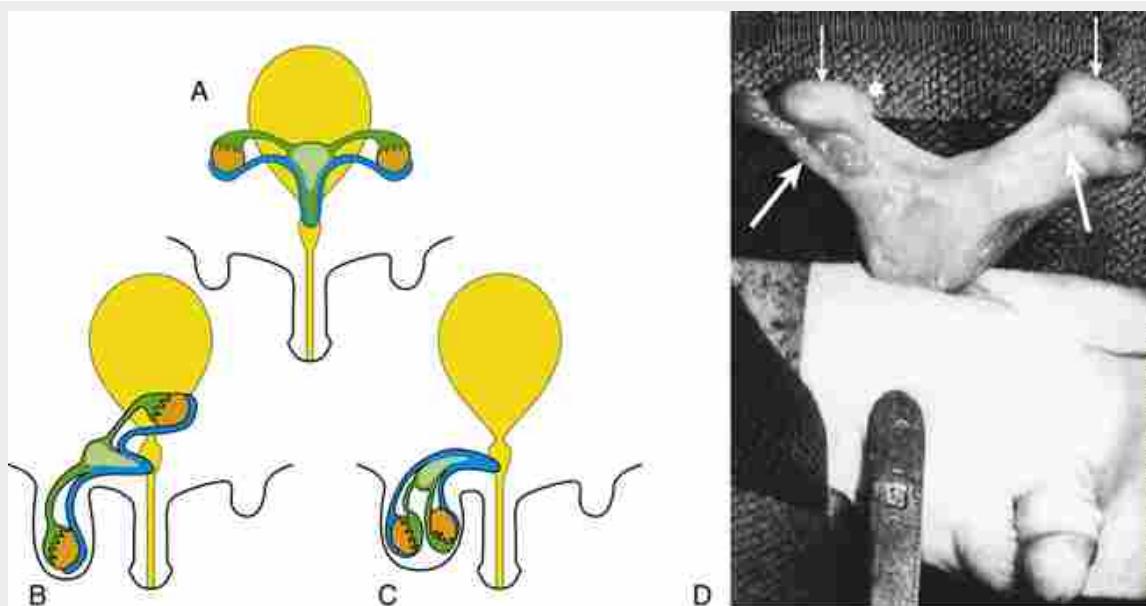


FIGURA 16-10 Síndrome do ducto mülleriano persistente. Em indivíduos 46,XY com mutações nos genes de AHM ou RECEPTOR de AHM, os ductos paramesonéfricos (müllerianos) não regredem. Estes indivíduos desenvolvem derivados paramesonéfricos, além daqueles do ducto mesonéfrico. Estes indivíduos têm colo uterino, útero e tubas de Falópio, bem como canais deferentes e genitália externa masculina. O fenótipo varia na medida em que os órgãos femininos estão em sua posição normal, mas os testículos podem estar na posição normal para os ovários (ou seja, dentro do ligamento largo, A), um testículo pode ficar dentro do saco herniário inguinal (B), ou ambos os testículos podem permanecer dentro de um mesmo saco inguinal (C). D, Fenótipo típico do cenário apresentado em A. As duas setas inferiores apontam para as tubas de Falópio, e duas setas superiores indicam a posição dos testículos dentro do ligamento largo.

Diferenciação das Células de Leydig Testiculares

Durante a 9^a ou 10^a semana, as **células de Leydig** se diferenciam das células mesonéfricas mesenquimais, recrutadas pelas células pré-Sertoli. Estudos recentes em camundongos sugerem que estas células precursoras são derivadas tanto da borda mesonéfrica-gônada quanto do epitélio celômico (Figs. 16-7 e 16-8). Estas células endócrinas produzem o hormônio esteroide sexual masculino, **testosterona**, que a sobrevivência do ducto mesonéfrico, necessário ao desenvolvimento do trato genital masculino e, mais tarde, para o desenvolvimento das características sexuais secundárias. Neste estágio inicial de desenvolvimento (até 12 semanas), a secreção de testosterona é regulada pelo hormônio peptídico **gonadotrofina coriônica**, secretado pela placenta. Mais tarde, as gonadotrofinas hipofisárias do feto masculino assumem o controle sintetizando os esteroides sexuais masculinizantes (andrógenos). Sob o controle da gonadotrofina coriônica placentária, tanto o número de células de Leydig quanto os níveis de testosterona chegam ao ponto máximo da 14^a à 18^a semana de gestação. Os receptores de hormônio luteinizante nas células de Leydig começam a aparecer na 12^a semana, havendo um aumento concomitante na expressão de enzimas esteroidogênicas liberadas por estas células neste momento. Entretanto, após 16 semanas, o número de células de Leydig e os níveis de enzimas esteroidogênicas começam a cair, já que o controle pela gonadotrofina passa para a pituitária. A liberação de gonadotrofina pituitária começa durante o 2º e 3º trimestres. As mutações que afetam a diferenciação e a função das células de Leydig, ou em genes envolvidos na síntese de testosterona, levam geralmente a distúrbios 46,XY do desenvolvimento sexual (assunto abordado mais adiante neste capítulo).

Duas populações diferentes de células de Leydig são responsáveis pela biossíntese de andrógenos durante a vida fetal e pós-natal. As células de Leydig fetais produzem a testosterona necessária para estimular o desenvolvimento do órgão masculino (*i.e.*, criar o epidídimo, os ductos deferentes e as vesículas seminais a partir do ducto mesonéfrico). A partir da testosterona a **5α-redutase** da célula de Leydig produz **di-hidrotestosterona**, necessária para induzir a uretra masculina, a próstata, o pênis e o escroto (abordado mais adiante neste capítulo) e para a descida dos testículos para dentro do escroto (Fig. 16-4). Entretanto, as células de Leydig fetais eventualmente regredem e degeneram tardivamente no período fetal ou logo após o nascimento. Na puberdade, uma nova população de células de Leydig adultas se diferencia a partir de progenitores de células de Leydig residentes no interstício peritubular. Andrógenos produzidos por este conjunto de células de Leydig desempenham um importante papel na masculinização do cérebro, mediando o comportamento sexual masculino e iniciando a espermatozogênese.

No Laboratório de Pesquisa

Diferenciação das células de Leydig

Uma vez que as células de Leydig progenitoras migram para dentro das gônadas em desenvolvimento, interações paracrinas entre estas células e as células de Sertoli desempenham um papel central na diferenciação das células de Leydig fetais e adultas. As proteínas *desert hedgehog* (Dhh) e PdgfA são liberadas pelas células de Sertoli fetais; seus receptores, *patched1* (Ptch1) e Pdgfra, são expressos pelas células de Leydig fetais ([Figs. 16-7 e 16-8](#)). Mais de 90% dos camundongos XY com mutações nulas para Dhh exibem distúrbios no desenvolvimento sexual, e camundongos deficientes em Pdgfra exibem diferenciação anormal das células de Leydig. Fenótipos semelhantes (incluindo vaginas cegas e derivados dos ductos mesonéfricos e próstatas mal desenvolvidos) são encontrados em humanos XY com mutações Dhh.

Menos ainda se sabe sobre a diferenciação de células de Leydig adultas. Embora os fatores de crescimento Dhh e Pdgf pareçam estar envolvidos, como na diferenciação fetal das células de Leydig, diversos hormônios também estão envolvidos na diferenciação das células de Leydig adultas. Além disso, macrófagos testiculares são, de alguma forma, necessários para o desenvolvimento das células de Leydig adultas. Se os macrófagos testiculares estiverem ausentes do interstício testicular, as células de Leydig não se desenvolverão, sugerindo que estes macrófagos fornecem fatores de crescimento e de diferenciação essenciais para as células de Leydig. No entanto, a natureza desses sinais permanece sem esclarecimento.

Ductos Mesonéfricos e Glândulas Acessórias da Uretra Masculina se Diferenciam em Resposta à Testosterona

No período entre 8 e 12 semanas, a secreção inicial de testosterona estimula os ductos mesonéfricos a se transformar em um sistema de órgãos – o epidídimos, os ductos deferentes e a vesícula seminal – que liga os testículos à uretra. Estes derivados mesonéfricos são distinguíveis por suas morfologias e padrões específicos de expressão gênica, apesar de serem contíguos (veja a seguir “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Desenvolvimento do Epidídimos, dos Ductos Deferentes e das Vesículas Seminais”).

A maior parte do ducto mesonéfrico se diferencia no ducto espermático denominado **ducto deferente** ([Fig. 16-5](#)). A extremidade mais cranial de cada ducto mesonéfrico se degenera, deixando um pequeno remanescente chamado **apêndice epididimal**, e a região do ducto mesonéfrico adjacente ao futuro testículo se diferencia no contorcido **epidídimos**. Durante a 9^a semana, 5 a 12 túbulos mesonéfricos na região do epidídimos fazem contato com os cordões da futura rede testicular. Entretanto, até o terceiro mês esses **túbulos mesonéfricos epigenitais** não se unem efetivamente à futura rede testicular. Os túbulos mesonéfricos epigenitais são subsequentemente denominados **dúctulos eferentes** e fornecerão uma via dos túbulos seminíferos e rede testicular até o epidídimos. Enquanto isso, os túbulos mesonéfricos no polo caudal dos testículos em desenvolvimento (chamados **túbulos mesonéfricos paragenitais**) se degeneram, deixando um pequeno fragmento chamado de **paradídimos**.

As três glândulas acessórias do sistema genital masculino – vesícula seminal, próstata e glândula bulbouretral – se desenvolverão próximo à junção entre os ductos mesonéfricos e a uretra ([Fig. 16-11](#)). As **vesículas seminais** glandulares brotam durante a 10^a semana, a partir dos dutos mesonéfricos, perto de seu ponto de junção à uretra. A porção dos ductos deferentes (ducto mesonéfrico) entre cada vesícula seminal e a uretra é consequentemente denominada **ducto ejaculatório**.

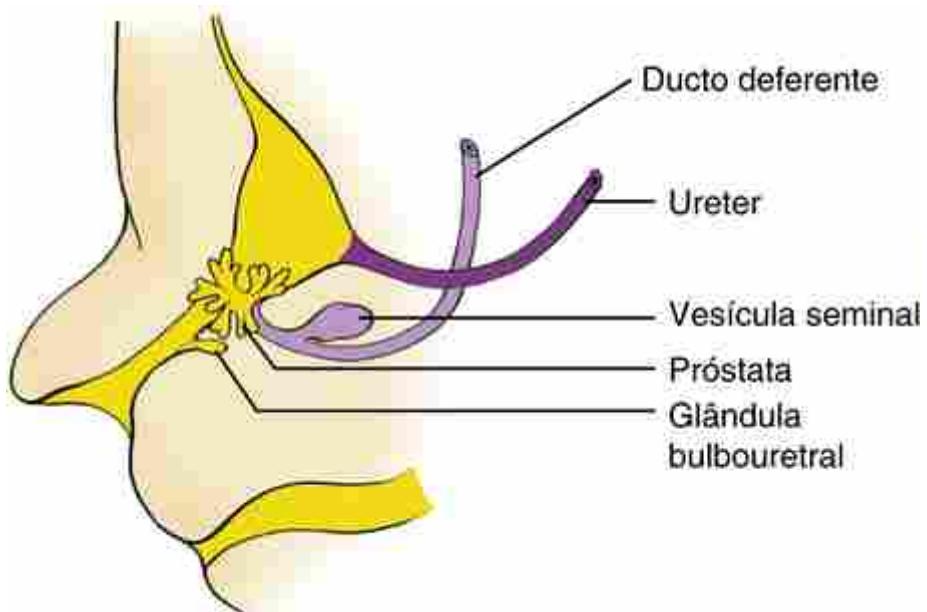


FIGURA 16-11 Desenvolvimento das vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais. Estas glândulas são induzidas por andrógenos entre a 10^a e a 12^a semana.

A **glândula prostática** também começa a se desenvolver na 10^a semana como um conjunto de evaginações endodérmicas que brotam da uretra. Essas evaginações prostáticas são induzidas pelo mesênquima circunjacente, cuja atividade indutora provavelmente depende da conversão da testosterona secretada em di-hidrotestosterona. As evaginações prostáticas formam, inicialmente, pelo menos cinco grupos independentes de cordões prostáticos sólidos. Por volta da 11^a semana, esses cordões desenvolvem um lúmen e ácinos glandulares, e da 13^a à 15^a semana (assim que as concentrações de testosterona atingem um nível alto), a próstata começa a sua atividade secretora. O mesênquima circunjacente à porção glandular da próstata, derivada do endoderma, se diferencia no músculo liso e tecido conjuntivo da próstata.

À medida que a próstata se desenvolve, as **glândulas bulbouretrais** emparelhadas (ou **glândulas de Cowper**) brotam da uretra, logo abaixo da próstata. Assim como na próstata, o mesênquima circunjacente ao tecido glandular endodérmico dá origem ao tecido conjuntivo e ao músculo liso dessa glândula.

Eventualmente, as secreções das vesículas seminais, da próstata e das glândulas bulbouretrais contribuem para o líquido seminal protegendo e nutrindo os espermatozoides após a ejaculação. Deve-se notar que estas secreções não são necessárias para a função do esperma; espermatozoides retirados diretamente do epidídimos podem fertilizar ovócitos.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento do epidídimo, dos ductos deferentes e das vesículas seminais

O ducto mesonéfrico precisa da testosterona para manutenção e posterior diferenciação; caso contrário, ele regrediria. A testosterona atua por meio de interações parácrinas, em vez de ser levada pela vasculatura para o ducto mesonéfrico, já que a castração unilateral em coelhos machos resulta apenas na regressão unilateral do ducto mesonéfrico (consequentemente, a testosterona da gônada pode ser transportada pelo lúmen do ducto mesonéfrico). A testosterona se liga ao receptor de andrógeno (também conhecido como receptor de di-hidrotestosterona), que é expresso pelo mesênquima adjacente ao ducto mesonéfrico. Camundongos sem o receptor de andrógeno exibem agenesia dos derivados do ducto mesonéfrico e desenvolvem genitália externa feminina. O desenvolvimento anormal do ducto mesonéfrico também ocorre em humanos com mutações no RECEPTOR DE ANDROGÊNIO que levam a distúrbios 46,XY do desenvolvimento sexual (abordados no “Caso Clínico” neste capítulo).

Como mencionado anteriormente, o ducto mesonéfrico forma diferentes estruturas ao longo de sua extensão craniocaudal. O desenvolvimento dessas estruturas derivadas do mesonefro depende de interações epitelio-mesenquimais regionalmente específicas que são iniciadas pelo mesênquima adjacente. Por exemplo, estudos *in vitro* mostraram que a porção cranial do ducto mesonéfrico, que normalmente se desenvolve no epidídimo, pode ser redirecionada para o desenvolvimento de vesículas seminais quando recombina com o mesênquima da vesícula

seminal. Além disso, o crescimento contínuo do mesênquima circunjacente também requer interação recíproca com o epitélio do ducto mesonéfrico. Estas interações provavelmente envolvem a expressão regional de vários fatores de crescimento (Fig. 16-12). Por exemplo, todos os camundongos com deficiência do fator de crescimento Gdf7 (*growth differentiation factor-7*) ou Fgf10 exibem defeitos no desenvolvimento do epidídimo e da vesícula seminal. Em camundongos, o desenvolvimento do ducto e túbulo mesonéfricos depende da expressão de Fgf8. Na sua ausência, a porção cranial ducto mesonéfrico se degenera e os díctulos eferentes, o epidídimo e a porção cranial dos ductos deferentes não se formam (Fig. 16-13). Se a perda de expressão de Fgf8 for restrita ao desenvolvimento de túbulos mesonéfricos crescendo para fora do ducto mesonéfrico, este é mantido e o epidídimo e o ducto deferente se formam normalmente, porém os díctulos eferentes são perdidos.

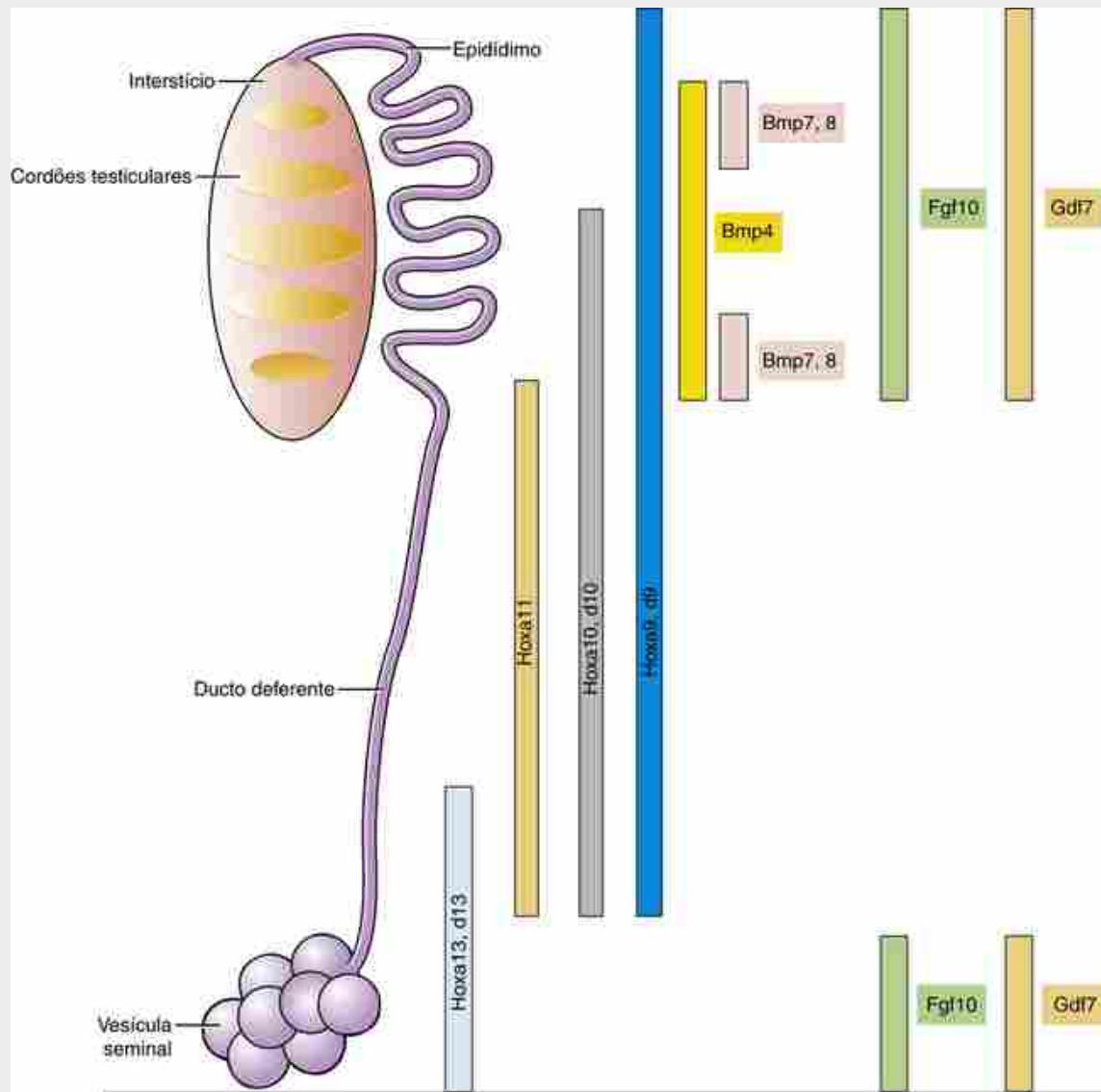


FIGURA 16-12 Diferenciação do ducto mesonéfrico masculino. Sob a influência da testosterona, o ducto mesonéfrico forma diferentes estruturas ao longo do seu comprimento craniocaudal, cuja natureza depende de interações epitelio-mesenquimais regionalmente específicas. Em camundongos, a expressão limitada de vários fatores de crescimento (incluindo Bmps, Gdf7 e Fgf10) e de genes Hox no mesenquima desempenha papéis importantes na mediação das características regionais assumidas pelo ducto mesonéfrico. As mutações ou alterações na expressão destes genes podem levar à transformação homeótica dos derivados dos ductos mesonéfricos.

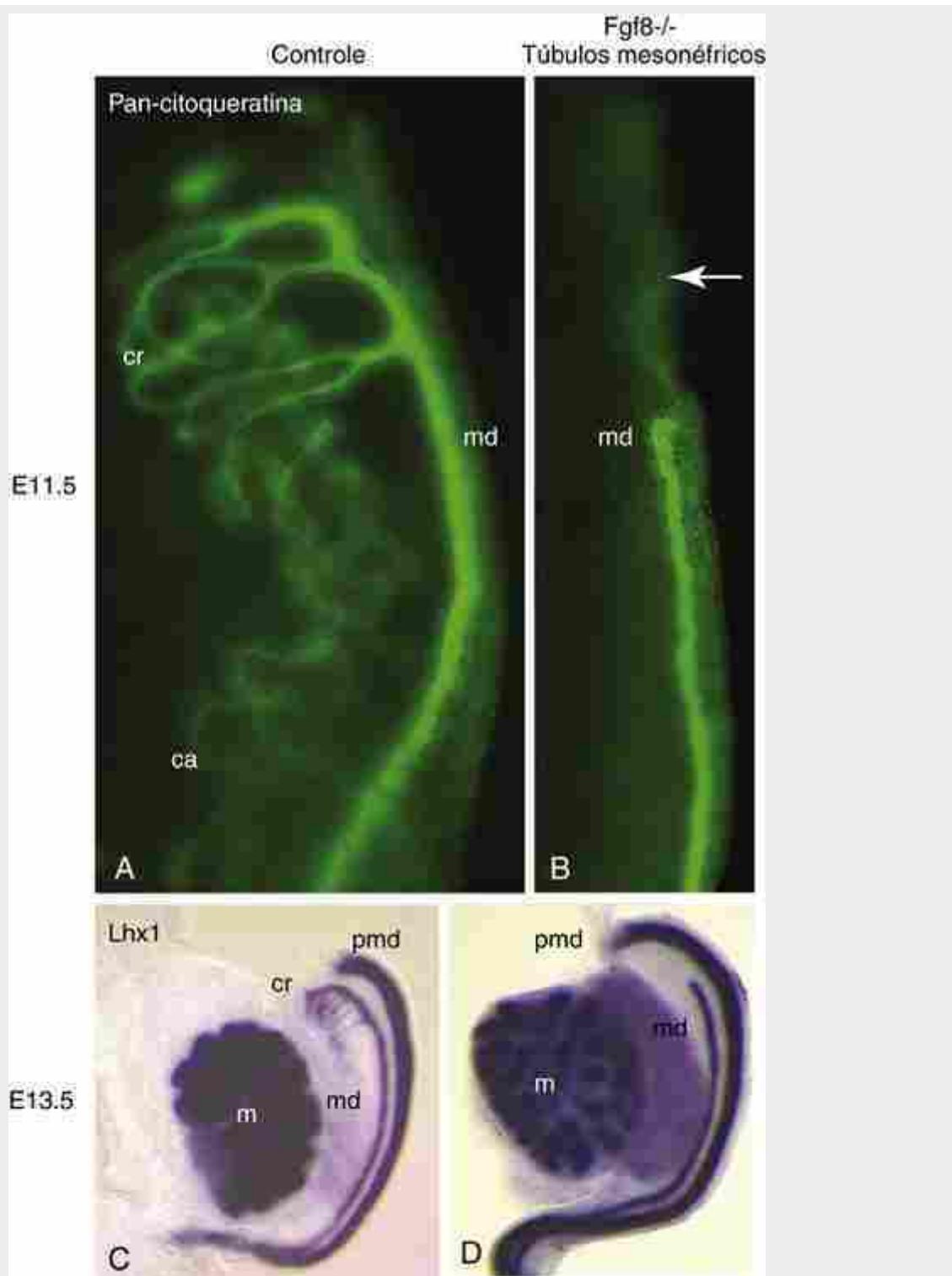


FIGURA 16-13 Papel da expressão de Fgf8 no desenvolvimento dos túbulos e ductos mesonéfricos. *A*, A expressão de Fgf8 nos túbulos mesonéfricos é necessária para a manutenção de túbulos e ductos mesonéfricos craniais (ambas estruturas que expressam tanto pan-citoqueratina quanto de Lhx1) no camundongo. *B, D*, Na sua ausência, a morte apoptótica maciça resulta em falha no desenvolvimento (seta) dos díctulos eferentes, epidídimo e ducto mesonéfrico cranial (md) em camundongos XY. ca, túbulos mesonéfricos caudais; cr, túbulos mesonéfricos craniais; m, rim metanéfrico; pmd, ducto paramesonéfrico.

A expressão craniocaudal de genes Hox também desempenha um importante papel na diferenciação de vários segmentos do ducto mesonéfrico. Em camundongos XY, Hoxa9 e Hoxd9 são expressos no epidídimo e no ducto deferente; Hoxa10 e Hoxd10 são expressos principalmente na porção caudal do epidídimo e ao longo do ducto deferente; Hoxa11 é expresso apenas no ducto deferente; e Hoxa13 e Hoxd13 são expressos na parte caudal do ducto deferente e na região da vesícula seminal em desenvolvimento (Fig. 16-12). Mutações ou alterações na expressão destes genes podem levar à transformação homeótica. Por exemplo, se a expressão de Hoxa11 é perdida,

o ducto deferente passa a ter uma citoarquitetura semelhante a do epidídimos; se Hoxa10 é perdido, o epidídimos distal e o ducto deferente proximal exibem citoarquitetura semelhante a do epidídimos.

Na Clínica

Regulador de condutância transmembranar da fibrose cística é necessário para o desenvolvimento dos canais deferentes

Distúrbios no desenvolvimento do ducto mesonéfrico são bastante comuns. Por exemplo, a incidência de **aplasia congênita bilateral do ducto deferente (CBAVD)** em humanos varia entre 1:1.000 e 1:10.000 e é responsável por 1% a 2% da infertilidade masculina e quase 10% da **azoospermia obstrutiva** (ausência de espermatozoide no sêmen devido a um bloqueio no ducto, ao contrário de ausência de produção de espermatozoides, que é chamada de azoospermia não obstrutiva). A CBAVD é caracterizada pela ausência do corpo e da cauda do epidídimos, canal deferente e vesícula seminal. Mutações em ambos os alelos do **regulador de condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR)**; o gene que, quando mutado, causa fibrose cística; [Cap. 11](#)) são encontradas em aproximadamente 80% dos casos de CBAVD. Este transportador de íons é necessário para o desenvolvimento do ducto deferente: uma proporção elevada de homens que sofrem de fibrose cística também exibe CBAVD e é infértil. A CBAVD isolada em alguns pacientes do sexo masculino que não apresentam o fenótipo fibrose cística pulmonar é causada por processamento anormal do RNAm de CFTR no ducto deferente, mas não nos pulmões.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento da glândula prostática

A próstata se desenvolve a partir da uretra pélvica. Quando os andrógenos gerados pelos testículos aumentam, eles induzem o crescimento de brotos endodérmicos sólidos, a partir do epitélio uretral, para dentro do mesênquima urogenital. Assim como o mesênquima em torno do ducto mesonéfrico, os receptores de andrógenos são expressos no mesênquima urogenital circundante, e parece que uma substância desconhecida é liberada pelo mesênquima, que sinaliza o desenvolvimento prostático epitelial. Não apenas os andrógenos são necessários para iniciar o desenvolvimento da próstata; eles mantêm o seu crescimento e desenvolvimento durante os períodos embrionário, fetal e neonatal. O desenvolvimento da próstata baseia-se intimamente na conversão da testosterona em 5 α -dihidrotestosterona pela enzima 5 α -redutase, já que esta se liga ao receptor de andrógenos de forma mais eficiente do que a testosterona. Camundongos que não possuem receptores de andrógenos não desenvolvem próstata e são feminizados externamente, embora seus testículos se desenvolvam.

A natureza do fator, ou fatores, liberado pelo mesênquima prostático estimulado por andrógenos, responsável pelo início da formação de brotos prostáticos, é desconhecida. Entretanto, estudos em embriões de ratos e camundongos mostraram que, uma vez iniciado, Shh liberado pelo epitélio uretral aumenta a expressão de Nkx3.1 no epitélio, e Hoxa13 e Hoxd13 no mesênquima adjacente são todos necessários para o desenvolvimento prostático normal ([Fig. 16-14](#)). A sinalização epitelial via Fgfr2 por Fgf7 e Fgf10 liberados por células mesenquimais medeia o crescimento contínuo e um alongamento do epitélio prostático. Esta sinalização mantém a expressão de Shh e é essencial para o desenvolvimento da glândula prostática, já que camundongos deficientes em Fgf10 ou com sinalização Fgfr2 bloqueada não conseguem desenvolver a próstata. Os efeitos positivos do Fgf sobre a expressão de Shh são regulados por um ciclo de *feedback* negativo, já que o Shh liberado a partir do epitélio regula negativamente a expressão de Fgf mesenquimal. A expressão de Sox9 durante o desenvolvimento da próstata é restrita ao início do desenvolvimento dos brotos epiteliais, e estudos sugerem que ele também tem um papel importante na regulação da diferenciação epitelial prostática a partir do epitélio do seio urogenital, enquanto o efeito inibidor do crescimento de Bmp4 e Bmp7 medeia a ramificação do epitélio ductal. A diferenciação subsequente do epitélio prostático ocorre numa progressão proximal para distal e é mediada pela expressão de vários fatores de transcrição, incluindo p63 (um gene supressor tumoral homólogo à p53) e Foxa1.

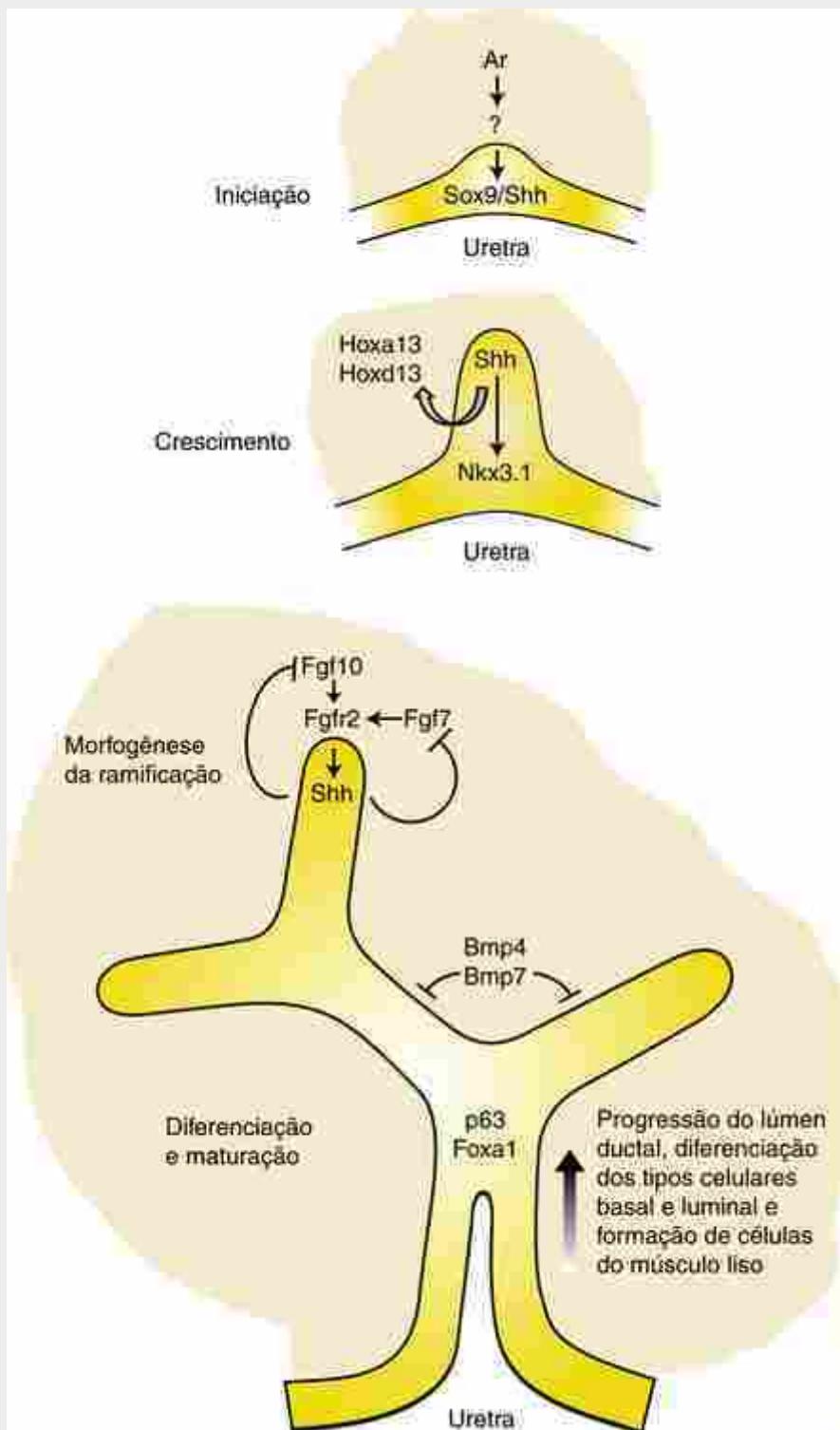


FIGURA 16-14 Desenvolvimento da próstata. Quando a 5α -di-hidrotestosterona se liga a receptores de andrógenos (Ar), o mesênquima prostático libera moléculas sinalizadoras não identificadas que induzem a um crescimento (evaginação) de brotos prostáticos endodérmicos para dentro do mesênquima urogenital. Em embriões de roedores, o broto da próstata libera Shh e Sox9. O Shh aumenta a expressão Nkx3.1 epitelial e Hoxa13 e Hoxd13 mesenquimal. Fgf7 medeia o crescimento contínuo e o alongamento do epitélio prostático. O Fgf10 liberado do mesênquima e a sinalização por Fgf no epitélio mantêm a expressão de Shh (sinalização de Fgf7 através de Fgfr2 é mostrada fora do epitélio devido a limitações de espaço no interior do epitélio da figura). No entanto, a expressão de Shh é regulada por um feedback negativo causado pela expressão mesenquimal de Fgf. Os efeitos inibitórios de Bmp4 e Bmp7 liberados pelo mesênquima medeiam a ramificação do epitélio ductal. A subsequente diferenciação do epitélio prostático ocorre em uma progressão proximal para distal e é mediada pela expressão de vários fatores de transcrição, incluindo p63 e Foxa1.

Na ausência do cromossoma Y, o desenvolvimento feminino acontece

A via básica de desenvolvimento gonadal resulta no desenvolvimento ovariano. A expressão do gene SRY desvia a via de desenvolvimento das gônadas para a via testicular, iniciando a diferenciação das células de Sertoli. Em embriões femininos, as **células somáticas de sustentação XX** não possuem o cromossoma Y ou o gene SRY, portanto, elas se diferenciam como **células foliculares**, em vez de células de Sertoli. As células de Sertoli são responsáveis pela produção de AMH (hormônio antimülleriano) e pela diferenciação de todos ou outros tipos celulares nos testículos. Na sua ausência, nem AMH nem testosterona são produzidos. Portanto, os ductos genitais masculinos e as estruturas sexuais acessórias não são estimulados a se desenvolver. Em vez disso, os ductos paramesonéfricos persistem e são estimulados a se diferenciar em tubas de Falópio, útero e vagina ([Fig. 16-15](#)).

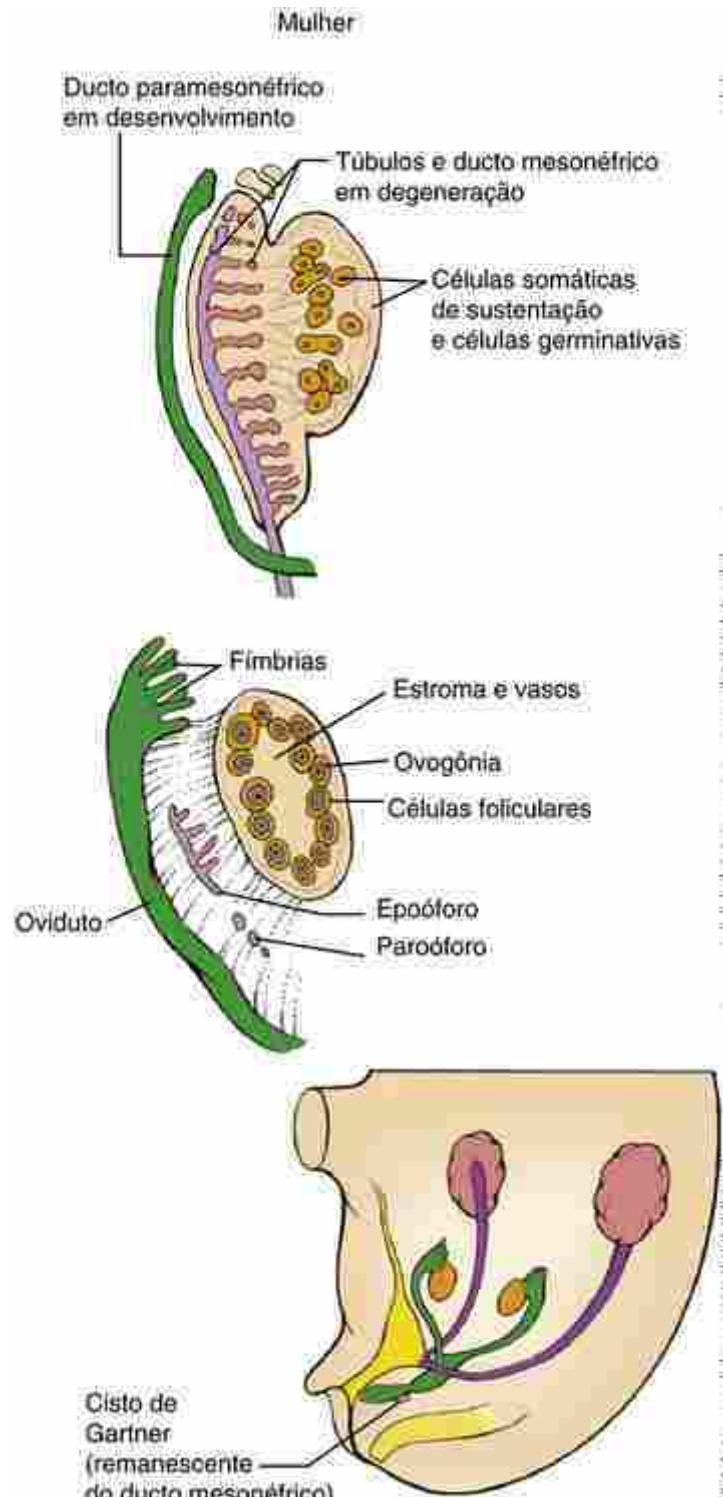


FIGURA 16-15 Desenvolvimento gonadal feminino humano em nível tissular. Na ausência de SRY, as células somáticas de sustentação se diferenciam em células folliculares. Estas células envolvem os ovócitos para formar folículos primordiais, que tendem a se localizar na região cortical exterior do ovário. Os ductos mesonéfricos e túbulos mesonéfricos desaparecem, com exceção de remanescentes como o epoóforon (epoóforo), o paroóforon (paroóforo) e os cistos de Gartner. Os ductos paramesonéfricos continuam a se desenvolver para formar os ovidutos, o útero e a vagina. Veja a [Figura 16-5](#) para uma comparação entre desenvolvimento gonadal feminino e masculino.

Formação dos folículos ovarianos primordiais

Em indivíduos geneticamente femininos, as células somáticas de sustentação que se delaminam do epitélio celômico não se diferenciam em células de Sertoli como o fazem em indivíduos geneticamente masculinos, mas circundam grupos de células germinativas primordiais. No homem, as células de Sertoli inibem a continuação do

desenvolvimento da célula germinativa antes que a meiose se inicie. Na mulher, as células germinativas continuam se diferenciando em ovogônias, se proliferam e entram na primeira divisão meiótica para formar ovócitos primários (Figs. 16-15 e 16-8B). Estes ovócitos meióticos estimulam as células somáticas de sustentação adjacentes a se diferenciar em células foliculares (ou células granulosas), que então circundam os ovócitos individualmente e formam **folículos primordiais** dentro do ovário. Estes folículos geralmente se localizam na região cortical do ovário. A região medular do ovário é responsável pelo desenvolvimento da vasculatura, nervos e tecido conjuntivo do órgão. Em seguida, as células foliculares suspendem o desenvolvimento subsequente dos ovócitos até a puberdade, época em que um grupo de ovócitos individuais retoma a gametogênese a cada mês (Cap. 1).

No Laboratório de Pesquisa

A gonadogênese feminina não é uma simples questão de padrão

Na ausência do gene SRY e, assim, de células pré-Sertoli, as células germinativas primordiais se diferenciam em ovogônias que se proliferam, se agrupam e são circundadas por células somáticas de sustentação. Sob a influência do ácido retinoico do mesênquima mesonéfrico, os ovócitos entram em meiose. Uma vez que as ovogônias entram em sua primeira divisão meiótica, tornam-se comprometidas com a linhagem de ovócitos. Estes ovócitos proporcionam um estímulo importante para a diferenciação das células foliculares a partir de células somáticas de sustentação geradas pela delaminação do epitélio celômico (Figs. 16-7 e 16-8B). As células somáticas de sustentação cercam os ovócitos individuais, quebrando os aglomerados de células germinativas para formar folículos primordiais. O recrutamento e a diferenciação destas células foliculares são dependentes e conduzidos por um fator liberado pelo ovócito chamado Fig α (fator in germline alpha). Fig α ativa o programa de **foliculogênese** no ovário. Sem Fig α , os folículos primordiais nunca se formam e os ovócitos regredem logo após o nascimento. Fig α também estimula a formação da **zona pelúcida** no folículo primordial.

Muitas vezes, o desenvolvimento da gônada feminina é descrito como a via “padrão” para o embrião humano na ausência do gene SRY. No entanto, esta é uma simplificação excessiva. Na verdade, várias vias “pró-ovarianas” e “antitestículo” e genes associados foram identificados. Como descrito no Capítulo 15, o Wnt4 é essencial para o desenvolvimento dos rins mesonéfricos e metanéfricos, mas estudos em camundongos *knockout* mostram que ele é crucial também para o desenvolvimento sexual feminino normal. O Wnt4 é inicialmente expresso no mesênquima mesonéfrico e da crista genital, sendo necessário para a formação inicial do ducto paramesonéfrico em ambos os sexos. Estudos mostram que camundongos XX nulos para Wnt4 têm menos de 10% do número normal de ovócitos encontrados nos seus tipos selvagens e heterozigóticos da mesma ninhada. A perda de ovócitos não é o resultado da falha da migração das células germinativas primordiais para a crista gonadal. Ao contrário, na ausência de Wnt4, a população de células intersticiais da gônada, incluindo as células foliculares, está comprometida, levando à subsequente degeneração dos ovócitos.

Enquanto as gônadas se desenvolvem em camundongos, Wnt4 é regulado negativamente nos testículos pela expressão de Fgf9 pelas células pré-Sertoli, mas permanece no ovário por um efeito sinérgico de Wnt4 e Rspo1 (*roof plate specific spondin-1*) que ativa a sinalização por β-catenina nas células somáticas de sustentação (Fig. 16-7). Rspo1 codifica para uma molécula secretada que ativa a sinalização de β-catenina por meio do complexo receptor frizzled/Lrp. A duplicação de Wnt4 ou dos loci de Rspo1 em camundongos ou a estabilização de β-catenina em células somáticas de sustentação (Fig. 16-16) tem atividade “pró-ovariana” capaz de reversão do sexo masculino XY para o feminino. Além disso, humanos com mutações em WNT4 ou RSPO1 apresentam reversão do sexo feminino para o masculino.

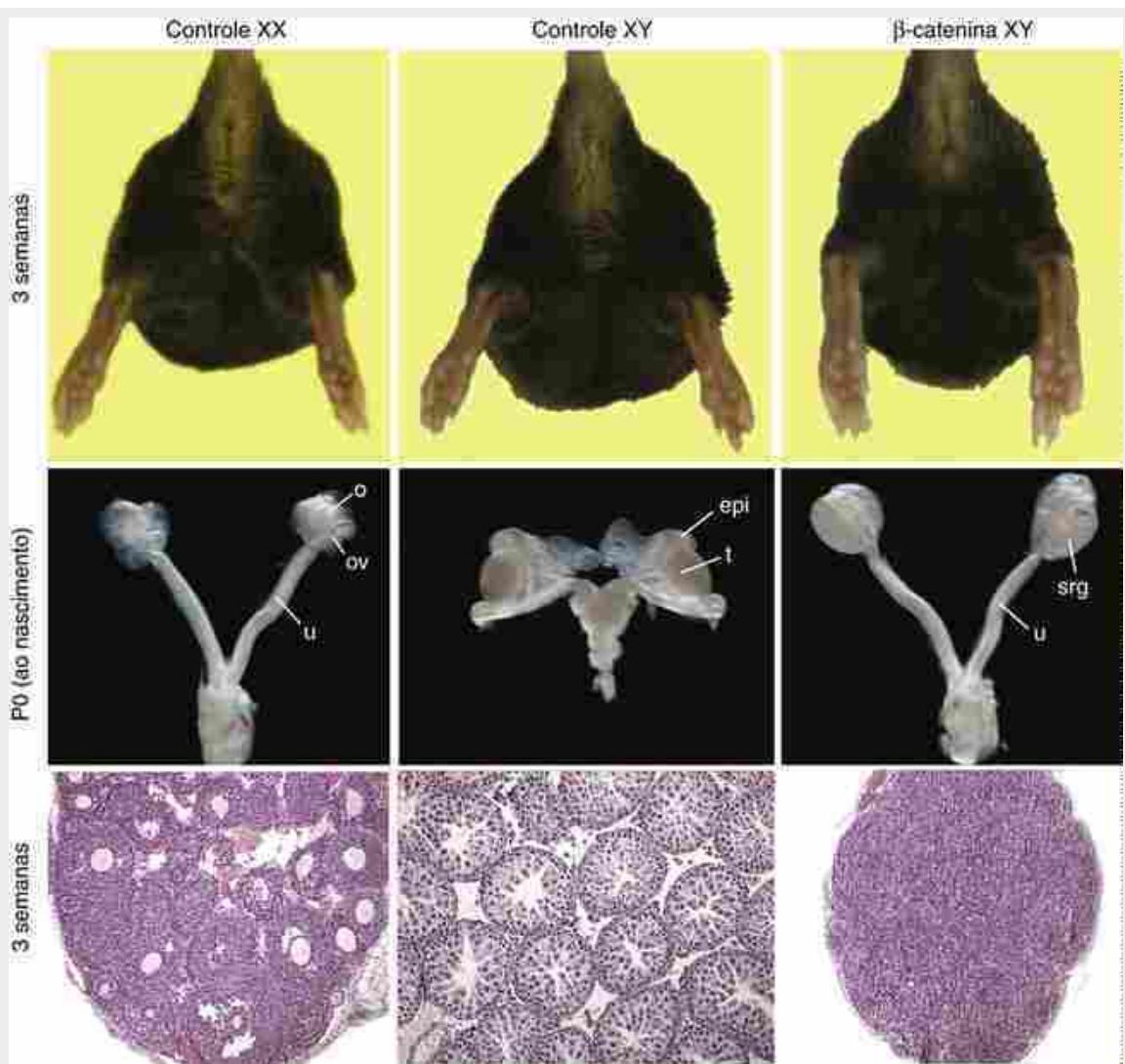


FIGURA 16-16 A estabilização de β -catenina nas células somáticas de sustentação em camundongos machos causa a reversão sexual das gônadas, dos ductos e da genitália externa em camundongos. Ao nascimento (P0) e nas 3 semanas pós-natais, gônadas, ductos e genitália externa normais estão presentes tanto em camundongos controle XX quanto XY. No entanto, em camundongos XY que expressam uma forma estabilizada de β -catenina em células somáticas de sustentação, fomam-se gônadas com características do sexo oposto e órgãos masculinos estão ausentes, enquanto útero e genitália externa feminina estão presentes. Epi, epidídimo; o, ovário; ov, oviduto; srg, gônada sexual revertida; t, testículos; u, útero.

Além de atividades “pró-ovarianas”, Wnt4 e Rspo1 exibem atividades “antitestículo”. Camundongos XX sem Wnt4 ou Rspo1 têm expressão de Fgf9 e Sox9 aumentada e desenvolvem células ectópicas semelhantes às de Leydig e genitália parcialmente masculinizada. Nos camundongos selvagens XY, Fgf9 suprime a expressão de Wnt4, promovendo, assim, a diferenciação das células de Sertoli em machos (Figs. 16-7 e 16-8). No entanto, em camundongos XY nulos para Fgf9, mesmo com níveis normais de Sry, o Wnt4 promove o desenvolvimento do ovário. Isto sugere que o destino da diferenciação gonadal depende do antagonismo entre Fgf9 e a sinalização Wnt4/Rspo1, com a expressão do gene Sry pendendo a favor de Fgf9 e, consequentemente, o desenvolvimento de uma gônada masculina.

Outro gene associado à atividade “pró-ovariana/antitestículo” é Foxl2. O Foxl2 é membro dos fatores de transcrição *forkhead/hélice-alça* que é expresso em células foliculares durante os estágios iniciais do desenvolvimento gonadal. Foxl2 é essencial para a diferenciação de células foliculares, e sua perda masculiniza a gônada, já que células de Sertoli e cordões testiculares começam a aparecer em camundongos XX. Foxl2 reprime a expressão de Sox9 e inibe a diferenciação das células de Sertoli e de Leydig. Quando Foxl2 é condicionalmente excluído nos ovários de camundongos adultos, células foliculares e da teca se transdiferenciam em células testiculares de Sertoli e de Leydig (Fig. 16-17). Desse modo, parece que a manutenção do fenótipo das gônadas femininas durante a vida adulta exige uma supressão constante da expressão de Sox9 pelo Foxl2.

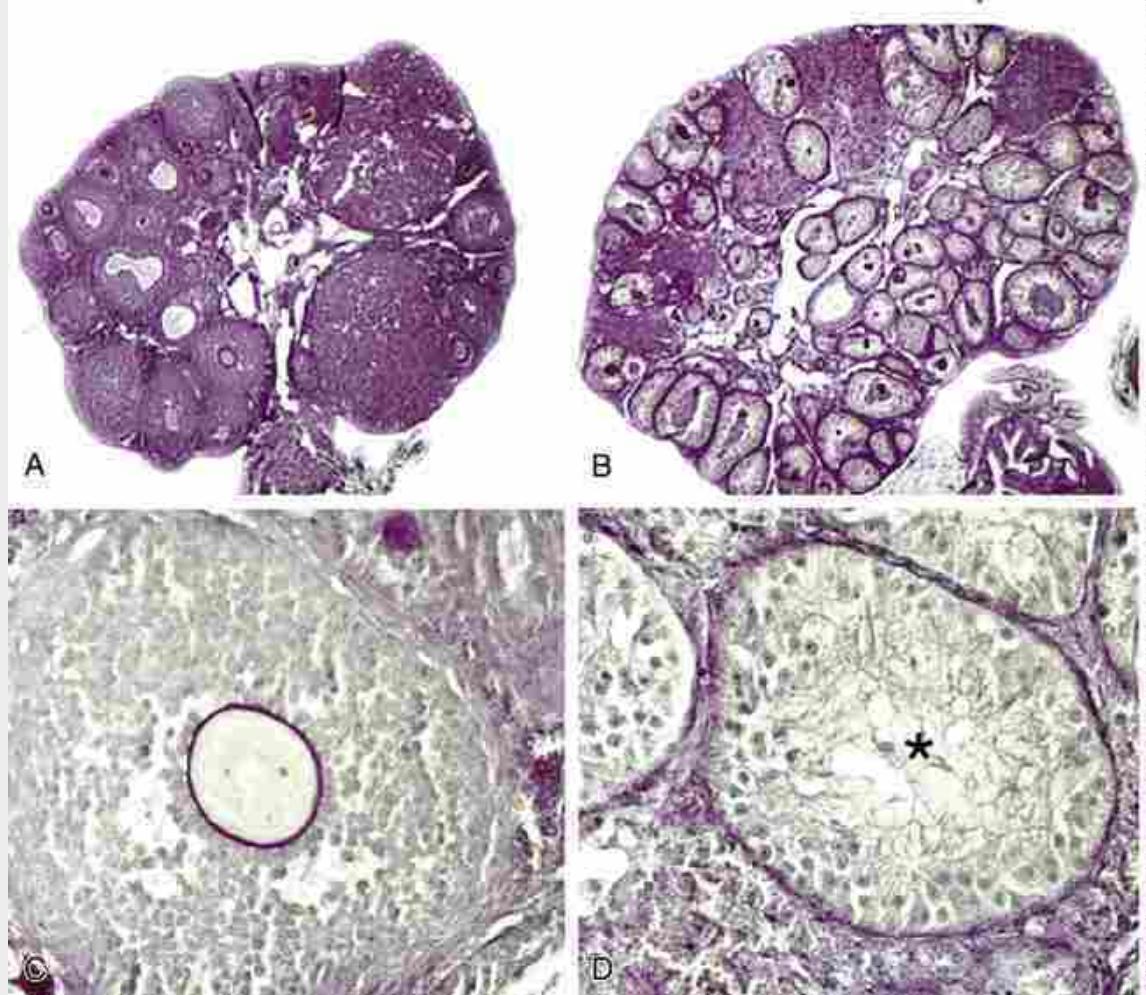


FIGURA 16-17 A ablação de Foxl2 em camundongos adultos XX aumenta a expressão de Sox9 no ovário, causando a transdiferenciação do ovário em testículos em até 3 semanas. É necessário manter a expressão de Foxl2 para a contínua atividade “antitestículo” nas gônadas femininas adultas. A, C, Ovário e folículo ovariano em uma gônada de camundongo controle adulto XX. B, D, Transdiferenciação de ovário em testículo na gônada de camundongo XX com ablação de Foxl2. Túculo seminífero (asterisco).

Dax1 (*Dosage-sensitive sex reversal, Adrenal hypoplasia congenita critical region of the X chromosome, gene 1*- reversão sexual sensível à dosagem, região crítica de hipoplasia suprarrenal congênita do cromossoma X, gene 1) é descrito como um fator promotor ovariano, pois pode atuar como um fator “antitestículo”. O gene DAX1 humano é encontrado no cromossoma X. Quando a porção que contém DAX1 do cromossoma X é duplicada em indivíduos XY, DAX1 leva à reversão sexual. Neste caso, DAX1 pode antagonizar SRY, porque, se tanto a expressão de Dax1 quanto a de Sry são direcionadas a partir do promotor Sry em camundongos XX, 100% das crias se desenvolvem como fêmeas, enquanto em camundongos XX transgênicos que expressam o gene Sry com o complemento genético normal de Dax1, os camundongos XX se desenvolvem como machos. Essas observações sugerem que Dax1 atua como um gene “antitestículo”, em vez de como um gene determinante de ovário (Fig. 16-7).

Em camundongos XX o *knockout* de Dax1 tem pouco efeito no desenvolvimento ovariano, mas em camundongos XY leva à disgenesia testicular. Um exame mais detalhado do fenótipo em camundongos XY *knockout* para Dax1 mostra que esses camundongos apresentam desenvolvimento anormal do cordão testicular, apesar de terem níveis normais de Sry e de terem células de Sertoli e germinativas. No entanto, esses camundongos parecem ter níveis mais baixos de Sox9, menos células mioepiteliais peritubulares e, além disso, exibem desenvolvimento comprometido de células de Leydig. Isso mostra que a expressão de Dax1 também é um fator “pró-testículo” (Fig. 16-7). A maneira pela qual Dax1 funciona tanto como fator “pró-testículo” quanto como “antitestículos” não está clara, mas especula-se que níveis específicos de Dax1 são necessários dentro de uma estreita janela de tempo para que ocorra a gonadogênese normal (Fig. 16-18). Caso os níveis de Dax1 estejam mais elevados do que o normal (p. ex., por meio da duplicação do gene) ou mais baixos que o normal (p. ex., como resultado de uma mutação de inativação) durante este período crítico, um ovário ou um testículo anormal se desenvolveriam. Muito mais precisa ser aprendido sobre a regulação de Dax1, seus genes-alvo e os seus efeitos dependentes de dosagem.

para se entender sua função exata na determinação do sexo e na etiologia da reversão sexual.

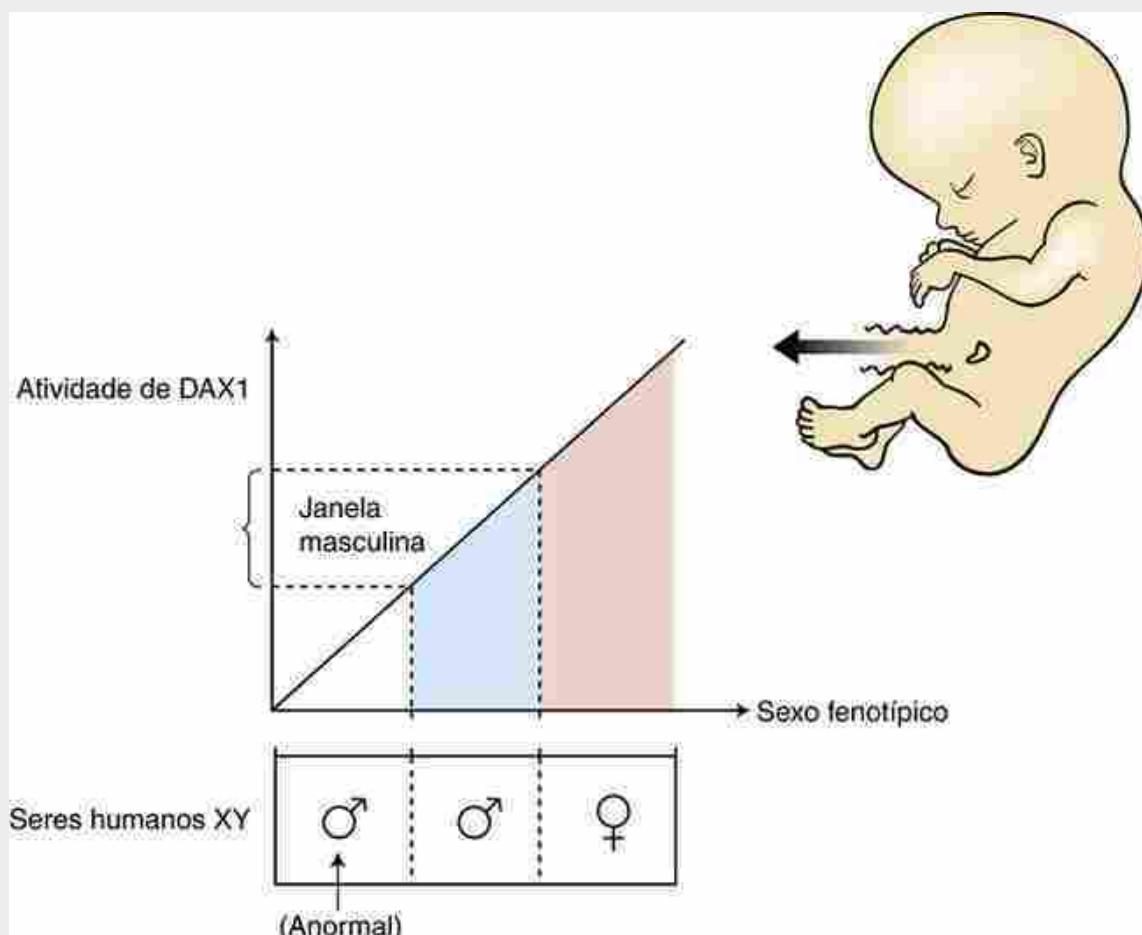


FIGURA 16-18 Janela de atividade DAX1 durante a determinação gonadal. DAX1 apresenta atividade tanto antitesticulo quanto pró-testículo, mas seu funcionamento ainda não está claro. Níveis específicos de DAX1 podem ser necessários dentro de uma estreita janela de tempo para que ocorra a gonadogênese normal. Por exemplo, em um indivíduo XY, os testículos seriam formados se a dosagem/atividade de DAX1 estivesse dentro de uma “janela”. Se os níveis de DAX1 fossem superiores (p. ex., por meio da duplicação de genes) ou inferiores ao normal (p. ex., devido a uma mutação de inativação) durante este período crítico, um testículo ou ovário anormal se desenvolveria. A janela masculina é mostrada em azul e a janela feminina, em rosa. Abreviações: ♂ representa um fenótipo masculino; ♀ representa um fenótipo feminino.

Os esteroides e receptores de esteroides também desempenham um importante papel na gonadogênese feminina. Ovários em camundongos nos quais faltam ambos os receptores de estrogênio, Er α e Er β , expressam marcadores de células de Sertoli e desenvolvem o que se assemelha a túbulos seminíferos e células de Sertoli dentro de suas gônadas durante o desenvolvimento pós-natal. Camundongos XX sem o gene que codifica para a aromatase (uma enzima importante na conversão de andrógenos em estrógenos) também começam expressar Sox9 e marcadores para as células de Sertoli e Leydig. O tratamento pós-natal inicial com 17 β -estradiol em camundongos com deficiência de aromatase reduz o número de células de Sertoli e de Leydig nestes ovários e aumenta a foliculogênese dos folículos existentes (estes camundongos ainda expressam receptores de estrogênio). Camundongos machos sem receptores de estrogênio também apresentam defeitos no desenvolvimento testicular. Os testículos têm tamanho reduzido, com alguns túbulos seminíferos intactos e há uma redução no número de células germinativas. Ainda não está claro se estes efeitos representam uma inversão de fases posteriores da formação gonadal (uma regressão) ou se são o resultado de anormalidades no desenvolvimento das gônadas. No entanto, o que está claro é que o ambiente estrogênico desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das gônadas.

Transtornos ovotesticulares do desenvolvimento sexual

Os **transtornos ovotesticular do desenvolvimento sexual** (TDS), previamente referido como hermafroditismo verdadeiro (*i.e.*, indivíduos com cromossomas sexuais, genitália e/ou características sexuais secundárias que são uma mistura de ambos os sexos, masculino e feminino), podem ocorrer como cromossomas masculinos (46, XY), cromossomas femininos (46, XX) ou mosaicos (p. ex., 45, X/46,XY; 46,XX/47,XXY; ou 46,XX/46,XY). Os casos de mosaico de TDS ovotesticular são os mais fáceis de explicar: nestes indivíduos, o tecido ovariano se desenvolve a partir de células sem um cromossoma Y, enquanto o tecido testicular se desenvolve a partir de células com um cromossoma Y. Evidências sugerem que os indivíduos com TDS que têm cariotípico 46,XX também podem ser mosaicos. Aparentemente, o cromossoma X em algumas células desses indivíduos carrega um fragmento do braço curto do cromossoma Y, incluindo o gene SRY. Este fragmento foi provavelmente adquirido pelo crossing-over anormal no início da clivagem. Assim, a inativação aleatória do cromossoma X nas células explicaria o mosaicismo.

Os TDSs ovotesticulares 46,XY são mais difíceis de explicar, já que apenas 15% de seus portadores têm mutações no gene SRY. A causa disso podem ser mutações em outros genes essenciais na via testicular (p. ex., defeitos na ação de andrógenos) ou desregulação de genes como WNT4 ou RSPO1.

As gônadas de indivíduos com TDS ovotesticular são geralmente lineares, ovotesticular compostos contendo tanto canais seminíferos como folículos. No entanto, em cerca de 20% dos casos, um indivíduo tem um ovário ou ovotesticular de um lado e um testículo do outro. A tuba de Falópio e um corno uterino único podem se desenvolver no lado com o ovário. Alguns indivíduos com TDS ovotesticular ovularam e conceberam, embora não se tenha conhecimento de que tenha havido algum feto a termo. Um ducto deferente sempre se desenvolve em conjunto com um testículo. O testículo é normalmente imaturo, mas por vezes se detecta espermatozogênese. A maioria dos indivíduos TDS ovotesticular são criados como homens porque um falo normalmente está presente ao nascimento.

Ductos paramesonéfricos dão origem às tubas de falópio, ao útero e à vagina, enquanto os ductos mesonéfricos se degeneram

Na ausência de Sry e expressão subsequente de genes masculinos, as gônadas femininas formam folículos primordiais e **células tecais** (homólogas às células de Leydig nas mulheres). As células tecais do estroma, as quais apresentam atividade esteroidogênica, expressam apenas baixos níveis dos genes necessários para a síntese de testosterona. Como os ductos mesonéfricos e túbulos mesonéfricos necessitam de testosterona para o seu desenvolvimento, eles rapidamente desaparecem na mulher, exceto por alguns vestígios. Dois remanescentes, o **epoóforo** e **paraoóforo**, são encontrados no mesentério do ovário e uma dispersão de minúsculos fragmentos denominados cistos de Gartner se aglomeram próximo à vagina (Fig. 16-19C; ver também Fig. 16-15). Os ductos paramesonéfricos, ao contrário, se desenvolvem sem inibição.

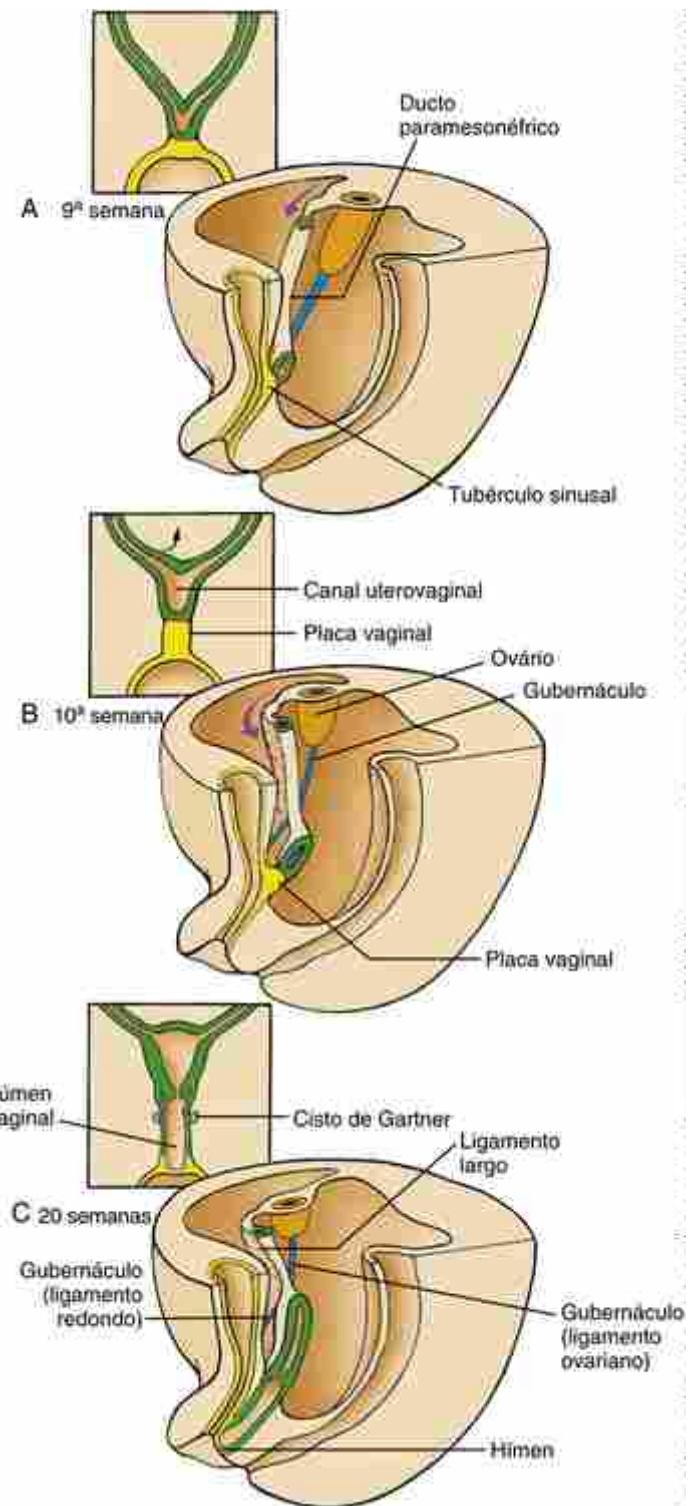


FIGURA 16-19 Formação do útero e da vagina. A, O útero e vagina começam a se formar quando os ductos parmesonéfricos se fundem próximo ao seu ponto de fixação à parede posterior do seio urogenital. B, C, Em seguida, entre o 3º e o 5º mês, os ductos se unem em sentido cranial. Quando os ductos parmesonéfricos são atraídos para fora da parede do corpo posterior, eles arrastam uma dobra da membrana peritoneal consigo, formando os ligamentos largos do útero. A-C, Toda a vagina pode se formar a partir do ducto parmesonéfrico (ver texto).

É importante lembrar que as extremidades caudais dos ductos parmesonéfricos em crescimento aderem uma à outra logo antes de entrar em contato com a parede posterior da porção uretral do seio urogenital. Neste ponto, a parede do segmento uretral forma um ligeiro espessamento chamado **tubérculo sinusal** (Fig. 16-19A). Assim que as extremidades fundidas dos ductos parmesonéfricos se ligam ao tubérculo sinusal, os ductos parmesonéfricos começar a fundir as suas extremidades, do sentido caudal para o cranial, formando um tubo curto com um único lúmen (Fig. 16-19B, C). Este tubo, denominado **canal uterovaginal** ou **canal genital**, se torna o útero e contribui para

formar a vagina (esta última afirmação é controversa e é abordada no próximo parágrafo). As porções craniais, não fundidas, dos ductos paramesonéfricos se tornam as tubas de Falópio (ou ovidutos ou tubas uterinas), e as aberturas craniais em forma de funil dos tubos paramesonéfricos se convertem nos infundíbulos das tubas de Falópio.

A formação da vagina é pouco compreendida, e diferentes hipóteses foram propostas. Uma proposta existente há muito tempo é a de que o tecido endodermal do tubérculo sinusal se espessa, formando um par de evaginações tumefactas denominadas bulbos sinovaginais, que se fundem para formar um bloco sólido de tecido chamado **placa vaginal** (Fig. 16-19). Então acredita-se que a placa vaginal dá a origem à porção inferior da vagina, ao passo que a região caudal do canal uterovaginal forma a vagina superior. Subsequentemente, a placa vaginal é canalizado por meio de um processo de **descamação** (perda de células), formando desse modo o lúmen vaginal.

Alternativamente, foi sugerido que a vagina resulta do crescimento descendente dos ductos mesonéfricos e paramesonéfricos, e que a placa vaginal é, na verdade, derivada dos segmentos persistentes mais caudais do ducto mesonéfrico. No entanto, evidências crescentes mostram a expressão de marcadores moleculares específicos para populações específicas de células em camundongos, e o detalhado exame morfológico de embriões humanos sugere que toda a vagina adulta surge exclusivamente da extremidade distal-caudal dos ductos paramesonéfricos fundidos. Assim, em qualquer dos cenários alternativos, a membrana mucosa que reveste a vagina seria derivada do mesoderma, e não do epitélio endodérmico do seio urogenital.

Independentemente das origens da vagina, a extremidade inferior da vagina em desenvolvimento se alonga entre o 3º e o 4º mês, e a sua ligação com o seio urogenital se desloca caudalmente até que para na parede posterior do seio urogenital e se abre separadamente da uretra dentro do vestíbulo (Fig. 16-19C). Uma membrana (derivada do endoderma ou do mesoderma) separa temporariamente o lúmen da vagina do seio urogenital (o último forma o **vestíbulo da vagina**). Esta barreira se degenera parcialmente após o 5º mês, mas o seu remanescente persiste como o **hímen vaginal**.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento do ducto paramesonéfrico e expressão regionalizada dos genes hox

Nas mulheres, o ducto mesonéfrico regredie devido à falta de andrógenos masculinos. Em contraste, o ducto paramesonéfrico se prolifera e se diferencia em uma progressão cranial-caudal, formando a tuba de Falópio, o útero e a vagina. Durante este tempo, o epitélio de camada única do ducto paramesonéfrico se diferencia em morfologias distintas que vão do epitélio colunar ciliado na tuba de Falópio ao epitélio estratificado pavimentoso na vagina. Isso não deve ser surpreendente, dado que os ductos paramesonéfrico e mesonéfrico compartilham muito do mesmo mesênquima e que a expressão de genes Hox desempenha um papel fundamental na mediação da caracterização regional de estruturas encontradas ao longo do eixo craniocaudal do aparelho reprodutor feminino. Similarmente ao já descrito antes neste capítulo para o ducto mesonéfrico, deficiências de Hox podem levar a transformações homeóticas dentro dos ductos paramesonéfricos. Por exemplo, em camundongos, a deficiência de Hoxa10 transforma a parte cranial do útero em estruturas semelhantes a tubas de Falópio e reduz a fertilidade.

A expressão de Wnt7a também é importante para a expressão adequada de Hox e para a padronização do eixo radial dos ductos paramesonéfricos. Camundongos fêmeas deficientes em Wnt7a mostram dramática transformação caudal do trato reprodutor, em que estão ausentes as tubas de Falópio e o útero apresenta a citoarquitetura da vagina. A expressão mesenquimal normal de Hoxa10 e Hoxa11 nessas regiões é perdida nesses camundongos, sugerindo que Wnt7a é necessário para manter a expressão de Hox normal nesta região. Além disso, camundongos deficientes em Wnt7a exibem padrão miometrial anormal e não apresentam glândulas uterinas.

Na Clínica

Anomalias do útero

Tem sido difícil avaliar a incidência de anomalias do ducto paramesonéfrico, mas acredita-se que seja de cerca de 1% entre as mulheres férteis normais e de aproximadamente 3% em mulheres com abortos repetidos. A maioria das mulheres com anomalias do ducto paramesonéfrico pode conceber, mas elas têm maiores taxas de aborto espontâneo, parto prematuro e **distocia** (parto difícil ou anormal).

Muitas anomalias relacionadas com o desenvolvimento do útero e da vagina são atribuíveis à fusão anormal ou à regressão da porção caudal do ducto paramesonéfrico (Fig. 16-20). Por volta da 9ª semana de desenvolvimento, os

ductos paramesonéfricos se fundem na sua margem inferior (caudal), formando um canal uterovaginal de lúmen único. A fusão incompleta dos segmentos inferiores dos ductos paramesonéfricos leva ao desenvolvimento de um útero duplicado com ou sem uma vagina duplicada. A falha de regressão do septo uterino (uma estrutura transitória resultante da fusão do ducto paramesonéfrico) pode conduzir ao desenvolvimento de um útero bícorneo (dois corpos uterinos com uma única porção cervical), um útero septado (representando cerca de 55% das anomalias do ducto paramesonéfrico) ou atresia do colo uterino. O útero unicornio (aproximadamente 20% das anomalias do ducto paramesonéfrico) acontece quando um dos ductos paramesonéfricos inteiro regredire ou quando há uma no alongamento de um deles durante o desenvolvimento. Nos casos de ausência congênita da vagina (incidência de 1 em 4.000 a 5.000 nascimentos do sexo feminino), todo o útero também pode estar ausente, já que as interações interteciduais responsáveis por induzir a vagina e pela diferenciação uterina podem estar ausentes.

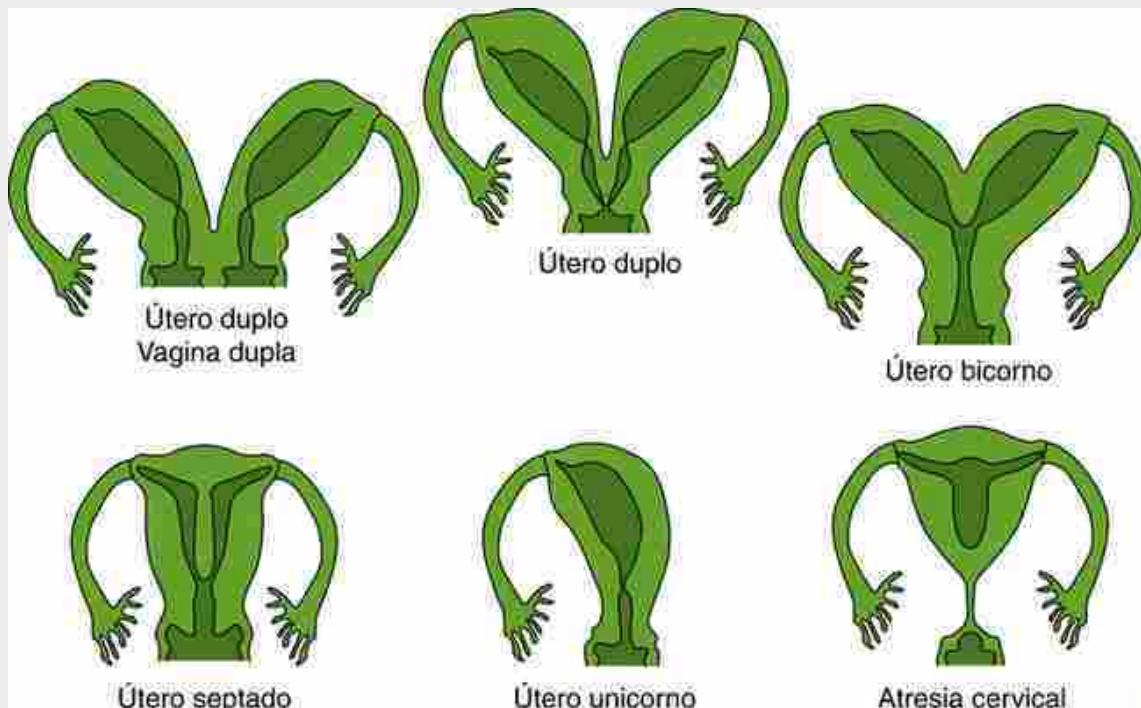


FIGURA 16-20 Anomalias do útero e da vagina. Muitas anomalias relacionadas com o desenvolvimento do útero e da vagina são atribuíveis à fusão anormal ou à regressão da porção caudal do ducto paramesonéfrico.

O dietilestilbestrol provoca várias anomalias na reprodução

O **dietilestilbestrol (DES)** foi o primeiro composto estrogênico sintético administrado oralmente a mulheres grávidas para evitar o aborto (anos 1947-1971). Ficou evidente que as mulheres jovens nascidas de mães tratadas com DES apresentaram significativamente maiores riscos de desenvolver **adenocarcinoma de células claras da vagina**, um câncer raro geralmente encontrado em mulheres com 50 anos ou mais. Além disso, a exposição *in utero* ao DES aumentou o risco de anomalias do trato reprodutor, incluindo anomalias uterinas e **adenose vaginal** (transformação do epitélio estratificado pavimentoso em um tipo colunar – um passo possível inicial do desenvolvimento de adenocarcinoma), enquanto homens expostos ao DES *in utero* exibiram anomalias como criptorquidia, hipospádia (condição em que a uretra peniana se abre na superfície ventral do pênis) e hipoplasia testicular.

O DES se liga ao receptor de estrogênio, Er α , com muito maior afinidade do que o seu ligante endógeno, 17 β -estradiol, e parece ter meia-vida muito mais longa. Portanto, é um estrógeno forte. Em camundongos, o DES tem efeitos teratogênicos semelhantes ao descrito em seres humanos no desenvolvimento reprodutor feminino. Esses defeitos se assemelham aos observados em mutantes Hox e Wnt7a. Em camundongos, o tratamento com DES reprime a expressão de Hoxa10, Hoxa11 e Wnt7a durante o período crítico de desenvolvimento uterino e vaginal. Além disso, o DES altera o padrão de expressão do gene supressor tumoral p63 no epitélio desses órgãos reprodutores, mostrando uma ligação para o aumento de adenocarcinomas observado em mulheres a ele expostas.

Desenvolvimento da genitália externa

O início do desenvolvimento da genitália externa é semelhante em homens e mulheres. Como descrito no Capítulo 14, o septo uroretal separa o seio urogenital do canal anorretal. Enquanto isso, o mesoderma anterior e cranial ao **segmento fálico** do seio urogenital se expande, gerando o **tubérculo genital**, que eventualmente forma o **falo** (Fig. 16-21A). Com a ruptura da membrana cloacal, a maior parte do assoalho do segmento fálico do seio urogenital é perdida, ao passo que o teto do segmento fálico se expande ao longo da superfície inferior do tubérculo genital à medida que o tubérculo genital aumenta (Fig. 16-22A; ver também Fig. 16-21). Esta extensão endodérmica forma a **placa urogenital** (ou **placa uretral**). Em sua extremidade distal, remanescentes da membrana cloacal adjacentes ao tubérculo genital permanecem como a **placa da glande**.

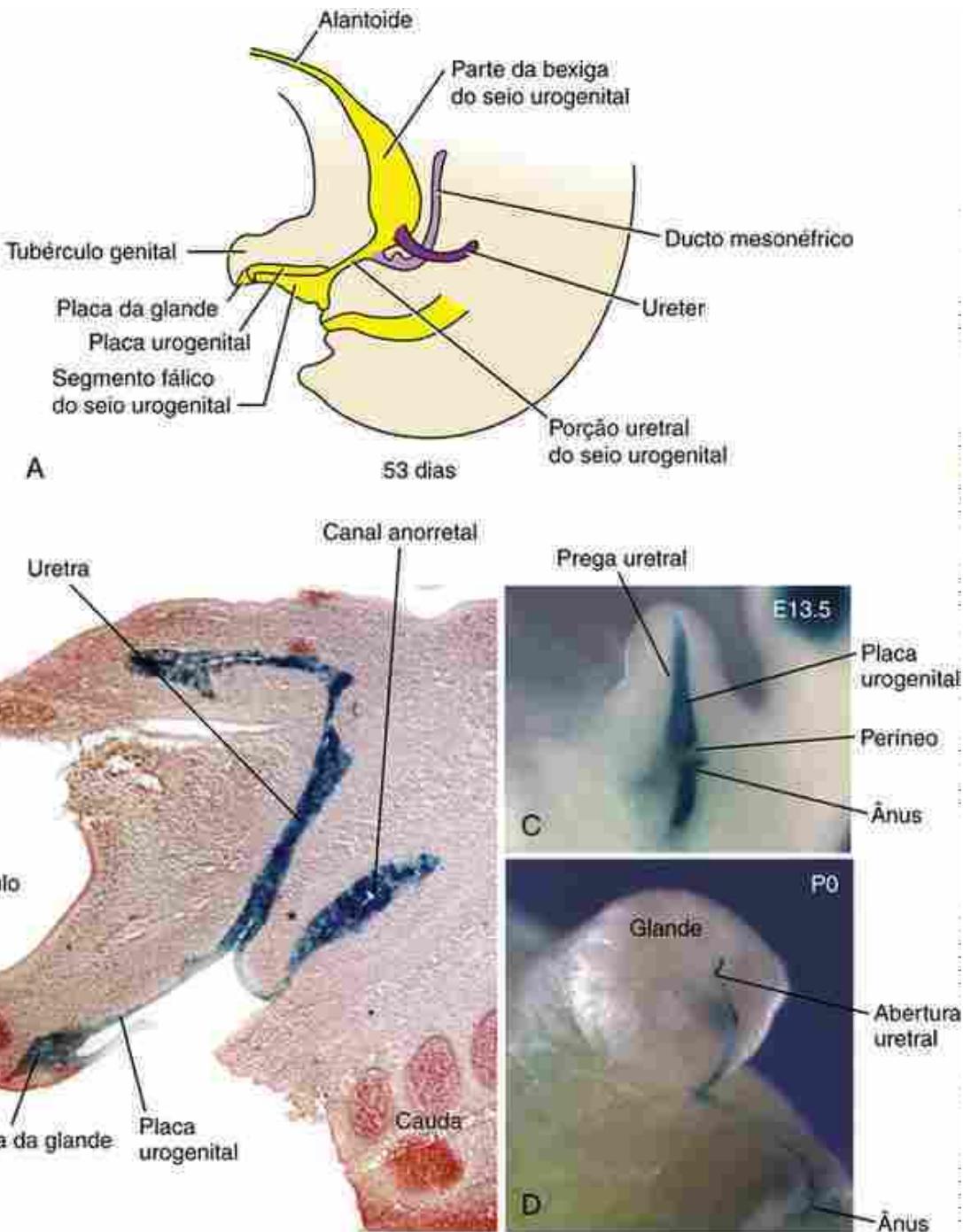
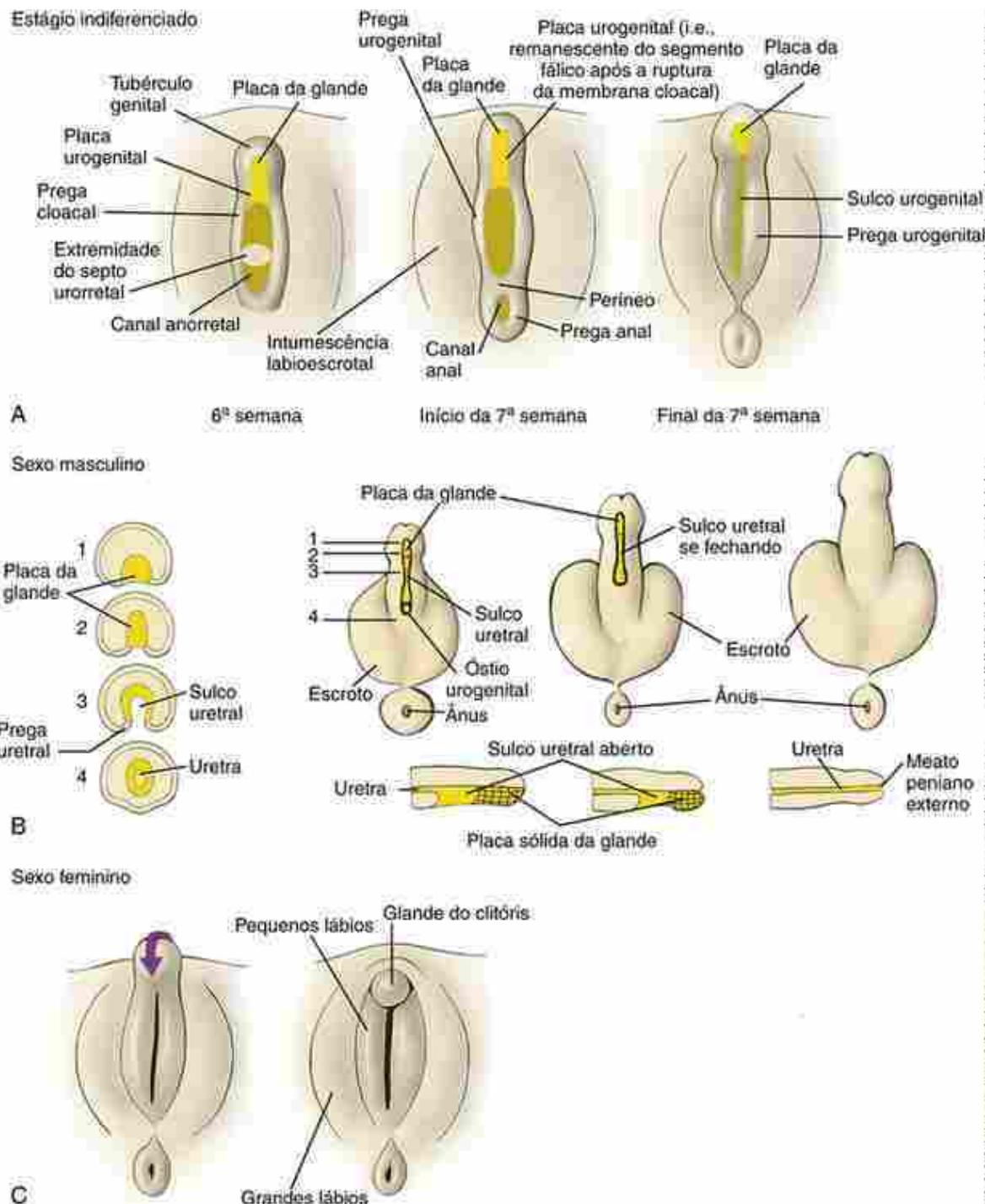


FIGURA 16-21 Formação do tubérculo genital, da placa urogenital e da uretra peniana. **A.** O seio urogenital é subdividido em bexiga, região uretral e segmento fálico. Com a ruptura da membrana cloacal, o teto do segmento fálico forma uma placa urogenital de células endodérmicas que se alonga enquanto o tubérculo genital cresce com uma sólida placa da glande em sua extremidade distal. **B-D.** Expressão de β -galactosidase dirigida por Shh (Lac-Z; azul) mostrando a origem endodérmica da uretra peniana e da placa da glande no camundongo. A placa da glande é subsequentemente canalizada para formar a uretra da glande (**D**). **B.** Fotomicrografia de um corte sagital através da região caudal de um embrião de camundongo logo após a ruptura inicial da membrana cloacal. Observe que toda a uretra é revestida por epitélio derivado do endoderma (azul). **C, D.** Vistas externas da região genital nos dois estágios de desenvolvimento. Asterisco, septo urorretal.

No início da 5^a semana, um par de intumescências denominadas **pregas urogenitais** (ou **pregas cloacais**) desenvolve-se em ambos os lados da placa urogenital por meio de uma expansão do mesoderma subjacente ao ectoderma (Fig. 16-22A; veja também Fig. 16-21C, D). Distalmente, essas pregas se encontram e se juntam ao tubérculo genital. Do mesmo modo, há uma expansão do mesoderma subjacente que flanqueia a membrana anal, formando as **pregas anais**. Em seguida, um novo par de intumescências, as **intumescências labioescrotais**, aparece em ambos os lados das pregas uretrais (Fig. 16-22A).



A aparência dos órgãos genitais externos é semelhante em embriões masculinos e femininos até a 12^a semana, sendo difícil distinguir o sexo dos embriões desta idade com base apenas na sua morfologia externa. Veja a Tabela 16-1 para os derivados adultos das estruturas genitais externas embrionárias.

Em homens, o sulco uretral se torna a uretra peniana e as intumescências labioscrotais formam o escroto

Durante a 6^a semana, forma-se um **sulco uretral** ao longo da superfície ventral da placa urogenital enquanto acontece o alongamento do tubérculo genital ([Figs. 16-21 e 16-22A, B](#)). Inicialmente, o sulco uretral e as pregas uretrais se estendem apenas até uma parte do caminho ao longo do eixo do falo em alongamento. Distalmente, o sulco uretral e a placa urogenital terminam na placa sólida da glande ([Fig. 16-22B](#)). Como o falo continua a se alongar, as pregas uretrais crescem uma em direção à outra e se fundem na linha média, começando proximalmente na região perineal e estendendo-se distalmente para a glande do pênis. Isso converte o sulco uretral em uma **uretra peniana** tubular. Ainda não se sabe exatamente como a uretra humana se forma no interior da glande do pênis, mas o exame de embriões humanos sugere que a placa sólida da glande se canaliza e se junta à uretra peniana em desenvolvimento para formar a **uretra da glande** e o **meato peniano externo** ([Fig. 16-22B](#)). Estudos experimentais recentes em camundongos também apoiam essa hipótese. Acredita-se que a **hipospádia** (discutida mais adiante neste capítulo) seja o resultado da falha na formação ou na fusão das pregas uretrais (hipospádia peniana) ou na canalização anormal da placa da glande (hipospádia da glande).

Iniciando-se no 4º mês, os efeitos da di-hidrotestosterona na genitália externa masculina se tornam prontamente perceptíveis. A região perineal que separa o seio urogenital do ânus começa a se expandir. As intumescências labioscrotais se fundem na linha média para formar o **escroto** e as pregas uretrais se fundem para fechar a **uretra peniana**. A uretra peniana é totalmente fechada até a 14^a semana.

Nas mulheres, o tubérculo genital não se alonga e as intumescências labioscrotais e as pregas uretrais não se fundem

Na ausência de di-hidrotestosterona em embriões femininos, o tubérculo genital não se alonga e as intumescências labioscrotais e pregas uretrais não se fundem ao longo da linha média ([Fig. 16-22C](#)). O falo se curva inferiormente, formando o **clítoris**, e a porção fálica do seio urogenital torna-se o **vestíbulo da vagina**. As pregas uretrais convertem-se nos **pequenos lábios** e as intumescências labioscrotais se tornam os **grandes lábios**.

No Laboratório de Pesquisa

Formação da genitália externa

O papel da extremidade distal do epitélio da placa urogenital na promoção do crescimento do tubérculo genital é, em alguns aspectos, semelhante ao crescimento da crista epidérmica apical do broto do membro (descrito no [Cap. 20](#)). Em camundongos, se a placa urogenital distal for removida, o tubérculo genital será hipoplásico. Shh é expresso no endoderma da membrana cloacal e na placa urogenital em desenvolvimento. Em camundongos sem Shh, o desenvolvimento tubérculo genital é suspenso na fase inicial de crescimento, já que o crescimento genital contínuo é dependente da proliferação de células mesenquimais mediadas por Shh. A perda da sinalização de Shh em camundongos prolonga a fase G1 do ciclo celular nas células mesenquimais do tubérculo genital, resultando em uma redução de quase 75% do crescimento genital. Bmp4, Bmp7 e Wnt5a são expressos no tubérculo genital, sendo sua expressão necessária para o crescimento genital.

Enquanto a perda de expressão de Shh no epitélio cloacal não impede a expressão inicial de Bmp4, Bmp7 ou Wnt5a no tubérculo genital, Shh é necessário para manter a expressão contínua desses fatores durante o alongamento da placa urogenital e o crescimento genital. *Knockouts* condicionais do receptor Bmp4, Bmpr1a, ou a superexpressão do antagonista de Bmp, *noggin* resultam em hipospádia. Mutações humanas no gene NOGGIN estão associadas à feminilização da genitália externa em indivíduos XY.

Shh proveniente da placa urogenital também regula positivamente a expressão de Hoxa13 e Hoxd13 no mesênquima do tubérculo genital. A expressão desses dois genes Hox é necessária para o desenvolvimento da cloaca inicial e do tubérculo genital, já que estas estruturas não conseguem se desenvolver em camundongos *knockout* duplos para esses dois genes (provavelmente refletindo a sua importância no desenvolvimento do intestino posterior). Hoxa13 também regula a expressão de Bmp7 na placa urogenital e no mesênquima, importante para o alongamento da placa urogenital e o fechamento da uretra. Déficits na expressão de HOXA13 em humanos são observados em uma doença autossômica dominante que causa a **síndrome mão-pé-genital**, que é caracterizada por malformação dos membros distais e hipospádia.

A hipospádia é um defeito comum, sugerindo que o fechamento das pregas uretrais é muito sensível a perturbações. Shh está envolvido não somente nas fases iniciais do desenvolvimento do tubérculo genital, mas também na formação da uretra peniana. Camundongos sem Fgf10 apresentam grave disgenesia da glande e defeitos uretrais, ao passo que o desenvolvimento inicial do tubérculo genital parece normal ([Fig. 16-23](#)). Fgf10 é expresso no mesênquima da prega uretral adjacente à placa urogenital que expressa Shh, e anticorpos dirigidos contra Shh podem alterar a expressão de Fgf10 no mesênquima do tubérculo genital. Isso sugere que Shh tem um

importante papel não apenas no início do desenvolvimento do tubérculo genital, mas também na regulação da expressão de Fgf10 durante a expansão da placa urogenital e a manutenção da integridade epitelial durante o fechamento uretral posterior no sexo masculino. Em camundongos, a sinalização de Shh no ectoderma da linha média ventral fálica também é necessária para manter o assoalho da uretra peniana em formação; caso contrário, ocorre hipospádia. As efrinas (*ephrins*) e seus receptores também têm sido implicados como desempenhando um papel neste processo, já que camundongos deficientes na sinalização ephrinB2 e EphB2/EphB3 exibem defeitos no fechamento uretral.

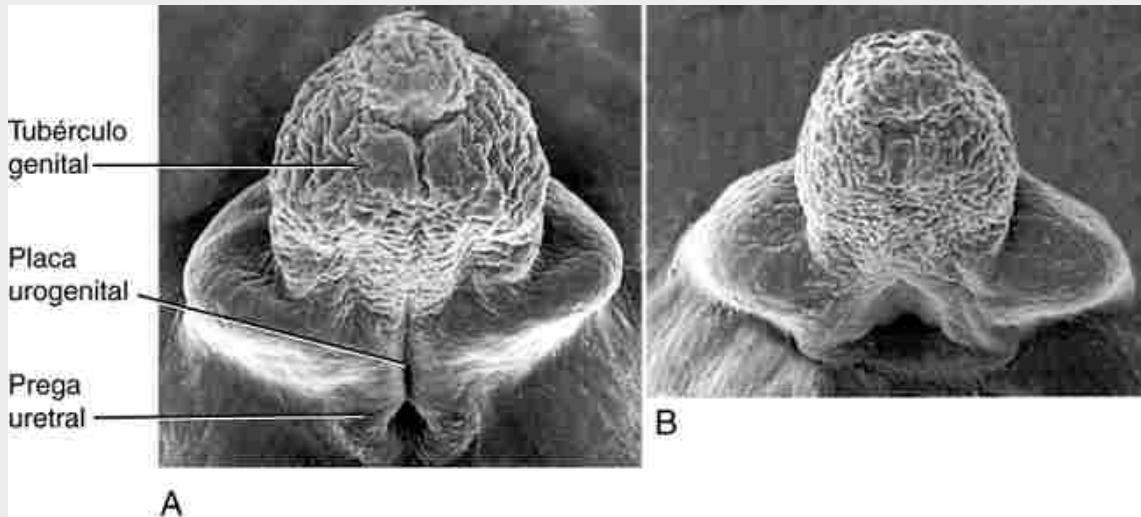


FIGURA 16-23 Microscopia eletrônica de varredura da genitália externa e desenvolvimento uretral no camundongo. O Shh vindo da placa urogenital também sinaliza para o mesênquima bilateral adjacente expressar Fgf10. A expressão de Fgf10 deve ser mantida por Shh para pregas uretrais se fundirem adequadamente. A, Tipo selvagem. B, A mutação genética de Fgf10 conduz a graves defeitos na formação da uretra.

Embora a 5 α -redutase e os receptores de andrógenos sejam expressos em mulheres, elas não desenvolvem genitália externa masculina devido aos seus baixos níveis de testosterona. Embora os passos iniciais da formação do tubérculo genital e da placa urogenital ocorram em mulheres, a falta de di-hidrotestosterona significa que o tubérculo genital e a placa urogenital não se alongam ou crescem nem as pregas uretrais se fundem. Infelizmente, pouco se sabe a respeito da embriologia molecular dos estágios mais tardios do desenvolvimento da genitália externa feminina responsáveis pela formação do clitóris, dos lábios e do vestíbulo.

A suspensão do complexo mesonéfrico-gonadal no abdome

À medida que o complexo mesonéfrico-gonadal torna-se mais separado do mesoderma intermediário adjacente, ele permanece ancorado por dois ligamentos, o **ligamento suspensor cranial** e o **gubernáculo** (ou **ligamento genitoinguinal caudal**). O ligamento suspensor cranial corre da porção cranial do complexo mesonéfrico-gonadal para o diafragma (Fig. 16-24). O gubernáculo foi primeiramente descrito por John Hunter em 1762, que a ele atribuiu o nome *gubernaculum* (do latim *leme* ou *timão*), já que “ele conecta o testículo ao escroto e direciona seu curso na sua descida”. O gubernáculo é unido à porção de caudal do complexo mesonéfrico-gonadal masculino e feminino e se estende para o assoalho peritoneal, onde se liga à fáscia entre os músculos abdominais oblíquos, externos e internos em desenvolvimento, na região das intumescências labioescrotais.

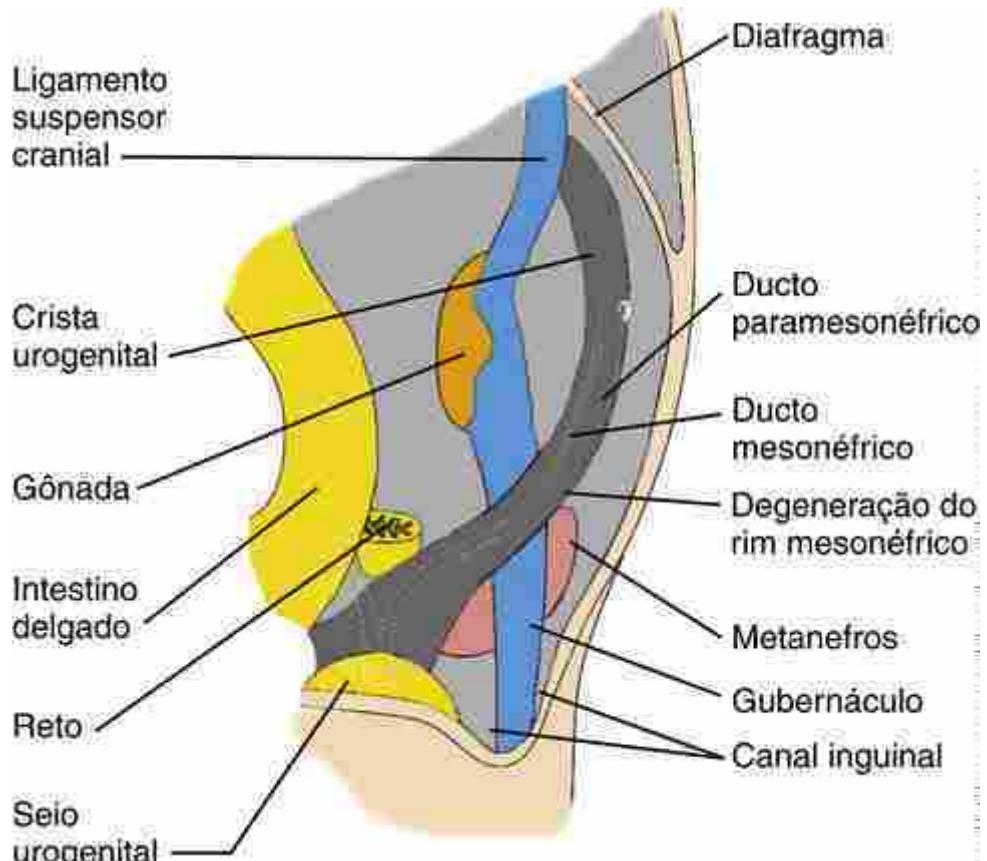
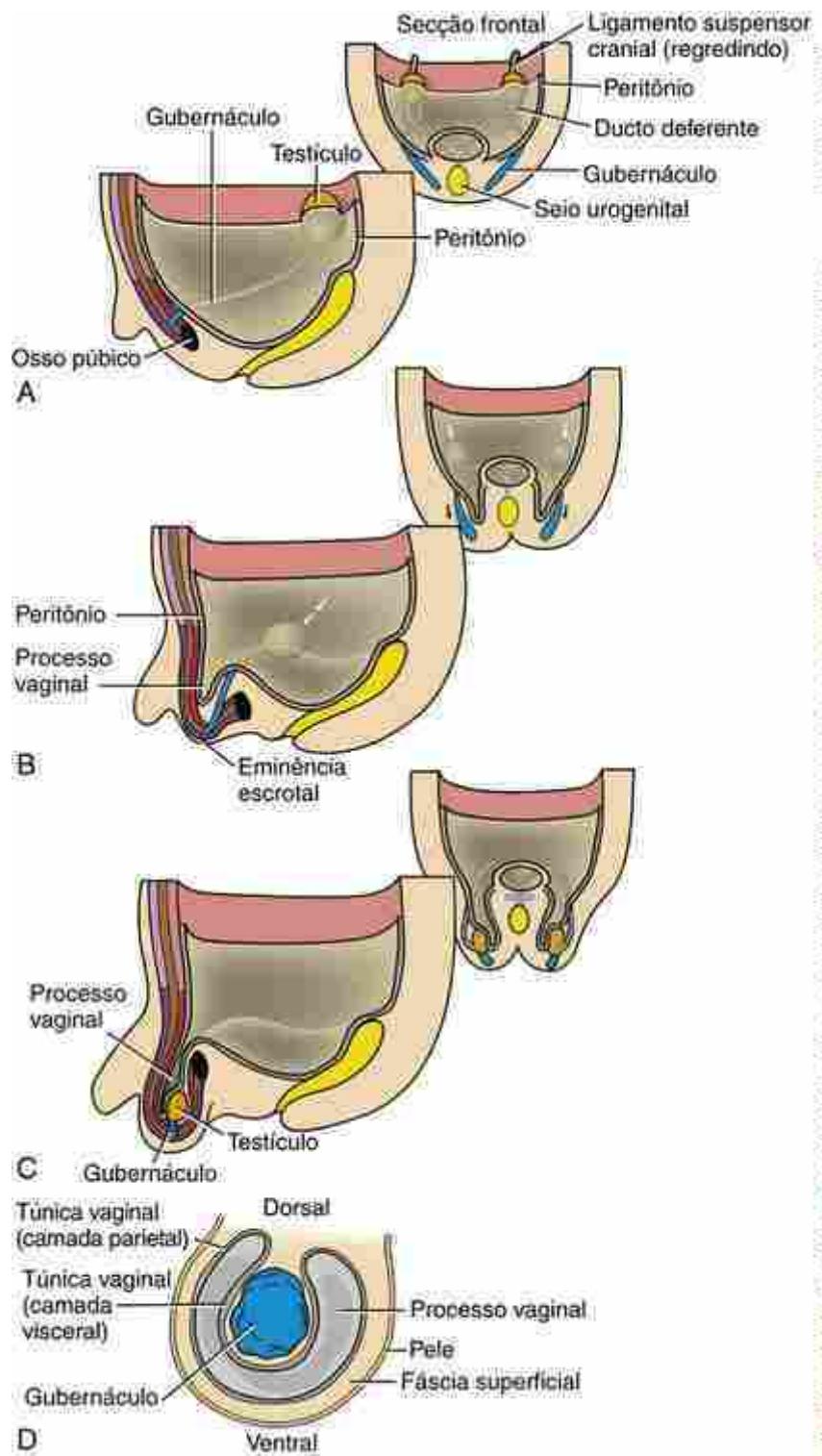


FIGURA 16-24 No estágio indiferenciado da gônada, dois ligamentos, um ligamento suspensor cranial e o gubernáculo, sustentam o complexo mesonéfrico-gonadal. O ligamento suspensor cranial corre da porção cranial do complexo mesonéfrico-gonadal para o diafragma. O gubernáculo é preso à porção caudal da gônada e se estende para o assoalho peritoneal, onde se fixa à fáscia entre os músculos abdominais oblíquos interno e externo em desenvolvimento, na região das intumescências labioescrotais.

Desenvolvimento dos canais inguinais

Uma leve evaginação do peritônio, denominada **processo vaginal** ou *processus vaginalis*, desenvolve-se nos três lados de cada gubernáculo, formando uma cavidade de fundo cego quase circular. O **canal inguinal** é um evaginação caudal da parede abdominal que se forma quando o processo vaginal cresce para baixo, empurrando uma evaginação semelhante a uma meia que consiste em várias camadas da parede abdominal (Figs. 16-25 e 16-27).



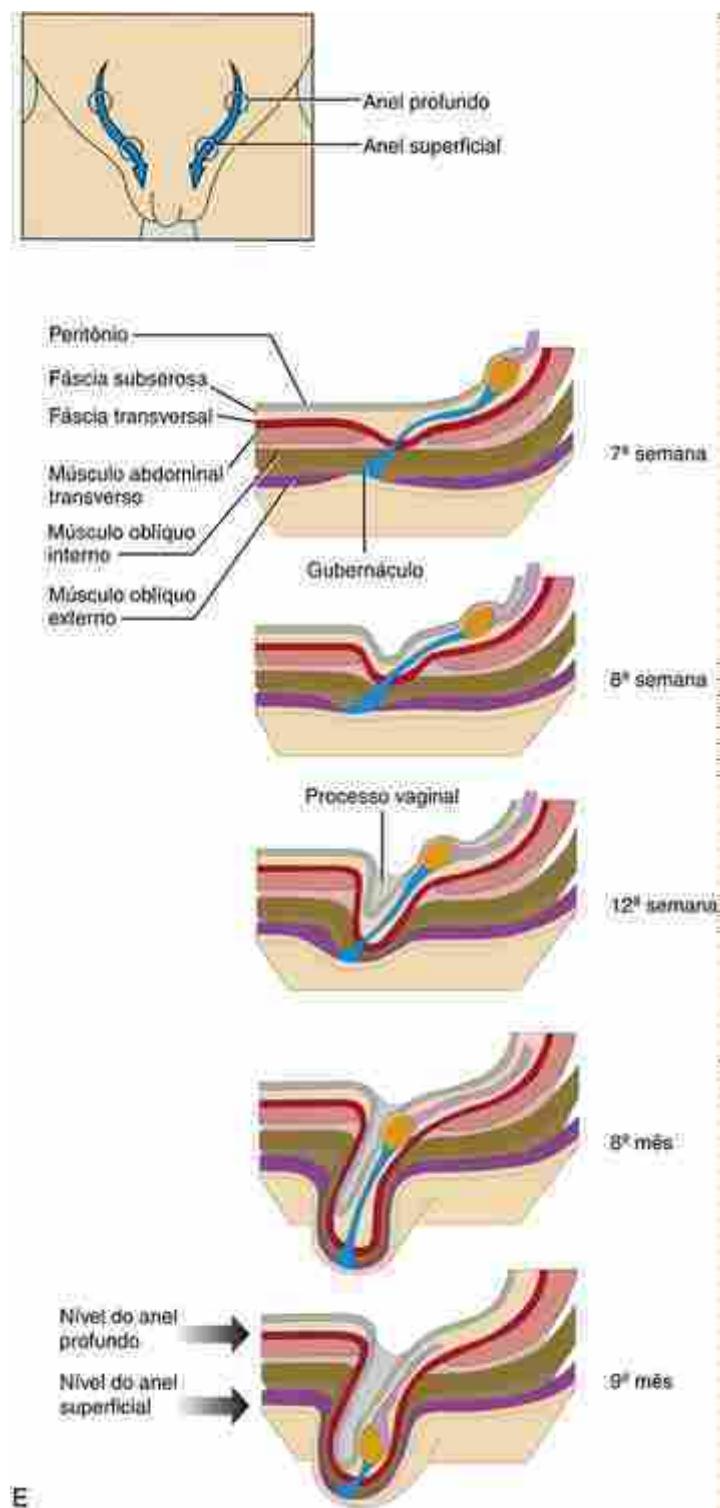


FIGURA 16-25 Descida dos testículos. A-C, Entre a 7^a semana e o nascimento, o encurtamento dos gubernáculos faz com que os testículos desçam do décimo nível torácico para dentro do escroto. Os testículos passam pelo canal inguinal, na parede abdominal anterior. D, Secção transversal do gubernáculo mostrando as camadas da túnica vaginal e o processo vaginal no nível da intumescência labioescrotal. E, Após a 8^a semana, uma evaginação peritoneal denominada processo vaginal forma-se ventralmente aos gubernáculos e empurra extensões da fáscia transversal em forma de meia, o músculo oblíquo interno e o músculo oblíquo externo, formando assim os canais inguinais. Os canais inguinais se estendem da base da fáscia transversal evertida (anel profundo) à base do músculo oblíquo externo evertido (anel superficial). Após o processo vaginal ter se evaginado para dentro do escroto, os gubernáculos se encurtam e puxam as gônadas através dos canais. As gônadas sempre permanecem no interior do plano da fáscia subserosa mesmo projetando-se para a cavidade abdominal e depois para o processo vaginal.

A primeira camada encontrada pelo processo vaginal é a fáscia transversal, situada um pouco mais profundamente do que o músculo abdominal transverso. Esta camada se tornará a fáscia espermática interna do cordão espermático. O

processo vaginal não encontra o músculo abdominal transverso em si, porque este músculo tem um grande hiato nesta região. Em seguida, o processo vaginal recebe as fibras e a fáscia do músculo oblíquo interno. Estes se tornam a fáscia cremastérica do cordão espermático. Finalmente, o processo vaginal recebe uma fina camada do músculo oblíquo externo, a qual se tornará na fáscia espermática externa. À medida que o processo vaginal se alonga, ele cava os canais inguinais e as intumescências labioescrotais, formando uma cavidade pela qual os testículos descem no homem. O anel superior do canal é denominado **anel profundo do canal inguinal** ([Fig. 16-25E](#)). A margem inferior-medial do canal, formada pelo ponto de eversão do músculo oblíquo externo, é denominada **anel superficial do canal inguinal**. No sexo feminino, o processo vaginal permanece rudimentar e normalmente se degenera durante o desenvolvimento.

Descida dos testículos

Durante a vida embrionária e fetal, tanto os testículos quanto os ovários descem da sua posição original no nível do décimo segmento torácico, embora os testículos desçam muito mais que os ovários. Em ambos os sexos, a descida das gônadas depende de um ligamento, o gubernáculo. O gubernáculo se condensa durante a 7^a semana, na fáscia subserosa da prega peritoneal longitudinal, dos dois lados da coluna vertebral. Entre a 7^a e a 12^a semana (a fase intra-abdominal), as porções extrainguinais dos gubernáculos se encurtam e, no sexo masculino, puxam os testículos para baixo, para a proximidade do anel inguinal profundo, na altura da fáscia subserosa, enquanto o ligamento suspensor cranial regrediu ([Fig. 16-25](#)). Os gubernáculos se encurtam, principalmente, pela expansão em sua base, o que colabora com a finalidade secundária de alargar o canal inguinal.

Os testículos permanecem próximos ao anel inguinal profundo do 3^º ao 7^º mês e, então, penetram no canal inguinal em resposta ao novo encurtamento e à nova migração dos gubernáculos (a fase inguinoescrotal). Os testículos permanecem no interior da fáscia subserosa do **processo vaginal**, através do qual eles descem em direção ao escroto ([Fig. 16-25](#)). O aumento da pressão abdominal criado pelo crescimento das vísceras abdominais auxilia o movimento dos testículos através do canal. Por volta do 9^º mês, imediatamente antes do parto a termo, os testículos já entraram completamente na bolsa escrotal e o gubernáculo é reduzido a uma pequena faixa de ligamento, fixando o polo caudal do testículo ao assoalho escrotal. A **criptorquidia** (testículos não descidos) é uma condição comum e um fator de risco para o desenvolvimento de malignidade no interior da gônada (abordado a seguir no quadro “Na Clínica” intitulado “Criptorquia”).

No primeiro ano após o nascimento, a porção cranial do processo vaginal é normalmente fechada, deixando apenas um saco distal remanescente, a **túnica vaginal** ou *tunica vaginalis*, que se encontra ventral/anterior ao testículo ([Figs. 16-26A](#) e [16-27](#)). Durante a infância, este saco envolve a maior parte do testículo. Seu lúmen é normalmente colapsado (fechado), entretanto, sob condições patológicas, pode ser preenchido por secreções serosas, formando a **hidrocele testicular** ([Fig. 16-26B,D](#)).

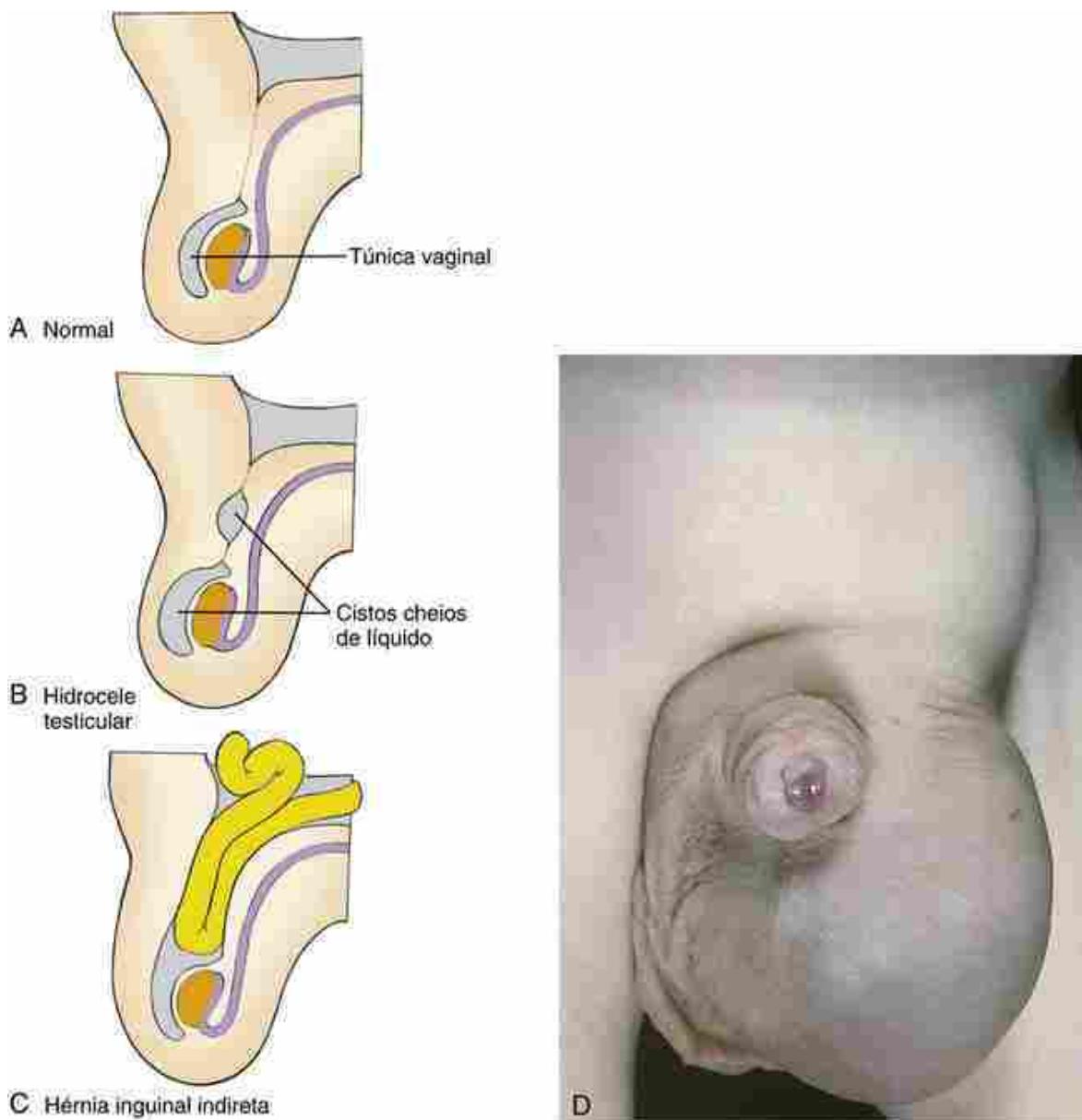


FIGURA 16-26 Desenvolvimento normal e anormal do processo vaginal. *A*, A extremidade proximal do processo vaginal normalmente se desintegra durante o primeiro ano após o nascimento, deixando um remanescente distal denominado túnica vaginal. *B*, Alguns remanescentes proximais podem permanecer, e eles e a túnica vaginal podem se encher de líquido seroso, formando hidroceles testiculares em condições patológicas ou subsequentes a lesões. *C*, Se a extremidade proximal do processo vaginal não se desintegrar, o conteúdo abdominal poderá se herniar através do canal inguinal para o escroto. Esta condição é denominada hérnia inguinal congênita. *D*, Criança com hidrocele testicular.

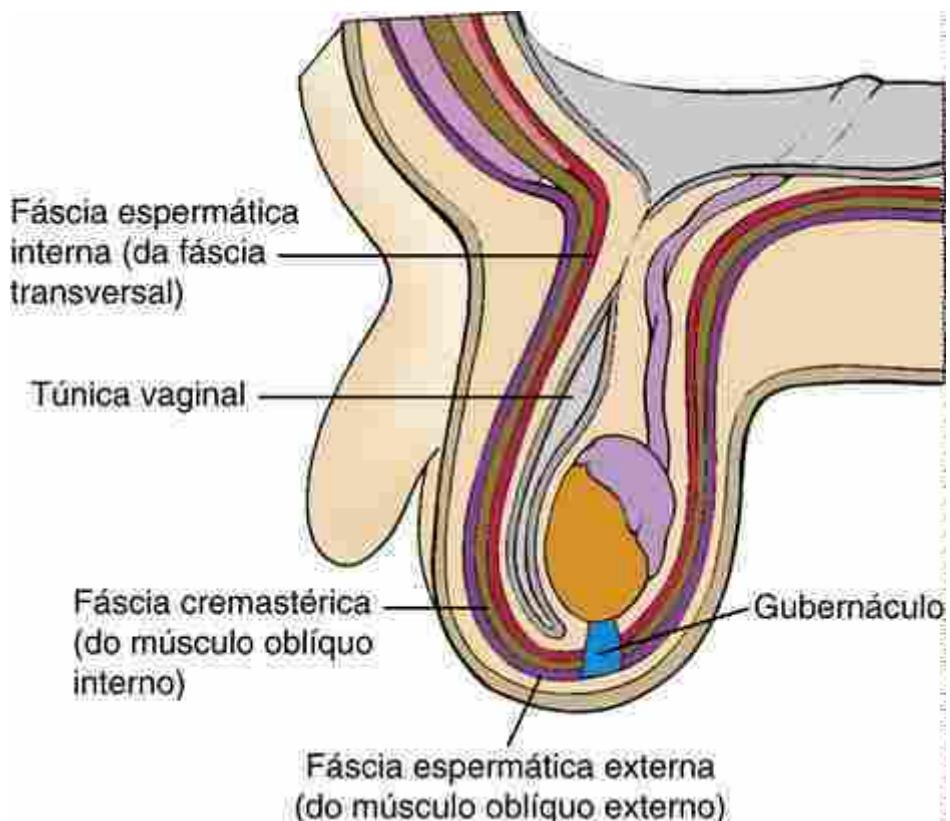


FIGURA 16-27 As três camadas projetadas da parede abdominal são empurradas para o escroto pelo processo vaginal em evaginação a partir de três camadas da fáscia espermática. Estas três camadas envolvem a túnica vaginal e o testículo em um compartimento comum.

Como mencionado anteriormente, não é raro que o processo vaginal persista, formando uma conexão entre a cavidade abdominal e o saco escrotal. Durante a infância, as alças do intestino podem se herniar para dentro do processo vaginal, resultando em uma **hérvia inguinal indireta** (Fig. 16-26C). O reparo dessas hérvias é uma das cirurgias mais comuns da infância.

No Laboratório de Pesquisa

Descida dos testículos

Como discutido anteriormente neste capítulo, o processo de descida testicular ocorre em duas fases distintas e sequenciais: a fase intra-abdominal e a fase inguinoescrotal. Embora o controle hormonal da descida testicular não seja ainda completamente compreendido, andrógenos e hormônios pituitários claramente desempenham papéis essenciais na mediação do segundo estágio da descida. Na ausência de testosterona produzida pelas células de Leydig, ou no caso de receptores de andrógenos não funcionais ou ausentes, a descida testicular é retida na fase inguinoescrotal.

Muito menos se sabe sobre o crucial estágio inicial de descida dos testículos, mas é cada vez mais reconhecido que fatores liberados pelos testículos desempenham papéis fundamentais. As células de Leydig produzem um fator denominado fator semelhante à insulina-3 (Insl3) ou fator semelhante à relaxina. Camundongos sem Insl3 apresentam criptorquidia bilateral, e seus testículos permanecem adjacentes aos rins. Esta criptorquidia é corrigida se Insl3 for expresso em células betapancreáticas desses camundongos sem Insl3. Além disso, se Insl3 é incorretamente expresso em camundongos fêmeas, seus ovários descem. Hormônios esteroides como estradiol e dietilestilbestrol podem regular negativamente a expressão de Insl3 nas células de Leydig, proporcionando, assim, uma explicação do motivo pelo qual a exposição excessiva *in utero* de embriões masculinos a andrógenos provoca criptorquidia. Um alvo de Insl3 é um novo receptor acoplado à proteína G, chamado Lgr8 (*leucine-rich repeat-containing protein-coupled receptor 8*). Mutações em Lgr8 levam a criptorquidia em camundongos e uma mutação neste gene foi identificada em um caso de criptorquidia em ser humano.

Outro possível agente na descida dos testículos pode ser a inervação da região genital. O nervo genitofemoral inerva a região que inclui o cordão espermático no homem e o ligamento redondo na mulher. Este nervo parece ter um papel na mediação do encurtamento dos gubernáculos, pois, se for cortado, o resultado é a criptorquidia. O

peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (Cgrp) é o principal neurotransmissor liberado por este nervo. Pelo fato de poder restaurar a descida normal em animais com os nervos genitofemorais rompidos, o Cgrp pode estimular a contração do músculo liso gubernacular, mediar a direção da migração gubernacular e auxiliar a mover os testículos em direção ao escroto.

Na Clínica

Cryptorchidism

Cryptorchidism é a falha de ambos os testículos ou de um único testículo em descer para o escroto. Embora muitas crianças possam ser criptorquídicas ao nascimento, na maioria das vezes os testículos descem espontaneamente até os 3 meses de idade. A criptorquidíia é muito comum, com incidência de 1% a 4% entre os nascidos vivos do sexo masculino. Se um testículo não desce até 4 a 6 meses, ele é trazido para baixo cirurgicamente (**orquideopexia**). Os pacientes com testículos criptorquídicos têm risco aumentado de desenvolver câncer de testículo e de tornarem-se irreversivelmente inférteis. Como o ambiente testicular masculino normal é geralmente 3 a 5 graus mais frio do que a temperatura abdominal, a temperatura abdominal mais alta reduz o número de espermatogônias adultas tipo A disponíveis para espermatogênese e promove a transformação de células germinativas em células carcinomatosas se a descida for adiada para além de 1 a 2 anos de idade.

Os ovários tornam-se suspensos no ligamento largo do útero e são mantidos na cavidade abdominal pelos ligamentos suspensores craniais

Assim como o embrião masculino, o embrião feminino desenvolve um gubernáculo e um canal inguinal rudimentar (Fig. 16-28). Nas mulheres, o gubernáculo não se avoluma ou se encurta. No entanto, ele faz com que os ovários desçam durante o 3^º mês e sejam carregados em uma dobra peritoneal denominada **ligamento largo do útero** (Figs. 16-19 e 16-28). Esta translocação ocorre porque, durante a 7^a semana, o gubernáculo se une aos ductos paramesonéfricos em desenvolvimento, onde estas duas estruturas se cruzam na parede posterior do corpo. À medida que os ductos paramesonéfricos se juntam pelas suas extremidades caudais para formar a vagina e o útero, eles carregam os ligamentos largos e, simultaneamente, puxam os ovários para essas pregas peritoneais.

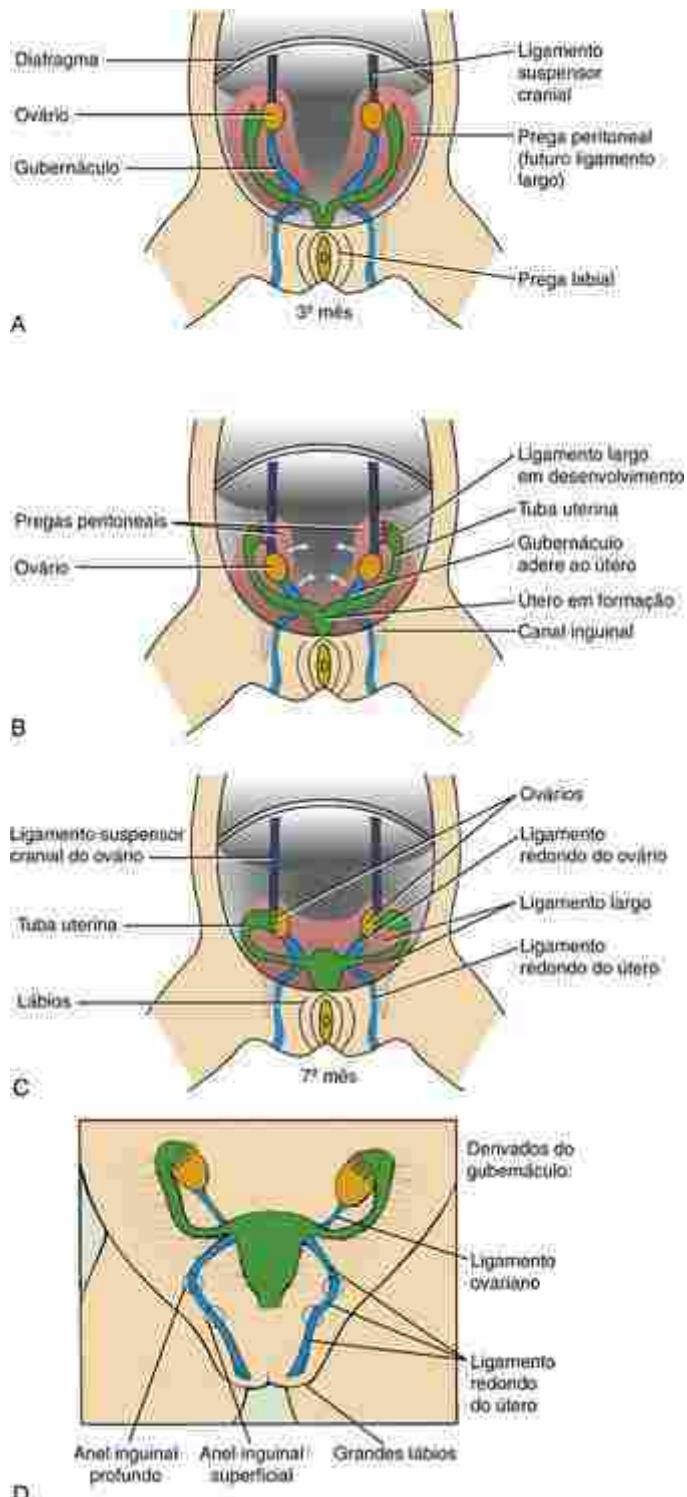


FIGURA 16-28 Formação dos ligamentos ovarianos. *A, B*, No sexo feminino, o gubernáculo não aumenta de volume ou se encurta. No entanto, os ovários ainda descem um pouco durante o 3º mês e são levados para uma prega peritoneal denominada ligamento largo do útero (Fig. 16-19). Esta translocação ocorre porque o gubernáculo adere aos ductos paramesonéfricos em desenvolvimento. À medida que os ductos paramesonéfricos se fundem a partir de suas extremidades caudais, eles carregam os ligamentos largos e, simultaneamente, puxam os ovários para essas pregas peritoneais. Por consequência, o remanescente do gubernáculo feminino une os grandes lábios à parede do útero e é, então, redirecionado lateralmente, aderindo ao ovário. *C*, Ligamento largo completamente formado contendo os ovários e o ligamento redondo do ovário. *D*, O ligamento redondo do útero (remanescente do gubernáculo) sai da cavidade abdominal através dos anéis inguinais superficial e profundo e se conecta à base dos grandes lábios.

Na ausência de hormônios masculinos, o gubernáculo feminino permanece intacto e cresce junto com o resto do corpo. O gubernáculo inferior torna-se o **ligamento redondo do útero**, que liga a fásica dos grandes lábios ao útero, e o gubernáculo superior se transforma no **ligamento redondo do ovário**, que liga o útero ao ovário (Fig. 16-28). Além

disso, na ausência de andrógenos, o ligamento suspensor cranial persiste e ancora o ovário no abdome.

Como nos homens, o processo vaginal do canal inguinal é normalmente obliterado. No entanto, ocasionalmente permanece patente e pode se tornar o local de uma **hérvia inguinal indireta**.

Na Clínica

Transtornos do desenvolvimento sexual

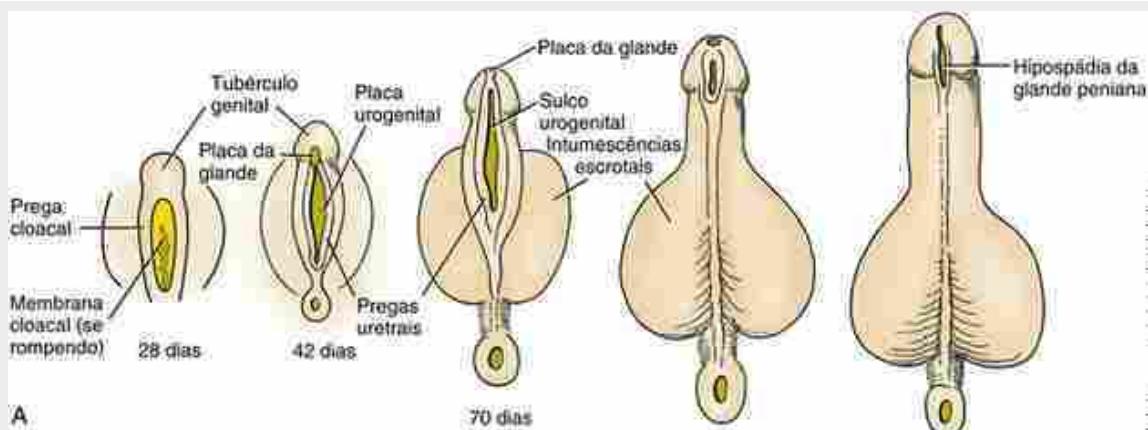
Transtornos do desenvolvimento sexual (TDSs) são anomalias nas quais o desenvolvimento das gônadas cromossômicas ou sexo fenotípico é atípico e ocorre com incidência estimada de 1:5.000 nascidos vivos. Muitos defeitos congênitos do desenvolvimento sexual são causados por mutações ou anomalias cromossômicas que afetam autossomos ou cromossomas sexuais. Não é uma surpresa que as mutações da região determinante do sexo do cromossoma Y tenham efeitos drásticos, assim como deleções ou duplicações de cromossomas sexuais. No entanto, a maioria das malformações do sistema genital surge de alterações em genes autossônicos.

Um indivíduo pode ter gônadas e cromossomas sexuais discordantes das características sexuais secundárias, incluindo o trato genital e a genitália externa. Graças aos avanços na nossa compreensão acerca das causas moleculares, os indivíduos geneticamente masculinos (46,XY) com genitália feminilizada, já referidos como pseudo-hermafroditas masculinos, são agora classificados como **TDSs 46,XY**, e aqueles geneticamente femininos (46,XX) com genitália virilizada, referidos como mulheres pseudo-hermafroditas, são agora classificados como **TDSs 46,XX**. Estes TDSs são geralmente causados por níveis anormais de hormônios sexuais ou por anomalias nos receptores de hormônios sexuais.

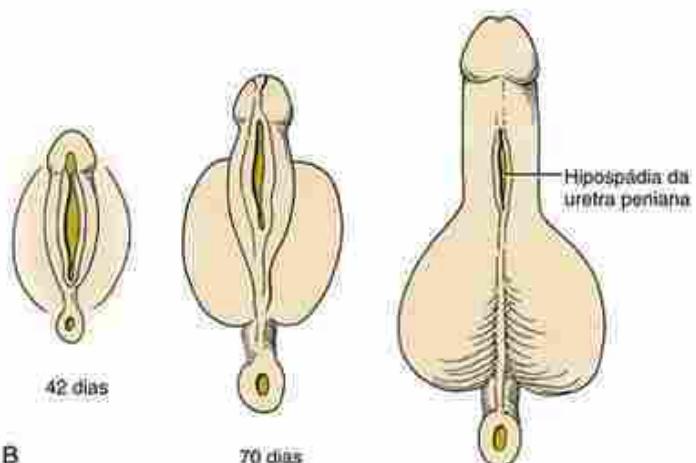
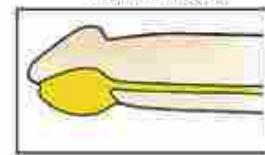
Indivíduos 46,XY com TDSs

Em fetos geneticamente masculinos, qualquer deficiência na ação androgênica tenderá a permitir que o desenvolvimento feminino autônomo prossiga, resultando em algum grau da feminilização genital. As estruturas que mostram a feminilização dependem de quais esteroides sexuais masculinos são afetados pela deficiência.

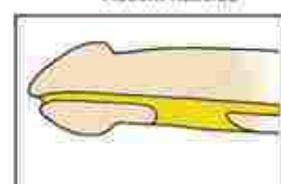
Embora não esteja restrita a indivíduos com TDS, uma manifestação comum de TDS 46,XY é a **hipospádia**, condição em que a uretra se abre para a superfície ventral do pênis. A hipospádia ocorre em cerca de 0,5% de todos os nascidos vivos. Nos casos mais simples, uma única abertura anômala é encontrada abaixo da glande ou do corpo do pênis ([Fig. 16-29A, B](#)). Nos casos mais graves, a uretra peniana apresenta múltiplas aberturas ou permanece aberta. A hipospádia da glande é influenciada por múltiplos fatores, mas a sua causa direta é provavelmente a canalização defeituosa da placa distal da glande. Aberturas no corpo do pênis (ou haste peniana) representam falhas das pregas uretrais em fundir-se completamente.



Recém-nascido



Recém-nascido



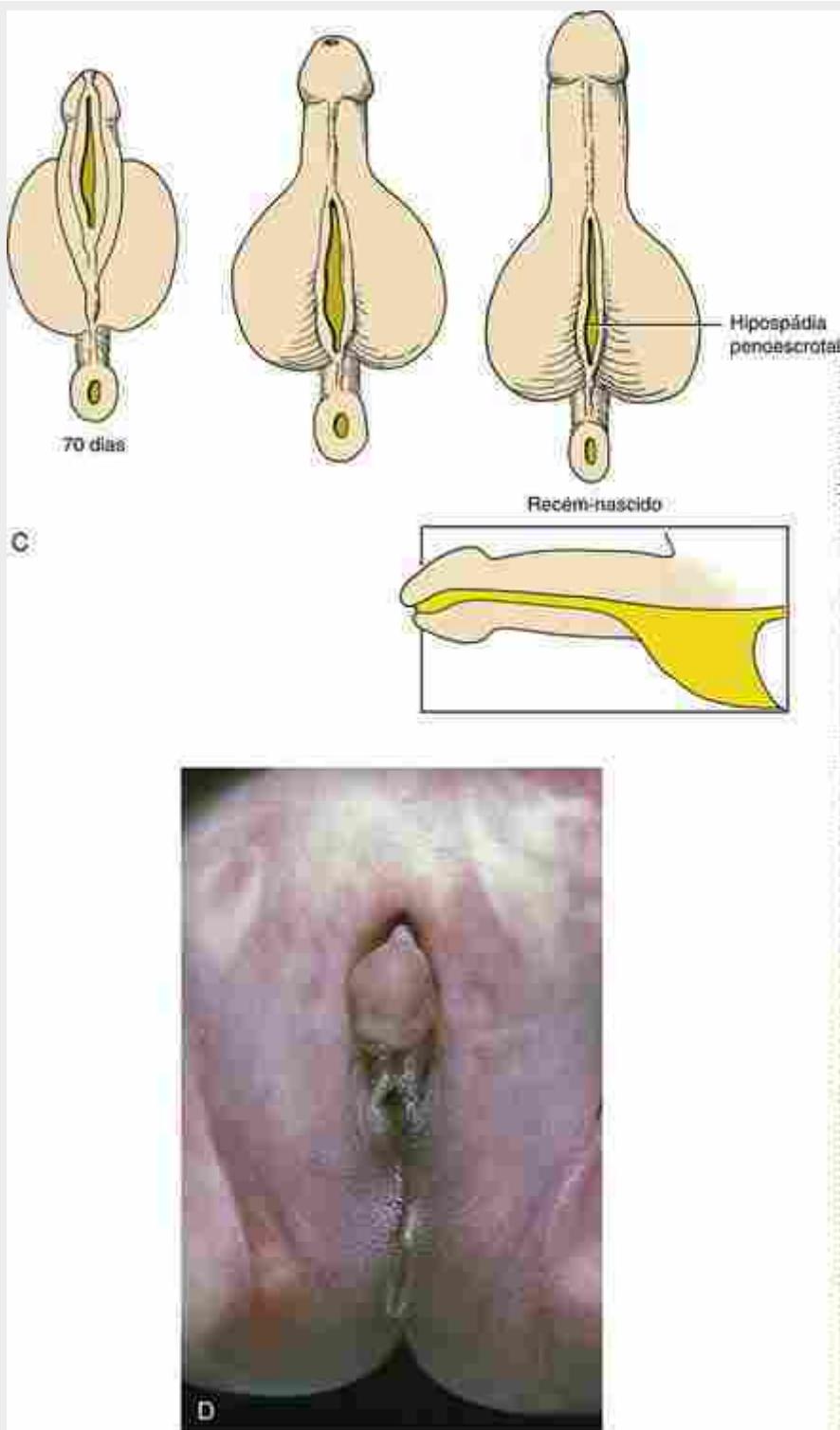


FIGURA 16-29 Hipospádia. A-C, A gravidade e a morfologia da hipospádia dependem da extensão e da localização da abertura anômala na uretra peniana. D, Criança com hipospádia penoescrotal.
Hipospádia. A-C, A gravidade e a morfologia da hipospádia dependem da extensão e da localização da abertura anômala na uretra peniana. D, Criança com hipospádia penoescrotal.

Uma condição mais complexa, a **hipospádia penoescrotal**, ocorre quando as intumescências labioescrotais, bem como as pregas uretrais, não conseguem se fundir (Fig. 16-29C, D). Se as intumescências labioescrotais se fundem parcialmente, a uretra se abrirá por meio de um orifício entre a base do pênis e a raiz do escroto. Na forma mais grave desta anomalia, as intumescências labioescrotais não se fundem e a uretra se abre no fundo de uma depressão no períneo. Esta condição é normalmente acompanhada por um crescimento limitado do falo, de modo que, ao nascimento, os órgãos genitais parecem ser do sexo feminino.

TDSs 46,XY que afetam os órgãos genitais externos podem ser causados por deficiência de 5 α -redutase. Mutações que reduzem ou desativam esta enzima têm pouca importância em mulheres, mas em homens a redução

consequente de di-hidrotestosterona causa hipospádia penoescrotal grave e genitália que parece feminina no nascimento. Estes indivíduos têm testículos normais localizados dentro dos canais inguinais ou no interior das intumescências labioescrotais. Os testículos produzem AMH e testosterona nos momentos apropriados, portanto os derivados do ducto paramesonéfrico estão ausentes e os ductos mesonéfricos se diferenciam em ductos deferentes. Em TDS 46,XY deste tipo, o aumento súbito da testosterona na puberdade pode causar marcada diferenciação da genitália externa e das glândulas acessórias em estruturas tipicamente masculinas. Esses ex-TDSs podem ser férteis e procriar. Acredita-se que os níveis normais de testosterona durante a vida fetal e depois da puberdade resultam na diferenciação masculina normal do cérebro e, portanto, em uma percepção de identidade sexual masculina.

TDSs 46,XY podem ser causados por **deficiência de testosterona**. Mutações que afetam as enzimas necessárias para a síntese de testosterona – como 20,22-DESMOLASE, 17-HIDROXILASE, ESTEROIDE 17,20-DESMOLASE e 17 β - HIDROXIESTEROIDE DESIDROGENASE – causam a deficiência ou a ausência deste hormônio. O TDS resultante afeta todas as estruturas que dependem de andrógenos para a sua diferenciação. Os ductos mesonéfricos não se diferenciam, os testículos não descem e tanto os órgãos genitais externos quanto a identidade de gênero são femininos. Como os níveis de testosterona não aumentam na puberdade, a feminilização não é revertida, e o indivíduo pode permanecer com uma aparência feminina normal. No entanto, como os testículos se desenvolvem e produzem AMH, os ductos paramesonéfricos se degeneram.

Se os RECEPTORES DE ANDRÓGENOS não funcionarem ou não existirem, o feto do sexo masculino poderá apresentar níveis normais ou altos de hormônios esteroides masculinos, mas os tecidos-alvo não responderão e o desenvolvimento prosseguirá como se os andrógenos estivessem ausentes. Esta condição é denominada **síndrome da insensibilidade a andrógeno** (também chamada de síndrome de feminilização testicular). Assim como nos casos de deficiência primária de testosterona, os testículos estão presentes e o AMH é produzido, e, desse modo, os ductos paramesonéfricos regridem, embora possa ser formada uma vagina em fundo cego. O fenótipo é geralmente feminino, mas pode variar de uma morfologia genital feminina completa ([Fig. 16-30](#)) a um tipo ambíguo (discutido no “Caso Clínico” deste capítulo) ou a um fenótipo masculino com infertilidade.

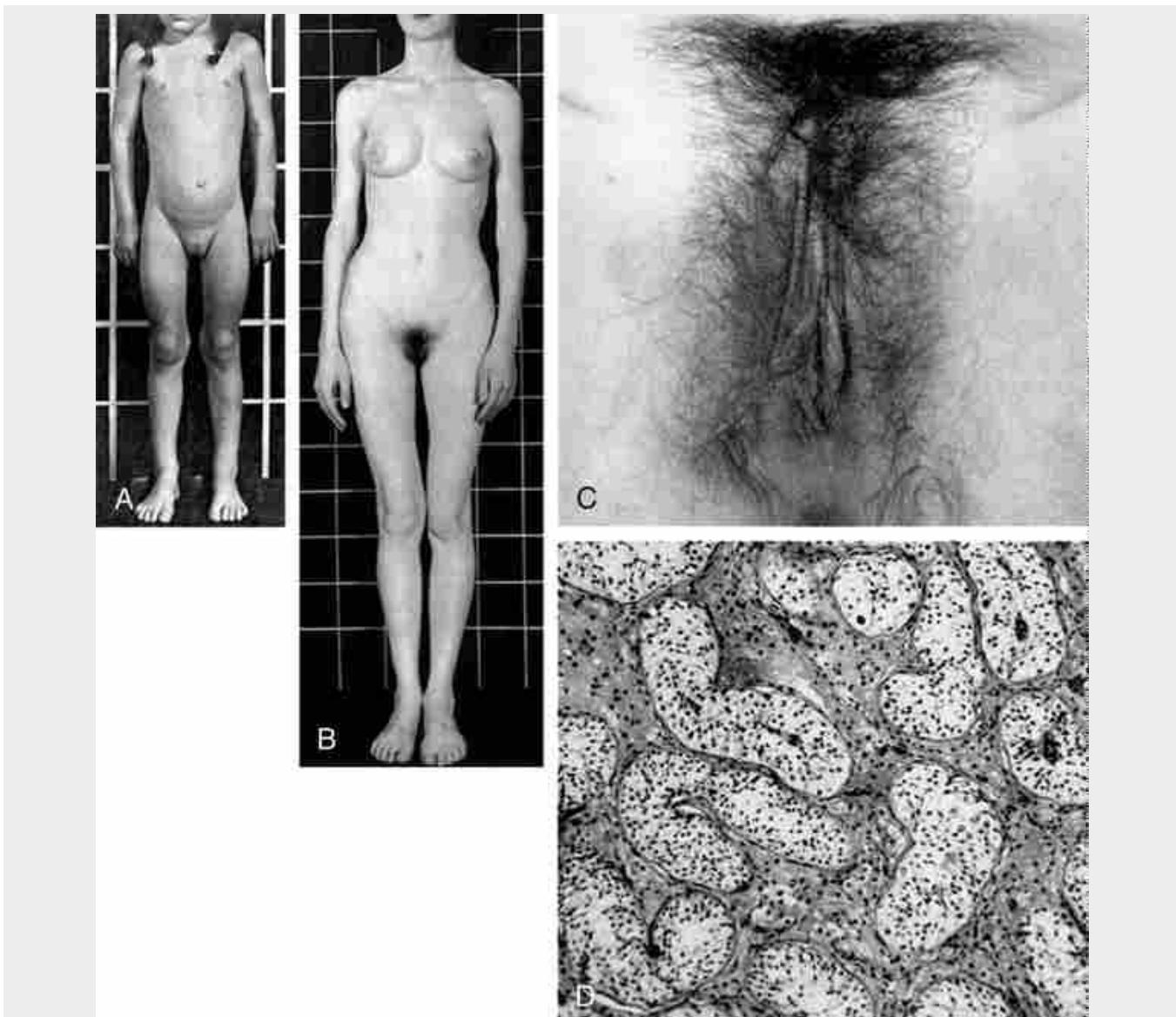


FIGURA 16-30 Pacientes com síndrome da insensibilidade ao andrógeno, que apresenta cariótipo 46,XY e genitália externa feminina. *A*, Paciente com 11 anos de idade. *B*, Paciente com 17 anos de idade. *C*, Fotografia mostrando genitália externa feminina normal no paciente mostrada em *B*. *D*, Fotomicrografia da citoarquitetura dos testículos removidos do canal inguinal do paciente mostrado em *B*, revelando túbulos seminíferos revestidos por células de Sertoli. As células germinativas estão ausentes e as células intersticiais são hipoplásicas.

As mutações no domínio SRY que se liga ao DNA de SRY humano são encontradas em casos de **síndrome de Swyer**, na qual há total disgenesia gonadal (nem testículos nem ovários) em indivíduos XY. Esses indivíduos são fenotipicamente femininos e têm um trato reprodutor feminino, mas não entram na puberdade. Indivíduos com síndrome de Swyer são geralmente tratados com estrogênio e progesterona para facilitar o desenvolvimento de características sexuais secundárias e estimular um ciclo menstrual. As gônadas linearizadas, compostas principalmente de tecido fibroso, são removidas porque tendem ao desenvolvimento de câncer. Embora esses indivíduos não possam produzir óvulos, eles são capazes de engravidar por transferência de embriões para o útero.

Indivíduos 46,XX com TDS

O TDS 46, XX é visto em indivíduos geneticamente femininos que possuem ovários mas cuja genitália é virilizada pela exposição a níveis anormais de esteroides sexuais virilizantes durante o desenvolvimento fetal. Na maioria dos casos, os andrógenos virilizantes são produzidos como resultado de **hiperplasia adrenal congênita (suprarrenal)** (discutido no quadro “Na Clínica” intitulado “Hiperplasia Adrenal Congênita”, no [Cap. 15](#)). Alguns casos foram aparentemente causados pela administração de compostos virilizantes de progestinas para evitar o aborto espontâneo. Seja qual for a causa, a genitália externa de indivíduos 46,XX com TDS apresenta hipertrofia do clítoris e fusão das pregas uretrais e labioescrotais ([Fig. 6-16](#) no [Cap. 6](#)). No entanto, como os testículos e o AMH estão ausentes, a vagina, o útero e as tubas de Falópio se desenvolvem normalmente.

Falha ao Entrar na Puberdade

Quando um indivíduo não passa pelas alterações de desenvolvimento associadas à puberdade, a causa é geralmente uma deficiência dos esteroides sexuais apropriados normalmente secretados pelas gônadas – testosterona nos homens e estrogênio nas mulheres. Níveis elevados de hormônios gonadotróficos pituitários estimulam o aumento puberal na produção de esteroides sexuais. O hipogonadismo pode, por conseguinte, ser causado por um defeito nas próprias gônadas ou no hipotálamo e na hipófise.

No **hipogonadismo primário**, o hipotálamo e a pituitária são normais e produzem níveis elevados de gonadotrofinas circulantes, mas a gônada não responde com produção aumentada de esteroides sexuais. A maioria dos casos de hipogonadismo primário está associada a uma de duas anomalias cromossômicas principais, embora alguns casos sejam de origem desconhecida (idiopática).

Nos homens, o hipogonadismo primário é geralmente um componente da **síndrome de Klinefelter**, que ocorre em cerca de 1 em 500 a 1.000 nascidos vivos do sexo masculino. A síndrome de Klinefelter é causada por uma variedade de anomalias cromossômicas sexuais que envolvem a presença de um cromossoma X extra. Conforme discutido no [Capítulo 1](#), o cromossoma X extra é adquirido pela não disjunção durante a gametogênese ou no início das clivagens. O cariótipo mais comum da síndrome de Klinefelter é 47,XXY. Outros indivíduos com síndrome de Klinefelter são mosaicos: ou mosaicos de células com cariótipo masculino normal (46,XY) e células com cariótipo anormal (p. ex., 47,XXY; 48,XXYY; 45,X; e 47,XXY), ou mosaicos de células com cariótipo feminino 46,XX e células com cariótipo anormal 47,XXY. Em todos os casos, o defeito primário é a falha das células de Leydig em produzir quantidade suficiente de esteroides masculinos, o que resulta em testículos pequenos e **azoospermia** (ausência da espermatogênese) ou **oligospermia** (baixa contagem de espermatozoides). Muitos desses indivíduos também apresentam **ginecomastia** (desenvolvimento das mamas no sexo masculino) e **eunucoidismo** (*habitus* – corpo esguio, extremidades alongadas, cabelos escassos).

O hipogonadismo primário, no sexo feminino, está normalmente associado à **síndrome de Turner**, condição que ocorre em 1 em 5.000 nascidos vivos do sexo feminino. Sua causa é um cariótipo 45,X ou 45,X/46,XX ou um mosaicismo 45,X/46,XY. Além da falha na maturação sexual normal na puberdade, a síndrome de Turner é caracterizada por uma série de anomalias, incluindo baixa estatura e pESCOço alado, coarcação da aorta ([Cap. 13](#)) e cistos linfáticos cervicais.

O hipogonadismo secundário é causado por defeitos no hipotálamo ou na glândula pituitária anterior. Os indivíduos com **hipogonadismo secundário** têm níveis reduzidos tanto de gonadotrofinas quanto de esteroides sexuais. Na maioria das vezes, a causa é uma secreção insuficiente de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo, como na **síndrome de Kallmann** ([Cap. 9](#)), ou a **síndrome do eunuco fértil** no sexo masculino. Vários distúrbios hipogonadotróficos secundários em homens e mulheres apresentam herança autossômica recessiva.

Embriologia na Prática

Baixa estatura

Uma menina de 7 anos de idade é atendida por uma gastroenterologista porque apresenta crescimento inferior ao esperado e sintomas gastrointestinais. Uma história de diarreia intermitente e desconforto abdominal levou a médica a suspeitar de doença celíaca, e a família retorna ao consultório para discutir os resultados dos testes que confirmam o diagnóstico. A família já havia suspeitado e veio preparada para discutir os planos de dieta sem glúten, restrições alimentares e outros problemas celíacos.

No entanto, a família não estava preparada para a discussão da questão a seguir. A médica disse: "Eu gostaria de fazer também um estudo cromossômico para descartar síndrome de Turner, que pode explicar a baixa estatura de sua filha e a doença celíaca". Ela acrescenta que a menina tem algumas características exteriores da síndrome de Turner, incluindo pESCOço largo e numerosas verrugas.

Depois de mais de 10 dias, o teste cromossômico mostrou um cariótipo 45,X, confirmando o diagnóstico de síndrome de Turner. Não foram encontradas evidências de mosaicismo (algumas meninas com síndrome de Turner são mosaico para outras linhagens celulares, como 46,XX ou 46,XY).

A menina foi encaminhada a um endocrinologista para posteriores avaliação e tratamento. Uma ultrassonografia do abdome mostra rins normais (que podem ser anormais em 30% das meninas com síndrome de Turner), mas não mostra ovários, o que é consistente com a disgenesia gonadal observada na síndrome de Turner. Em vez da proliferação rápida de ovócitos na crista genital que normalmente ocorre por volta da metade da gestação, os ovários de mulheres 45,X sofrem a perda acelerada de ovócitos, resultando em poucos folículos e "ovários lineares" fibrosos ao nascimento.

O endocrinologista explica que a maioria das meninas com síndrome de Turner nunca terá ciclos menstruais normais ou gestações não assistidas. O início e a adequação do desenvolvimento puberal são variáveis e podem ser auxiliados por terapia de reposição hormonal. A família é informada de que este tratamento terá de ser coordenado com a terapia com hormônio do crescimento, o qual pode ser usado para restaurar o crescimento linear normal em meninas com síndrome de Turner se for sincronizado adequadamente.

Leituras sugeridas

- Cai, Y. Revisiting old vaginal topics: conversion of the Müllerian vagina and origin of the “sinus” vagina. *Int J Dev Biol.* 2009; 53:925–934.
- Cool, J., Capel, B. Mixed signals: development of the testis. *Semin Reprod Med.* 2009; 27:5–13.
- DiNapoli, L., Capel, B. SRY and the standoff in sex determination. *Mol Endocrinol.* 2008; 22:1–9.
- Ewen, K. A., Koopman, P. Mouse germ cell development: from specification to sex determination. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 323:76–93.
- Franco, H. L., Yao, H. H. Sex and hedgehog: roles of genes in the hedgehog signaling pathway in mammalian sexual differentiation. *Chromosome Res.* 2011; 20:247–258.
- Hughes, I. A., Houk, C., Ahmed, S. F., Lee, P. A. Consensus statement on management of intersex disorders. *J Pediatr Urol.* 2006; 2:148–162.
- Joseph, A., Yao, H., Hinton, B. T. Development and morphogenesis of the Wolffian/epididymal duct, more twists and turns. *Dev Biol.* 2009; 325:6–14.
- Kousta, E., Papathanasiou, A., Skordis, N. Sex determination and disorders of sex development according to the revised nomenclature and classification in 46,XX individuals. *Hormones.* 2010; 9:218–231.
- Liu, C. F., Liu, C., Yao, H. H. Building pathways for ovary organogenesis in the mouse embryo. *Curr Top Dev Biol.* 2010; 90:263–290.
- Rey, R. A., Grinspon, R. P. Normal male sexual differentiation and aetiology of disorders of sex development. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011; 25:221–238.
- Richardson, B. E., Lehmann, R. Mechanisms guiding primordial germ cell migration: strategies from different organisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11:37–49.
- Schlessinger, D., Garcia-Ortiz, J. E., Forabosco, A., et al. Determination and stability of gonadal sex. *J Androl.* 2010; 31:16–25.
- van der Putte, S. C. The development of the perineum in the human. A comprehensive histological study with a special reference to the role of the stromal components. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2005; 177:1–131.

Desenvolvimento do Aparelho Faríngeo e da Face

Resumo

O esqueleto da cabeça e faríngeo é constituído pelo **neurocrânio** — os ossos que suportam e protegem o encéfalo e órgãos sensoriais (órgãos olfativos, olhos e orelhas internas) — e pelo **viscerocrânio** — os ossos da face e dos arcos da faringe. O neurocrânio pode ser subdividido em base do crânio (os ossos subjacentes do encéfalo), calota craniana (os ossos que recobrem o encéfalo) e cápsulas sensoriais (os ossos que envolvem os órgãos sensoriais). Existem dois tipos de ossos na cabeça. Um tipo, o **osso endocondral**, é formado por um intermediário cartilaginoso que se ossifica através do processo de **ossificação endocondral**. Os ossos da base craniana são formados pela ossificação endocondral e são coletivamente denominados **condrocrânio**. O outro tipo de osso desenvolve-se de uma ossificação diretamente do mesênquima através do processo de **ossificação intramembranosa**; este tipo de osso é conhecido como **osso membranoso ou dermal**. As mandíbulas e a calota craniana são formadas quase inteiramente por ossos membranosos. Muitas estruturas esqueléticas da cabeça são incomuns, uma vez que são formadas por **células da crista neural**, em vez do mesoderma, como no restante do corpo.

Em seres humanos, quatro pares (numerados de 1 a 4 na sequência craniocaudal) de **arcos faríngeos** (também denominados arcos branquiais, especialmente na literatura mais antiga) se formam em ambos os lados do intestino anterior da faringe, a partir do 22º dia. Além disso, com base em sua história evolutiva de ancestrais com seis arcos, pensou-se que um par mais caudal de arcos, denominado sexto arco faríngeo, também se formava em humanos. Cada arco faríngeo, independentemente de sua posição craniocaudal, apresenta uma cobertura externa de ectoderma, uma camada interna de endoderma e uma central de mesênquima, derivado do mesoderma paraxial e lateral e do **ectomesênquima** derivado de células da crista neural. Cada arco faríngeo contém um elemento de suporte cartilaginoso, uma artéria do arco aórtico e um nervo craniano associado ao arco. Os arcos faríngeos são separados externamente pelos **sulcos faríngeos** (também denominados **fendas**) e internamente pelas **bolsas faríngeas** revestidas pelo endoderma.

Os elementos esqueléticos dos arcos faríngeos 1 a 4 (e talvez o 6), pelo menos, são derivados de células da crista neural, enquanto os músculos e as células endoteliais são derivados do mesoderme. O primeiro arco faríngeo (e mais cranialmente associado ao mesênquima) inicialmente forma as cartilagens transitória de **Meckel** e a **palatopteroquadrada**, que em última análise dão origem ao **martelo** e à **bigorna** da orelha média, respectivamente. O segundo arco faríngeo forma inicialmente a cartilagem de **Reichert**, e posteriormente o **estribo**, **estiloide** e os **cornos menores**, e parte do **corpo do hioide**. O terceiro arco faríngeo forma os **cornos maiores** e parte do **corpo do hioide**. O quarto e o sexto arcos faríngeos formam as **cartilagens da laringe**.

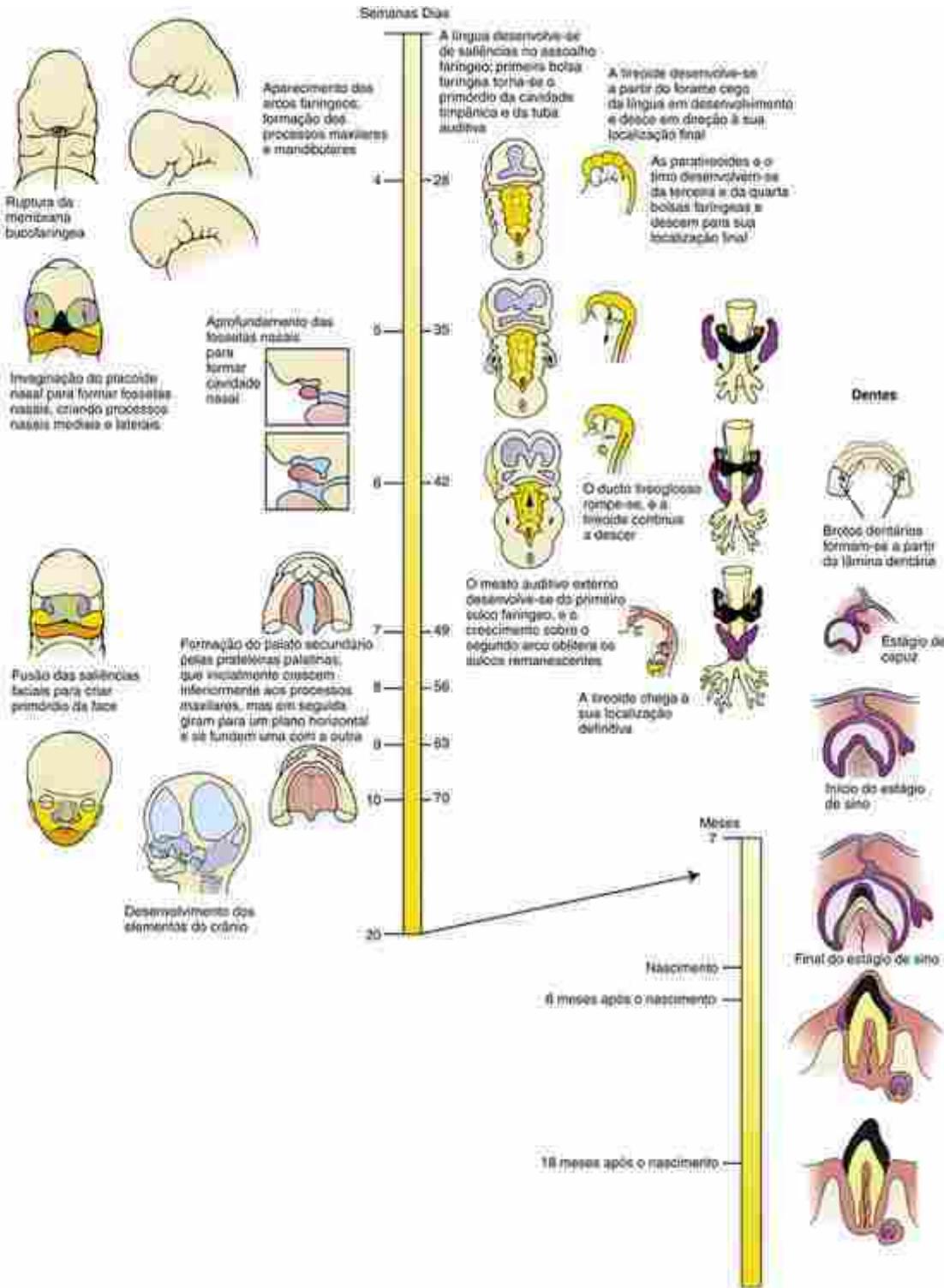
O mesoderma do primeiro arco faríngeo forma os **músculos da mastigação**, e o mesoderma do segundo arco faríngeo forma os **músculos de expressão facial**. O mesoderma do terceiro, quarto e sexto arcos faríngeos formam os músculos intrínsecos da laringe. Os músculos derivados de cada arco faríngeo são inervados por um nervo craniano correspondente (primeiro, segundo, terceiro e quarto e sexto arcos são inervados pelos nervos cranianos V, VII, IX e X, respectivamente). Os músculos extraoculares formam-se a partir do mesoderma paraxial rostral e mesoderma precordial. Estes são inervados pelos nervos oculomotor (III), troclear (IV) e abducente (VI).

A face humana é formada entre a 4ª e a 10ª semana pela fusão de cinco **proeminências faciais**: a **proeminência frontonasal**, um par de **proeminências maxilares**, e um par de **proeminências mandibulares**. Durante a 5ª semana, um par de **placoides nasais (olfatórios)** de ectoderma espessado se desenvolve na proeminência frontonasal e, então, invagina-se para formar as fossetas nasais e simultaneamente divide parte da proeminência frontonasal em **processos nasais mediais e laterais**. Os primórdios faciais se juntam para formar a **face**; falhas neste processo resultam em **fendas faciais**. Durante o desenvolvimento normal, os processos nasais mediais se fundem para gerar a ponte do **nariz**, o **filtro** e o **palato primário**; os processos nasais laterais dão origem à lateral do nariz; e os processos maxilares formam a maior parte das bochechas. O **palato secundário** é formado a partir de prateleiras que crescem das saliências maxilares e se

fundem em toda a linha média. Os processos mandibulares formam o maxilar inferior.

Cada uma das bolsas faríngeas forma uma estrutura adulta. A primeira bolsa forma a maior parte da **cavidade timpânica** e toda a **tuba auditiva (Eustáquio)**. A segunda bolsa dá origem às **tonsilas palatinas**. A terceira bolsa forma a glândula timo e a **glândula paratireoide inferior**, e a quarta bolsa forma a **glândula paratireoide superior**. A quinta bolsa forma o **corpo ultimobranquial**. O timo, a glândula ultimobranquial e a glândula paratireoide migram para sua posição definitiva no pescoço.

A **glândula tireoide** forma-se como uma evaginação endodérmica ventral na linha média na faringe; este ponto de evaginação é marcado no adulto pelo **forame cego** sobre a superfície superior da língua. Este primórdio da glândula tireoide alonga-se após a evaginação, separa-se do endoderma faríngeo e finalmente migra para sua localização definitiva próxima à região inferior e ventral da laringe. Células do corpo ultimobranquial tornam-se incorporadas à glândula tireoide para formar as **células C** produtoras de calcitonina.



Linha do Tempo.
Desenvolvimento da cabeça, pescoço e aparelho faríngeo.

A **língua** desenvolve-se a partir de salinidades recobertas de endoderma no assoalho da faringe. Os dois terços anteriores da mucosa da língua é derivado da saliência do primeiro arco faríngeo, enquanto o terço posterior recebe contribuições do terceiro e do quarto arcos faríngeos. Em contraste, a maioria dos músculos da língua é formada a partir de miócitos que derivam de somitos **occipitais** e são inervados pelo **nervo hipoglosso**. Por esta razão, as fibras nervosas motoras e sensoriais da língua estão contidas em conjuntos separados de nervos cranianos.

Com exceção do primeiro sulco faríngeo (o sulco que separa o primeiro e o segundo arcos faríngeos), que forma o **meato auditivo externo**, todos os outros sulcos faríngeos são obliterados pelo crescimento excessivo do segundo arco faríngeo, embora elas ocasionalmente persistam como cistos ou fístulas cervicais anormais.

Os dentes surgem do ectoderma e do mesênquima derivado da crista neural. O primeiro sinal do desenvolvimento do dente é a formação de uma crista epidérmica em forma de U, denominada de lámina dentária, ao longo da crista

dos maxilares superior e inferior. A invaginação de 20 lâminas dentárias, que induzem a condensação do mesênquima, derivado de células da crista neural subjacente, juntos formam os **germes dentários** dos dentes primários (decíduos). Os dentes secundários, permanentes, são formados por germes dentários secundários que brotam a partir dos germes primários. Logo após a formação de cada germe dentário, seu componente mesenquimal forma uma **papila dentária** semelhante a uma colina que recorta o **órgão de esmalte** epitelial formado a partir do germe. Este estágio de desenvolvimento dentário é denominado **estágio de capuz**, pois o órgão de esmalte situa-se na papila como um capuz. Por volta da 10^a semana, a lâmina dentária torna-se uma estrutura em forma de sino que recobre completamente a papila dentária. No final do **estágio de sino**, as células do órgão de esmalte diferenciam-se em **ameloblastos** produtores de esmalte, que começam a secretar matriz orgânica, que se mineraliza para formar prismas radialmente dispostos de esmalte entre si e na papila subjacente. As células mais exteriores das papilas se diferenciam em **odontoblastos**, que secretam a dentina do dente. As células mais internas da papila dentária dão origem à polpa do dente. Nervos e vasos sanguíneos ganham acesso à polpa através das pontas das raízes dos dentes.

Caso Clínico

Uma mulher de 18 anos de idade foi levada para sala de emergência queixando-se de um “ataque cardíaco”. Ela apresentava-se visivelmente suada, sem fôlego e sentindo dor no peito. Os sintomas começaram uma hora mais cedo, enquanto ela estava correndo. Ela ficou especialmente alarmada quando sua companheira de corrida disse: “Eu posso ver seu coração batendo em seu pescoço!”.

Um ECG normal, testes laboratoriais normais e uma melhora sem terapia descartou um ataque cardíaco. Achados físicos de osteocondrite (inflamação das articulações das costelas) forneceram uma provável causa da dor no peito, que, por sua vez, levou ao ataque de pânico. Entretanto, o médico plantonista continuou a ouvir um estridor inspiratório (um som produzido por obstrução parcial de uma grande via aérea) bem depois de ter desaparecido o ataque de pânico. Isso, combinado com pulsações arteriais visíveis na base do pescoço da paciente, sugeriu uma anomalia vascular. O médico também notou que a mulher apresentava anomalias craniofaciais menores, incluindo orelhas encorpadas, com forma anormal, retrognatia (uma mandíbula com recuo), curto filtro (a estrutura entre o lábio superior e o nariz) e uma ponta nasal larga. Além disso, a paciente apresentava úvula bífida e fala hipernasal, sugestiva de disfunção palatina.

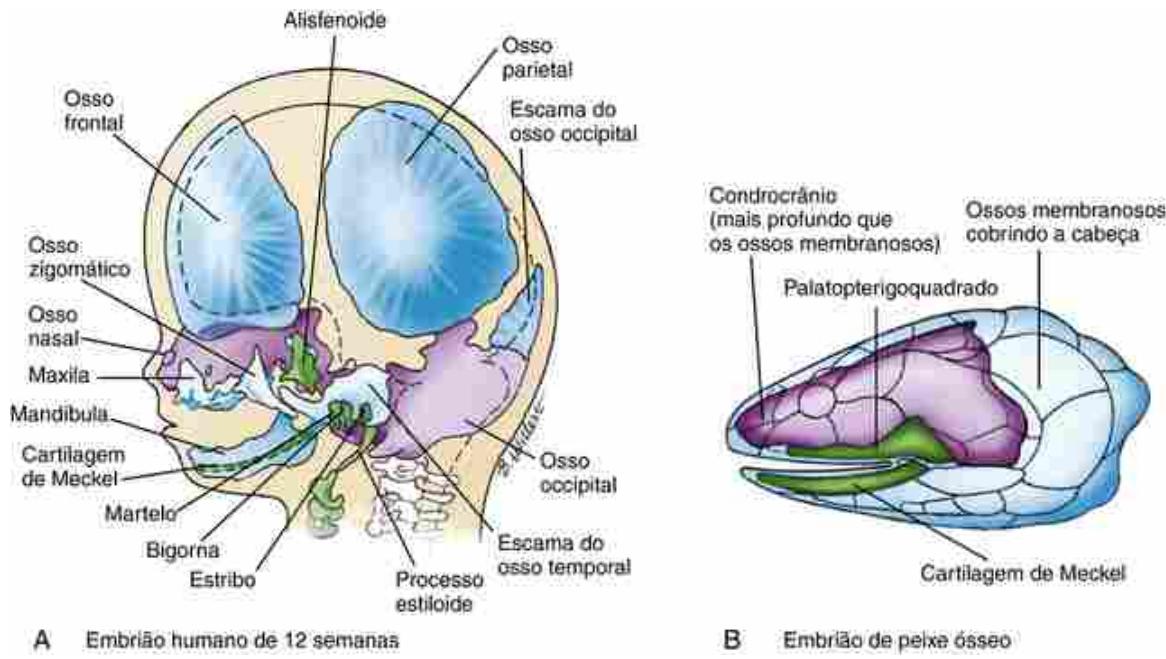
A angiografia por ressonância magnética (ARM) realizada 1 semana mais tarde revelou um **arco aórtico cervical** (AAC) que invadiu, e obstruiu parcialmente, a traqueia, causando som estridente durante a inspiração profunda. O AAC resulta do desenvolvimento anormal dos arcos aórticos, com regressão do quarto arco aórtico esquerdo e alargamento do terceiro arco aórtico esquerdo. Normalmente, como descrito no [Capítulo 13](#), o quarto arco aórtico esquerdo persiste e contribui para a formação do arco da aorta. O AAC e as anomalias vasculares relatadas, especialmente quando acompanhadas por defeitos craniofaciais e insuficiência velofaríngea (disfunção do palato e da faringe; “velo” refere-se ao palato), em geral ocorrem na **síndrome de deleção 22q11.2** cromossômica (também conhecida como **síndrome velocardiofacial** ou de **DiGeorge**). Testes genéticos confirmaram essa deleção. A síndrome de deleção 22q11.2 é caracterizada por uma vasta gama de anormalidades, muitas vezes sutis na infância ([Fig. 17-1](#)), afetando estruturas craniofaciais e dos arcos faríngeos derivadas das células da crista neural.



FIGURA 17-1 Duas crianças sem parentesco com aparência facial característica, mas sutil, de síndrome de deleção 22q11.2, incluindo nariz proeminente com ponta arredondada e asa nasal hipoplástica, face média reduzida, boca e queixo pequenos, formato incomum das orelha, e pequenas fissuras palpebrais (olhos abertos).

Origem do crânio

Em humanos, os ossos da cabeça podem ser divididos em **neurocrânio** e **viscerocrânio**. Estes ossos surgem a partir de mais de uma centena de centros de ossificação, que se consolidam para formar 45 ossos no crânio neonatal. A fusão desses ossos no pós-natal reduz o número para 22 ossos no crânio adulto. O **neurocrânio** abrange os ossos envolventes e de proteção do encéfalo e órgãos sensoriais: os ossos da base craniana, órgãos sensoriais e calota craniana (Fig. 17-2A). O **viscerocrânio** engloba os ossos da face e arcos faríngeos (Fig. 17-2A). O neurocrâneo e o viscerocrâneo consistem em dois tipos de ossos: aqueles que são formados por meio da ossificação de um intermediário cartilaginoso são conhecidos como **ossos endocondrais**, e aqueles que são formados através da ossificação direta no mesênquima, conhecidos como **ossos membranosos** ou **dermais** (Cap. 8). Em humanos, os ossos dermais, com exceção de parte da clavícula, são encontrados apenas na cabeça.



A Embrião humano de 12 semanas

B Embrião de peixe ósseo

FIGURA 17-2 A origem evolutiva do crânio humano do esqueleto do arco faríngeo, da caixa craniana e dos ossos dérmicos dos vertebrados primitivos. A, Em humanos, o condrocrânio (roxo) forma a base craniana, enquanto a calota craniana é formada por ossos membranosos (azul). Os ossos membranosos também formam uma grande parte do esqueleto facial altamente modificado dos humanos. O viscerocrânio cartilaginoso é mostrado em verde. B, O encéfalo em expansão na linhagem dos peixes, em humanos tornou-se alojado em um crânio formado parcialmente pelo condrocrânio (roxo) e parcialmente por ossos membranosos (azul). Os arcos faríngeos em peixes dão origem a uma série de ossos cartilaginosos (verde), mostrados aqui por ossos de Meckel e pelo palatopterigoquadrado, derivados do primeiro arco faríngeo.

A presença desses dois tipos de ossos na cabeça foi conservada durante a evolução. O esqueleto craniano de peixes é composto de (1) o **condrocrânio**, que engloba e protege o encéfalo e ajuda a formar as **cápsulas sensoriais** que suportam e protegem os órgãos olfativos, olhos e orelhas internas; (2) uma armadura externa de **ossos membranosos (dermáis)**, que se sobreponem ao condrocrânio; e (3) o **esqueleto visceral ou viscerocrânio**, que suporta a barra branquial e as mandíbulas (Fig. 17-2B). Os ossos do condrocrânio (como o nome indica) são pré-formados em cartilagem. Esses três componentes do esqueleto craniano dos peixes podem ainda ser distinguidos no desenvolvimento do crânio humano (comparar Fig. 17-2A,B). No entanto, durante a evolução, com o estabelecimento da nova articulação temporomandibular, as cartilagens do arco faríngeo (*i.e.*, o viscerocrânio) foram modificadas de modo a formar as cartilagens da laringe e ossos da orelha média. Além disso, conforme ocorre a expansão do encéfalo, o condrocrânio situa-se subjacente, em vez de em volta, durante o desenvolvimento do encéfalo, formando a base craniana, enquanto os ossos dérmicos se expandem para formar a calota craniana.

Em humanos, o **condrocrânio** é também definido como a porção do neurocrânio formada pela ossificação endocondral. O condrocrânio, em parte, desenvolve-se a partir de três pares de precursores cartilaginosos que também estiveram presentes em nossos primeiros ancestrais — **cartilagens precordais** (*trabeculae crani*), **cartilagens hipofisárias** e **cartilagens paracordais** (Fig. 17-3A). Essas cartilagens contribuem para a formação da base do crânio e, juntas com a cartilagem dos somitos occipitais (ver próximo parágrafo) e os elementos cartilaginosos que se desenvolvem em torno dos olhos, fossetas óticas e fossetas nasais, formam o condrocrânio, que auxilia a proteger o encéfalo e órgãos sensoriais.

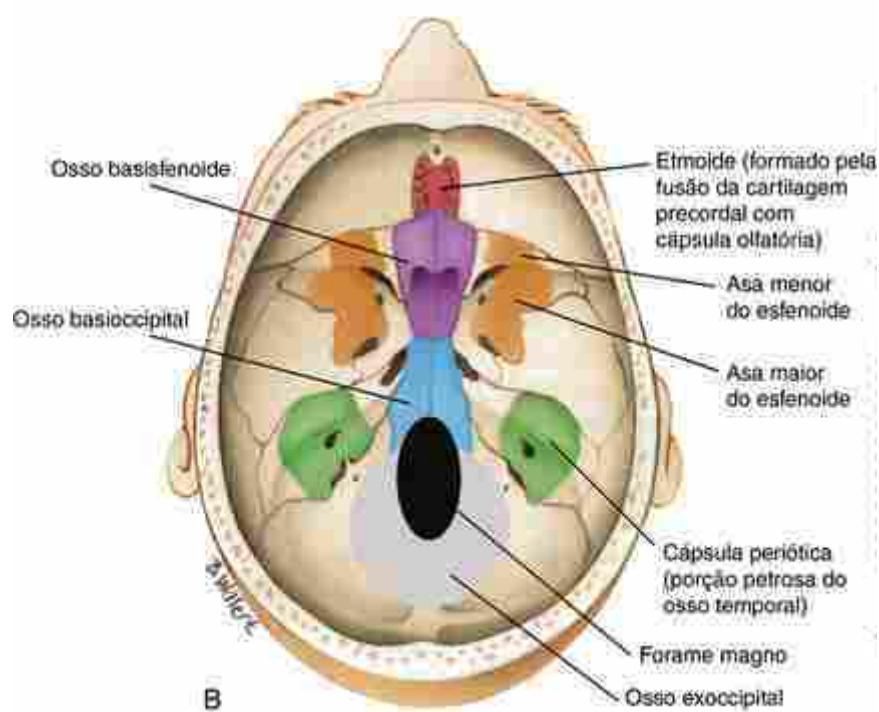
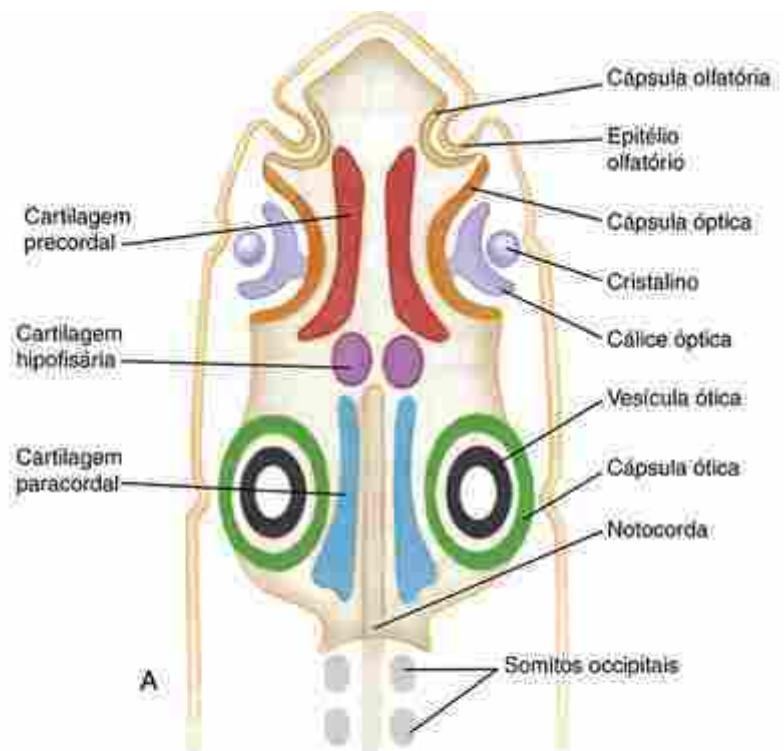
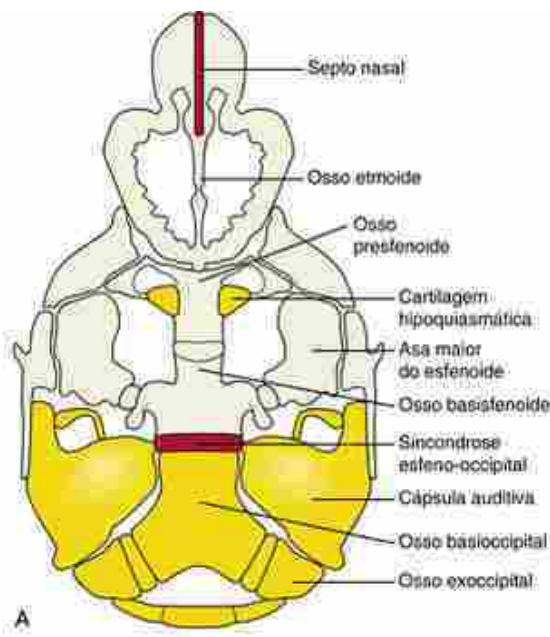


FIGURA 17-3 Origem do crânio humano a partir de ancestrais primitivos. **A**, Três pares de placas cartilaginosas formadas nos primeiros ancestrais: as cartilagens precordal, hipofisária e paracordal. Os órgãos sensoriais são protegidos pelas cápsulas sensoriais. A “cápsula óptica” consiste nas cartilagens alisfenoide, hipofiasmática e orbitosfenoide. **B**, A base do crânio em humanos, incluindo o basisfenóide e basioccipital, é derivada de três pares de placas cartilaginosas formadas nos primeiros ancestrais. O elemento mais posterior que contribui para a base craniana, o osso exoccipital, é derivado de somitos occipitais primitivos dos primeiros ancestrais.

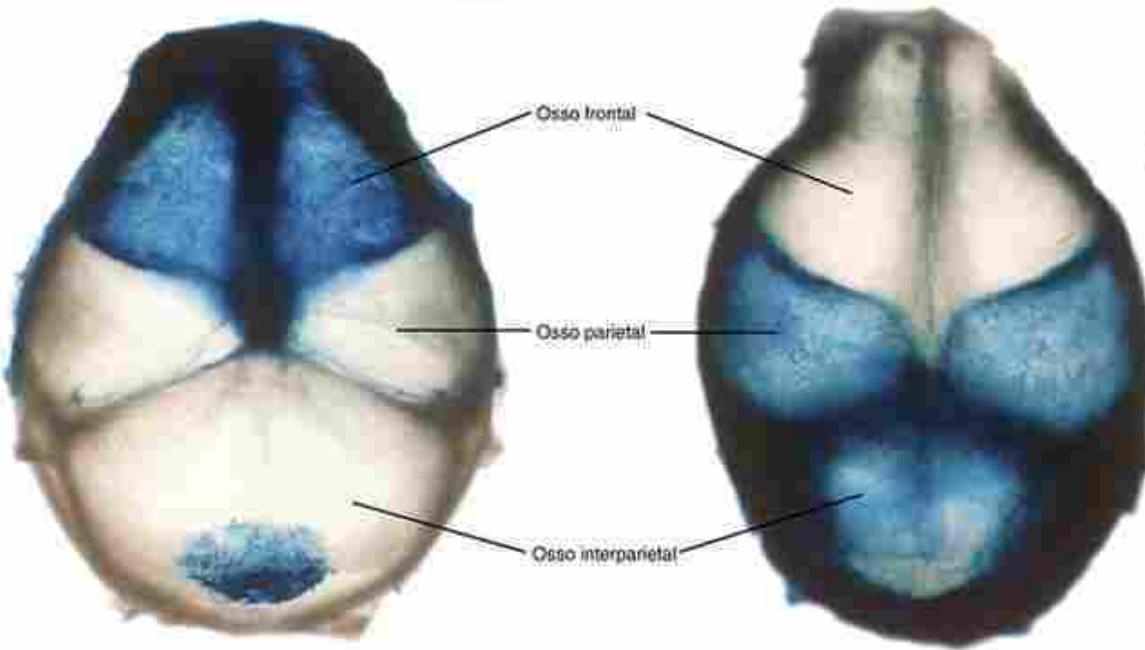
O par mais caudal dos elementos que contribuem para o condrocrâneo, as **cartilagens paracordais**, deriva do mesoderma paraxial não segmentado e é o primeiro par de elementos a se desenvolver. As duas cartilagens se fundirão através da linha média para formar a base do osso occipital (*i.e.*, o **osso basioccipital**, Fig. 17-3B). Os **somitos occipitais** (Fig. 17-3A) formam o **osso exoccipital** (Fig. 17-3B), que é, portanto, um elemento vertebral modificado derivado do mesoderma paraxial segmentado (Cap. 8). As **cápsulas perióticas** são derivadas dos centros de ossificação da **cápsula óptica** primitiva (Fig. 17-3A) que eventualmente irão formar as regiões do pétreo e do mastoide do osso temporal.

(Fig. 17-3B). O basioccipital, o exoccipital e os derivados da cápsula periótica acabarão unindo-se para formar o **osso occipital** circundando o **forame magno** (Fig. 17-3B).

As **cartilagens hipofisárias**, as cartilagens médias que contribuem para a base craniana, fundem-se para formar o **corpo do osso esfenoide** (*i.e.*, o **osso basisfenoide**; Fig. 17-3B). Do mesmo modo, a região posterior das **cartilagens precordais**, o par mais anterior dos elementos que contribui para o condrocrânio, forma o **osso presfenoide** (Fig. 17-4A). Esses ossos irão se unir com três cartilagens que se desenvolvem em torno do olho: a **cartilagem alisfenoide (ala temporal)** (Fig. 17-2A), a **cartilagem hipoquiasmática** (Fig. 17-4A) e a **cartilagem orbitosfenoide (ala orbital)**. A cartilagem alisfenoide, em última análise, contribuirá para a **asa maior do osso esfenoide**, enquanto as cartilagens **orbitosfenoide** e **hipoquiasmática** contribuem para a **asa menor do osso esfenoide** (Fig. 17-3B). Além disso, as **cartilagens precordais** formam o **osso etmoide**, que, em conjunto com o **osso nasal** e o **corneto**, encapsulam a **cavidade nasal** (Figs. 17-2A e 17-3).



A



B

Crista neural (Wnt1-cre/R26R)

C

Mesoderma (Mesp1-cre/R26R)

FIGURA 17-4 Origens do desenvolvimento dos ossos do crânio. A, Esboço mostrando as contribuições da crista neural (marrom-claro) e do mesoderma (amarelo) para a base craniana. Regiões de cartilagem que persistem após o nascimento e contribuem para o crescimento são mostradas em vermelho. B, C, Vistas dorsais do crânio mostrando as contribuições (coloração azul) da crista neural (Wnt1-cre/R26R) e das células mesodérmicas (Mesp1-cre/R26R) para a calota craniana. Em comparação com humanos, o osso interparietal em ratos ocupa uma proporção muito maior da calota craniana.

Ao nascimento, a maior parte da base craniana apresenta-se ossificada, mas duas regiões fundamentais da cartilagem que persistem são importantes para o crescimento pós-natal: o **septo nasal** e a **sincondrose esfeno-occipital (SEO)** (Fig. 17-4A). O septo nasal é importante para o crescimento da face superior até os 7 anos de idade, ao passo que a SEO contribui para o crescimento ao longo do eixo anteroposterior da base do crânio até a idade de 13 a 15 em meninas e 15 a 17 anos em meninos. A SEO consiste em uma placa de crescimento epifisário que cresce em duas direções (Cap. 8).

Os defeitos de desenvolvimento do condrocrânio são raros, apesar de uma mutação em um fator que controla a formação do osso endocondral também afetar o desenvolvimento da base craniana (o Cap. 8 apresenta cobertura adicional sobre a formação do osso endocondral). Como a base do crânio é ligada à mandíbula superior, isso terá uma consequência secundária no desenvolvimento da mandíbula superior, resultando em má oclusão dos molares superiores. Isso está ilustrado no Capítulo 8 (Fig. 8-1), que mostra uma menina com acondroplasia. Em adição ao

encurtamento dos ossos longos, um defeito no desenvolvimento da base craniana resulta em **hipoplasia da face média**.

A armadura de osso membranoso que recobre o crânio de nossos ancestrais písceos (peixes ósseos) é representada em humanos pelos ossos membranosos do crânio, consistindo em ossos chatos da **calota craniana**, ou **calvária**, assim como muitos ossos da face (Fig. 17-5, também Fig. 17-2). O mesênquima a partir do qual se desenvolvem é derivado de células da crista neural e do mesoderma (ver o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Origem da Cabeça dos Vertebrados”).

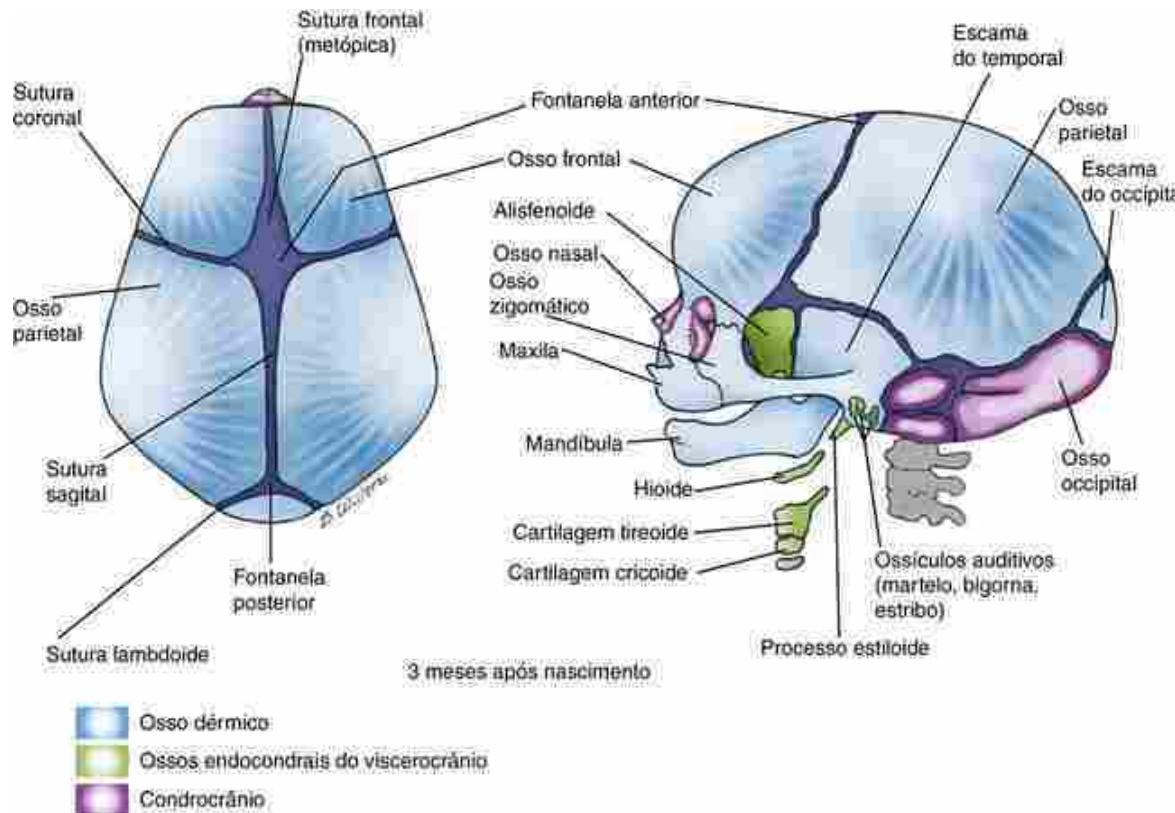


FIGURA 17-5 O encéfalo em humanos é mais fechado por ossos dérmicos da calota craniana, que são separados por suturas e fontanelas. Estes ossos não se fundem até a primeira infância. A não união das suturas permite que o crânio se deforme durante o nascimento e se expanda durante a infância conforme o crescimento do encéfalo.

Os ossos da calota craniana não completam seu crescimento durante a vida fetal. As suturas macias e fibrosas que se unem ao nascimento permitem que a calota craniana se deforme conforme passa através do canal no parto e permitem que elas continuem a crescer em todo o período neonatal e na infância. Seis dessas suturas ou **fontanelas** membranosas ocupam a área entre as extremidades da calota craniana ao nascimento (Fig. 17-5). As fontanelas posterior e a anterolateral, as menores das fontanelas, fecham-se perto dos 3 meses após o nascimento, enquanto as **fontanelas anterior** e a **posteriorlateral**, que são maiores, geralmente se fecham durante o segundo ano. A palpação da fontanela anterior pode ser utilizada para detectar pressão intracraniana elevada ou fechamento prematuro das suturas do crânio.

No Laboratório de Pesquisa

Origem da cabeça dos vertebrados

A “hipótese da nova cabeça” propôs que a cabeça dos vertebrados evoluiu pela adição de estruturas, derivadas das células da crista neural, cranial à notocorda. O traçado de linhagem celular, por exemplo, utilizando camundongo geneticamente modificado para rotular estruturas derivadas da crista neural e derivadas do mesoderma, confirmaram esta hipótese. Na base craniana, as estruturas que se desenvolveram ao redor e caudalmente à extremidade craniana da notocorda (*i.e.*, o osso occipital) são derivadas do mesoderma (amarelo; Fig. 17-4A). As estruturas que se formaram rostralmente para a notocorda (*i.e.*, os ossos esfenóide e etmoíde) são derivadas da crista neural (marrom-claro; Fig. 17-4A). Portanto, o limite crista neural-mesoderma encontra-se na interface

esfenoide-occipital, com uma exceção — a **cartilagem hipoquiasmática**, que proporciona a fixação para os músculos extraoculares, contribui para a formação do osso esfenoide e deriva do mesoderma, mesmo que ele se encontre rostral à notocorda (ilhas amarelas; Fig. 17-4A).

Esses estudos de traçados de linhagem revelaram as contribuições da crista neural e do mesoderma para a calota craniana e para os arcos faríngeos dos mamíferos. As células derivadas da crista neural contribuem para o **osso frontal** e para uma porção dos **ossos parietais** na calota craniana, enquanto o mesoderma forma os **ossos parietais** e a parte lateral dos **ossos interparietais** (Fig. 17-4B, C). As células da crista neural também são encontradas entre os pares de ossos parietais. Portanto, duas suturas (**suturas coronal** e **sagital**) são formadas na interface crista neural-mesoderma. Isso é significativo, porque as mutações que afetam a formação desses limites resultam em craniossinostose (ver adiante o quadro “Na Clínica” intitulado “Craniossinostose”). As células da crista neural também dão origem às cartilagens do arco faríngeo.

O condrocrânio é induzido a se formar em resposta aos sinais dos tecidos circundantes. No tronco, a notocorda, que expressa Shh, é fundamental para a formação do esqueleto axial (Cap. 8). Entretanto, as estruturas da base craniana anterior se desenvolvem cranialmente à notocorda. Portanto, elas devem se formar em resposta à sinalização de diferentes tecidos. A sinalização de Shh do encéfalo em desenvolvimento e/ou ectoderma facial é necessária para o desenvolvimento das estruturas da linha média da base do crânio, enquanto sinais de FGF do epitélio ótico e nasal induzem a formação de cápsulas óticas e nasais, respectivamente. Consequentemente, o tratamento de embriões de peixe-zebra com ciclopamina (um inibidor químico de sinalização de hedgehog) resulta em perda de ossos trabeculares. Do mesmo modo, a ablação do receptor de hedgehog, *smoothened* (Smo), na crista neural craniana em camundongos resulta em perda de estruturas da base craniana anterior. Portanto, parece que o encéfalo e o ectoderma induzem a formação da base craniana, e que redes de sinalizações similares controlam o desenvolvimento do tronco e das estruturas axiais cranianas.

Na Clínica

Craniossinostose

A **craniossinostose**, o fechamento prematuro das suturas, afeta aproximadamente 1 em 2.500 crianças. As suturas, que ocorrem onde dois ossos membranosos se encontram, contêm as células progenitoras que vão dar origem a novas células ósseas, os osteoblastos. Estes são os locais onde o crescimento dos ossos membranosos ocorre. A craniossinostose pode ser causada por mutações de genes ou anormalidades cromossômicas e está presente em diversas síndromes, incluindo as **síndromes de Crouzon, de Apert, de Pfeiffer, de Muenke e de Saethre-Chotzen**. A craniossinostose também pode ser uma consequência de fatores ambientais como um ambiente intrauterino restrito ou exposição a teratógenos.

As suturas sagital e coronal são as mais comumente afetadas. O fechamento de uma sutura provoca o aumento de crescimento na outra sutura, deformando, deste modo, o encéfalo e o crânio, os quais desenvolvem uma deformação característica dependendo da(s) sutura(s) que é fechada. Isso é mostrado na [Figura 17-6A](#). Aqui a sutura coronal foi fechada, de modo que a cabeça não pode crescer em comprimento, e, então, o desenvolvimento das forças do encéfalo ocorre ao longo de outras suturas. O resultado é uma deformidade do crânio, com possíveis alterações na função neurológica, aumento da pressão intracraniana e incapacidade de se alimentar e fechar os olhos, junto com anormalidades respiratórias e auditivas. **Doliccefalia** e **escafocefalia** são os termos utilizados para descrever crâneos longos e estreitos. **Acrocefalia** descreve um crânio em torre; **trigonocefalia** descreve um crânio triangular na porção frontal; **braquicefalia** descreve um crânio largo e achatado; e **plagiocefalia** descreve um crânio enviesado ([Fig. 17-6B](#)).

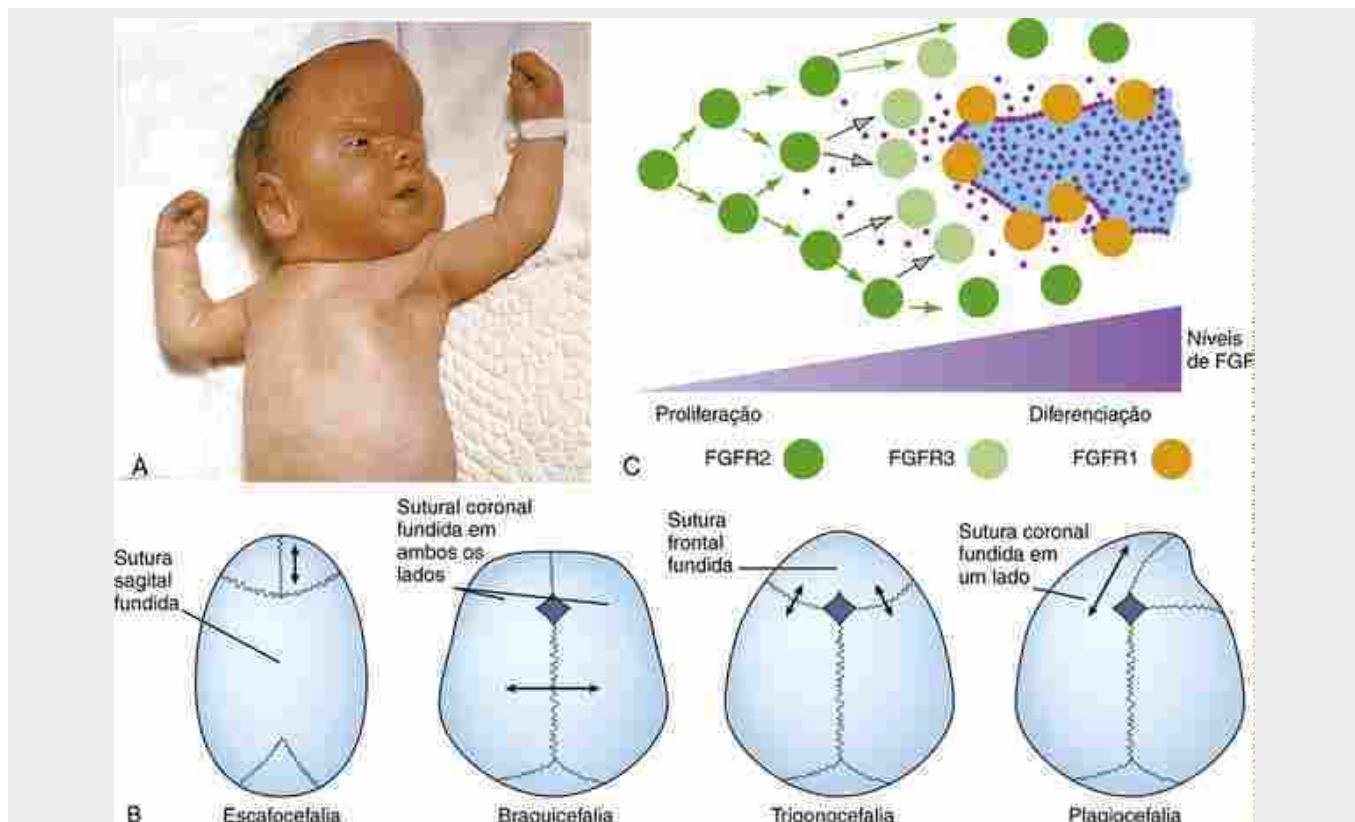


FIGURA 17-6 Desenvolvimento anormal do crânio, e eventos celulares e moleculares subjacentes ao desenvolvimento do crânio. **A**, Craniossinose ocorrendo na síndrome de Apert. Nesta criança, a sutura coronal fundiu-se prematuramente. Portanto, o crânio foi forçado a adotar uma forma de “crânio em torre” (acrocefálico) para acomodar o crescimento do encéfalo. **B**, Craniossinose resulta em diferentes formas de crânio, dependendo de qual sutura é afetada. Seguindo o fechamento prematuro de cada sutura individual, as setas indicam a direção predominante do crescimento. **C**, Diagrama mostrando a expressão de FGFs (pontos roxos) e FGFR1, 2 e 3 em uma sutura. Os níveis de FGF são elevados na interface óssea, com níveis menores no mesênquima da sutura. O crescimento ósseo é controlado pelo equilíbrio do nível de sinalização de FGF com uma dose baixa, aumento da proliferação e uma dose alta, promovendo a diferenciação óssea. Portanto, o aumento da sinalização de FGF que ocorre em muitas síndromes de craniossinose causa fechamento prematuro das suturas.

As causas genéticas mais comuns de **síndromes de craniossinose** são mutações em (1) RECEPTORES DE FGF 2 (síndromes de Apert, de Crouzon e de Pfeiffer) e 3 (síndromes de Muenke e de Crouzon com acantose nigricans); (2) o fator de transcrição, TWIST (síndrome de Saethre-Chotzen); e (3) um ligante ligado à membrana, EFRINA-B1 (EFNB1) (síndrome craniofrontonasal; Fig. 17-7A). A síndrome de Pfeiffer é altamente variável, mas a forma mais grave é caracterizada por sinostoses múltiplas (união de ossos separados para formar um único osso) que estão associadas a alta mortalidade. Características distintivas da mão e da face podem ser utilizadas para auxiliar no diagnóstico inicial da síndrome. Por exemplo, a síndrome de Pfeiffer é definida por um polegar e um dedão do pé largo, a síndrome de Apert por sindactilia e a síndrome craniofrontonasal por unhas rachadas (Cap. 20).



FIGURA 17-7 Crianças com dois tipos de malformações craniofaciais. A, Displasia craniofrontonasal.

Esta criança apresenta hipertelorismo, uma expansão da linha média e um sulco nasal central. Esta síndrome também é caracterizada por craniossinostose coronal bilateral ou unilateral, pois o limite crista neural-mesoderma não se forma na sutura coronal. B, Uma criança com holoprosencefalia. Este espectro de malformações tem gravidade variada, desde defeitos menores da face média até malformações extremamente devastadoras. Nesta criança, podem ser observados estreitamento da face superior e uma única narina.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos moleculares de craniossinostose

Como descoberto há pouco tempo, as mutações nos RECEPTORES FGF (FGFR1, 2, e 3) resultam em craniossinostose. Todas essas mutações causam um ganho de função na sinalização de FGF devido à ativação constitutiva dos receptores (*i.e.*, essas mutações resultam em um aumento na sinalização do FGF). Os FGFs são expressos na frente osteoblástica de ossos membranosos (Fig. 17-6C). Portanto, altos níveis de sinalização são encontrados nas células adjacentes ao osso, enquanto baixos níveis são encontrados no mesênquima da sutura (Fig. 17-6C). Os receptores cognatos são expressos no mesênquima da sutura (FGFR2) e nos osteoblastos em diferenciação (FGFR1 e 3; Fig. 17-6C).

A sinalização de FGF tem dois papéis no desenvolvimento da sutura. Baixos níveis de FGFs no mesênquima da sutura promove a proliferação celular, enquanto altos níveis promovem a diferenciação dos osteoblastos. Portanto, a taxa de osteogênese é cuidadosamente controlada pelo equilíbrio do nível de sinalização de FGF (Fig. 17-6C). O aumento da sinalização de FGF por meio da ativação constitutiva de receptores diminui a proliferação celular e acelera a diferenciação osteoblástica, resultando em sinostose através das suturas (*i.e.*, fechamento prematuro das fontanelas). Em modelos de ratos com craniossinostose, a administração de inibidores farmacológicos da via de FGF durante a gravidez e após o nascimento impede o fechamento prematuro das suturas. Tais abordagens podem, eventualmente, permitir intervenção não cirúrgica ou cirúrgica reduzida para o tratamento de craniossinostose em humanos. Curiosamente, as mutações do FGFR2 e 3 são geralmente herdadas como novas mutações espontâneas através da linhagem paterna, aumentando em frequência com a idade paterna. Essa tal mutação no FGFR2 (uma mutação que causa **síndrome de Apert**) aumenta a expansão clonal de espermatogônia mutante, aumentando assim o número de espermatozoides que transportam a mutação.

As mutações EFNB1 e TWIST afetam especificamente a sutura coronal. Estudos de traçado de linhagem a longo prazo em camundongos demonstraram que a sutura coronal surge na interface da célula da crista neural-mesoderma (Fig. 17-4B, C). O osso frontal é derivado da crista neural, enquanto o osso parietal adjacente e o mesênquima da sutura coronal são derivados do mesoderma. O mesênquima derivado da crista neural e o

mesoderma apresentam diferentes propriedades de adesão celular e não se misturam, criando, assim, um limite acentuado. Essas distintas propriedades são controladas pela expressão diferencial de ligantes de efrina e seus receptores Eph nos tecidos derivados da crista neural e do mesoderma (Fig. 8-5 no Cap. 8 e Fig. 20-29 no Cap. 20, bem como nos Caps. 9, 13, 14, para outros exemplos de expressão diferencial de ligante de efrina e receptores de Eph inibindo mistura de células). Mutações na via de sinalização de efrina e *twist*, que regulam a expressão de efrina, afetarão a formação desse limite.

A **displasia craniofrontonasal**, causada pela mutação EFNB1, é uma síndrome incomum ligada ao X em que mulheres heterozigotas mostram fenótipos mais graves do que homens hemizigotos. O EFNB1 ligante da efrina é especificamente expresso na crista neural e impede a mistura das células derivadas da crista neural com células do mesoderma. Em mulheres heterozigotas, o osso frontal irá consistir em uma mistura de células que expressam tanto uma cópia do gene EFNB1 funcional quanto uma proteína EFNB1 não funcional mutante. As células que expressam o gene EFNB1 normal apresentam adesão celular e propriedades de sinalização diferentes das células que expressam gene EFNB1 não funcional, de tal modo que as duas populações irão aglutinar e segregar: o resultado é que algumas dessas células cruzam e ultrapassam o limite da sutura. Características adicionais da displasia craniofrontonasal incluem hipertelorismo grave (olhos amplamente espaçados) e ponta nasal bífida em mulheres (Fig. 17-7A).

Na Clínica

Holoprosencefalia

A **holoprosencefalia (HPE)** é o defeito de desenvolvimento mais comum do encéfalo anterior, afetando 1 em 16.000 nascimentos, e estima-se que 1 em 250 fetos. É resultado de uma perturbação na padronização inicial do encéfalo anterior (Fig. 17-7B). O espectro de fenótipos é amplo e existe uma expressividade variável, que significa que a mesma mutação pode produzir resultados fenotípicos diferentes. Isso indica a possibilidade de genes modificadores silenciosos e o fato de que a HPE deve ser vista como um distúrbio de **multievento** ou **digênica**. É estimado que aproximadamente 30% dos indivíduos com mutações relacionadas à HPE não apresentam fenótipo.

A HPE pode ser classificada em cinco formas: **alobar**, **lobar**, **semilobar** e **microforma**, que são formas clássicas de HPE, e **MIH (forma inter-hemisférica média)**; também conhecida como **sintelencefalia**). Em sua forma mais grave, a HPE alobar, apenas um lóbulo cerebral simples é formado (daí o nome da condição), em vez de hemisférios pareados direito e esquerdo. Defeitos dos nervos olfatórios, bulbos olfatórios, tratos olfatórios, córtex olfatório basal e estruturas associadas, incluindo o lóbulo límbico, hipocampo e corpos mamílares também podem ocorrer. O corpo caloso é por vezes afetado; a parte posterior do encéfalo é geralmente normal. Com frequência, pacientes com HPE alobar morrem no primeiro ano. Nas formas mais leves de HPE, HPE semilobar e lobar, a separação parcial do único lobo cerebral é observada. Em MIH, o prosencéfalo anterior desenvolve-se normalmente, mas os hemisférios não conseguem se separar nas regiões parietal posterior e frontal.

Exceto para MIH, os defeitos no encéfalo anterior são acompanhados por um espectro de anormalidades faciais que frequentemente, mas nem sempre, refletem a gravidade do defeito no prosencéfalo. As anomalias faciais típicas da holoprosencefalia incluem nariz achatada, **hipotelorismo** ocular (olhos pouco espaçados), filtro deficiente ou fenda labial, arcada grande ou fenda palatina e microcefalia (crânio pequeno) (Fig. 17-7B). Particularmente, casos graves envolvem defeitos dramáticos de estruturas faciais com origem na proeminência frontonasal, mais observada em placoides nasais (o desenvolvimento da face é abordado em detalhes posteriormente neste capítulo). Falhas na formação do processo nasal medial resultam em agenesia dos processos intermaxilares e redução ou ausência de outras estruturas da face média, como ossos nasais, septo nasal e osso etmoide. A consequência pode ser a **cebocefalia** (uma única narina; Fig. 17-7B) e, em caso mais extremo, a **ciclopia** (um único olho na linha média). Os casos leves de holoprosencefalia são caracterizados por anomalias relativamente mínimas do terço médio da face e por **trigonocefalia**, uma forma de crânio triangular que se desenvolve como resultado do fechamento prematuro (sinostose) da sutura entre os ossos frontais e causa compressão dos hemisférios encefálicos em crescimento (Fig. 17-6B). Ocionalmente, a presença de um único incisivo central e a perda do frênuco maxilar na linha média são os únicos indicadores de um fenótipo de holoprosencefalia. Em **HPE de microforma**, ocorrem anormalidades faciais leves na ausência de defeitos no encéfalo anterior.

Pelo menos 12 *loci* genéticos foram implicados na holoprosencefalia em humanos, e mutações em nove genes nestes *loci* foram identificadas. Destas, quatro são componentes da via de sinalização SONIC HEDGEHOG (SHH, PTC1, GLI2 e DISP1: DISPATCHED HOMOLOG 1). Mutações em SHH e em três fatores de transcrição, ZIC2, SIX3 e FATOR ATUANTE NO FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMANTE (TGIF), são as causas genéticas que

provocam a síndrome de HPE não sindrômica.

A holoprosencefalia é também uma característica de mais de 25 síndromes e é observada em 5% dos pacientes com síndrome de Smith-Lemli-Opitz. A síndrome de Smith-Lemli-Opitz afeta cerca de 1 em 9.000 nascimentos (vivos e natimortos) e é o resultado de uma mutação no gene DHCR7, que codifica a 7-DESIDROCOLESTEROL REDUTASE, uma enzima envolvida na penúltima etapa da síntese de colesterol. Uma modificação do Shh por colesterol é necessária para a atividade completa do Shh ([Cap. 5](#)); assim, acredita-se que alguns fenótipos de Smith-Lemli-Opitz são devidos à perda de sinalização de hedgehog.

Agentes ambientais associados à HPE incluem exposição materna ao **álcool**, o excesso de **vitamina A** ou de **estatinas** e o **diabetes materno**. Filhos de mães diabéticas apresentam um risco de holoprosencefalia que pode ser tão alto quanto 1%.

Por outro lado, algumas síndromes apresentam **hipertelorismo** (olhos amplamente espaçados) como um componente. Isso é observado na **displasia craniofrontonasal**, resultante de mutações no EFNIB1 (EFRINA-B1; [Fig. 17-7A](#)); na **síndrome de Gorlin**, resultante de mutações no PTC1; e na **cefalopolissindactilia de Greig**, resultante de mutações em GLI3. Como Gli3 e Ptc1 são componentes da via de Shh e podem reprimir a sinalização de Shh, acredita-se que o hipertelorismo observado na cefalopolissindactilia de Gorlin e Greig é devido ao ganho de sinalização de Shh (ver posteriormente quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Linha Média Craniana e HPE”).



No Laboratório de Pesquisa

Linha média craniana e hpe

O estabelecimento da linha média craniana envolve três etapas principais durante o desenvolvimento ([Fig. 17-8A](#)): (1) formação da placa precordal durante a gastrulação; (2) sinalização a partir da placa precordal para o encéfalo anterior sobrejacente, que inicialmente consiste em um único lóbulo cerebral ([Cap. 9](#)), para dividir o encéfalo anterior em dois lóbulos encefálicos; ablação cirúrgica da placa precordal, que resulta em ciclopia, devido à perda desta sinalização; e (3) sinalização pelo encéfalo anterior para o ectoderma facial em estágios de pós-neurulação para induzir e/ou manter a expressão do gene nesta área. A sinalização pelo ectoderma facial regula o crescimento da proeminência frontonasal durante a formação posterior da linha média da face (o desenvolvimento da face é discutido posteriormente neste capítulo).

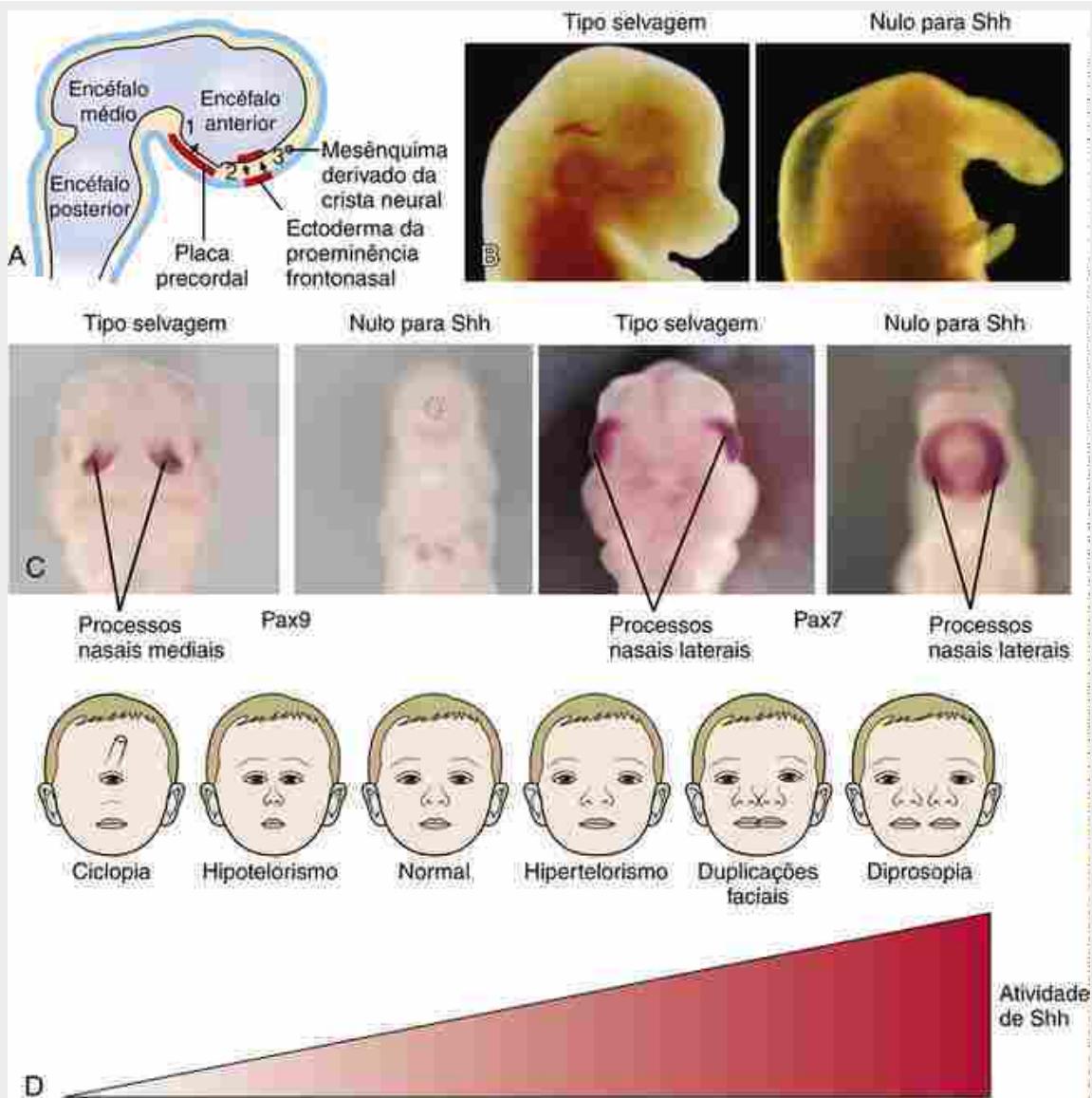


FIGURA 17-8 O papel de Shh durante o estabelecimento da linha média. **A**, Shh é necessário nos três estágios do desenvolvimento facial (expressão de Shh é mostrada em vermelho e as setas indicam as direções de sinalização; ver texto para detalhes). **B, C**, Vista lateral (**B**) e frontal (**C**) da cabeça de camundongo tipo selvagem e mutantes Shh. No mutante Shh, as estruturas faciais não estão bem definidas e há tromba, os processos nasais mediais (mostrados pela expressão Pax9) não estão presentes e os processos nasais laterais (mostrados pela expressão Pax7) encontram-se na linha média. **D**, Níveis de sinalização de Shh controlam o espectro de padronização de anormalidades na linha média. A ausência de sinalização de Shh resulta em ciclopia e HPE alobar, enquanto o aumento de sinalização de Shh pode resultar em diprosopia.

A utilização de diferentes modelos animais revelou como as mutações genéticas resultam em HPE. Em humanos, as mutações de SHH são as principais causas genéticas de HPE não sindrômica. Em modelos animais, o Shh é expresso, e é necessário, na placa precordial, encéfalo anterior e ectoderma facial para estabelecer a linha média (Fig. 17-8A). Evidenciando claramente a importância da via de Shh, camundongo mutante Shh^{-/-} exibiu ciclopia e desenvolveu uma probóscide (Fig. 17-8B). O desenvolvimento da face superior normalmente consiste em processos nasais mediais e nasais laterais (Fig. 17-8C; também Fig. 17-18). Em mutantes de Shh, um colapso total da linha média é demonstrado pela perda dos processos nasais mediais (Fig. 17-8C). Com a perda desses processos, os processos nasais laterais tornam-se posicionados na linha média da face superior (Fig. 17-8C). A perda de fatores envolvidos na sinalização de Shh, como *dispatched*, que é necessária para o transporte de Shh para fora da célula, e Sil, um fator intracelular necessário para ativar o receptor Smo, também resulta em fenótipo de holoprosencefalia em camundongo.

Durante o estabelecimento da linha média, a sinalização de Shh é necessária em primeiro lugar na região da placa precordial, para dividir um único primórdio do olho na linha média do prosencéfalo em territórios de olho (expressando Pax6) e não olho (não expressando Pax6) (Fig. 17-8A). A expressão de Shh também mantém a sobrevivência das células da placa precordial e ativa a expressão de Shh no diencéfalo em desenvolvimento (Fig. 17-

[8A](#)). À medida que a placa precordial também expressa outros fatores necessários para a padronização da linha média, tais como o antagonista Wnt, Dkk1 e o antagonista Bmp, noggin, a perda da sinalização de Shh resulta na perda de fatores adicionais necessários para o desenvolvimento da linha média. Posteriormente, a sinalização do diencéfalo ativa a expressão de Shh no ectoderma da proeminência frontonasal e cria uma única zona denominada zona ectodérmica frontonasal (ZEF; ver adiante quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Padronização das Proeminências Faciais”), que é necessária para o crescimento proximodistal e a padronização dorsoventral da face superior ([Fig. 17-8A](#)). A indução de Shh no ectoderma facial exige a presença de células da crista neural que migram para a proeminência da face superior. A aplicação de anticorpos bloqueadores de Shh no diencéfalo ou na proeminência frontonasal em desenvolvimento de embriões de pintos resulta em hipotelorismo, demonstrando que ambos os domínios de expressão de Shh são necessários para o desenvolvimento apropriado da linha média.

O tratamento de embriões de pintos em desenvolvimento com ciclopamina, um inibidor da sinalização de hedgehog, mostrou que a perda precoce de função de Shh no desenvolvimento (p. ex., na placa precordial) apresentou um efeito com mais gravidade do que a perda de função em um estado mais avançado do desenvolvimento (p. ex., no ectoderma facial). Como a HPE é consequência da haploinsuficiência (*i.e.*, a presença de um gene mutante e um alelo do tipo selvagem), isso poderia, em parte, explicar o espectro de fenótipos observado como um resultado de mutações de Shh. Uma lesão ambiental, como a exposição *in utero* ao álcool ou ao ácido retinoico, poderia regular negativamente a expressão do alelo tipo selvagem da Shh, diminuindo ainda mais os níveis de Shh. No início, as lesões ambientais teriam consequências mais graves, afetando o encéfalo anterior e subsequentemente a proeminência facial, enquanto lesões posteriores poderiam afetar apenas as estruturas faciais, resultando, assim, em formas mais leves de HPE.

Mutações em genes modificadores silenciosos podem também determinar a variação fenotípica de determinadas mutações de Shh. A gravidade do defeito de Shh seria dependente de quando e onde esses genes modificadores silenciosos são expressos. Os genes modificadores, que incluem componentes ou reguladores de via de Shh, tais como moléculas de superfície celular Gas1 e Cdo, são expressos nos locais distantes da fonte de Shh e a eles é creditado o aumento dos níveis de sinalização de Shh.

Por outro lado, o ganho de função de sinalização de Shh resulta na expansão da linha média. A superexpressão de Shh no diencéfalo ou no ectoderma da proeminência em embriões de pintos resulta em uma expansão da linha média. Por isso, acredita-se que os níveis de sinalização de Shh podem definir um espectro de distúrbios faciais de ciclopia para diprosopia — a duplicação das estruturas da face ([Fig. 17-8D](#)).

Mutações em TGIF, ZIC2 e SIX3 também resultam em perda de sinalização de Shh, explicando como sua perda de função provoca HPE. TGIF e ZIC2 são necessários para o desenvolvimento da placa precordial. Portanto, as mutações nesses fatores resultam em perda precoce de sinalização de Shh. Six3 regula diretamente a expressão Shh no encéfalo anterior e, portanto, afeta estágios posteriores da padronização da linha média.

A forma MIH da HPE é causada por uma variante hipomórfica de ZIC2. Zic2 induz a formação de placa do teto do tubo neural, que expressa Bmps importantes para a padronização do eixo dorsiventral do encéfalo em desenvolvimento ([Caps. 4 e 9](#)).

Desenvolvimento dos arcos faríngeos

Os arcos faríngeos evoluíram a partir de arcos branquiais de peixes sem mandíbula e foram evolutivamente conservados. Estes arcos formam-se durante a embriogênese de todos os vertebrados. Em vertebrados com mandíbulas, o primeiro arco dá origem à mandíbula inferior e a parte da mandíbula superior. Os arcos restantes formam as brânquias nos peixes modernos e muitas estruturas da face e do pescoço em seres humanos.

Aparelho faríngeo

Em embriões humanos estão incluídos quatro pares de arcos faríngeos bem definidos numerados como 1, 2, 3 e 4. O quinto arco nunca se forma em seres humanos ou se forma como um rudimento de curta duração e que prontamente regide, e evidências para a presença de um sexto arco verdadeiro são questionadas ([Fig. 17-9](#)). Como tantas outras estruturas do corpo, os arcos faríngeos formam-se no sentido craniocaudal: o primeiro arco forma-se no 22º dia; o segundo e o terceiro arcos formam-se sequencialmente no 24º dia; e o quarto e quinto arcos formam-se sequencialmente no 29º dia.

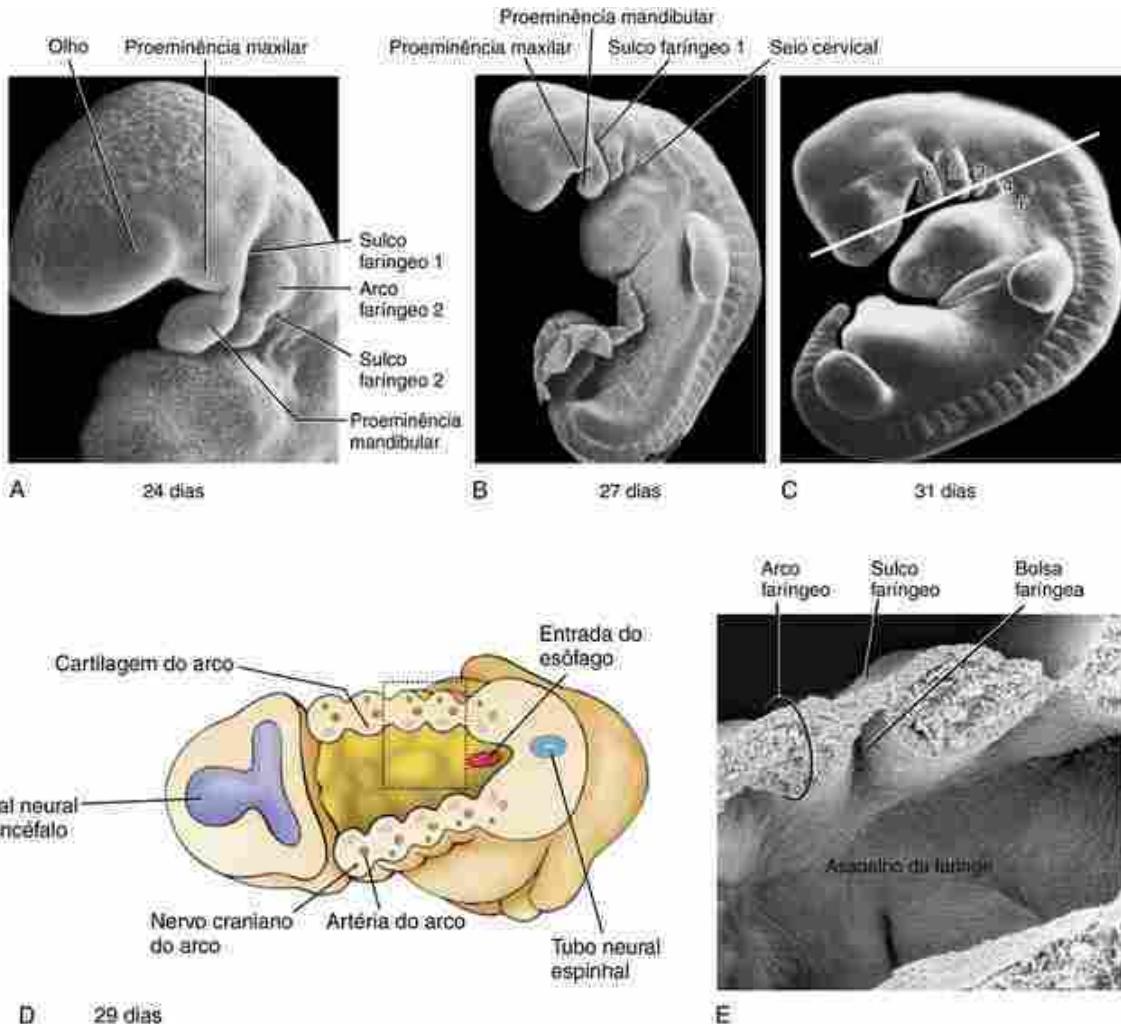


FIGURA 17-9 Formação dos arcos faríngeos. Os arcos faríngeos formam-se em sequência craniocaudal durante a 4^a e 5^a semanas. **A**, Por volta do 24º dia, os dois primeiros arcos estão formados, assim como as proeminências maxilares e mandibulares. **B**, Por volta do 27º dia, os primeiros três arcos estão formados. **C**, No início da 5^a semana, todos os cinco arcos estão formados. A linha indica o plano de corte mostrado (em estágio ligeiramente anterior) na parte **D**. **D**, Corte esquemático transversal através dos arcos faríngeos, mostrando a cartilagem, artéria e nervo craniano em cada arco. O quadro indica a região ampliada em **E**. **E**, Eletromicrografia de varredura de um corte semelhante ao mostrado em **D**.

Os arcos faríngeos consistem em um centro mesenquimal (mesoderma e células da crista neural) que é recoberto externamente com ectoderma e revestido no interior por endoderma (Fig. 17-9D, E). Cada arco contém (1) um elemento esquelético cartilaginoso central (derivado de células da crista neural); (2) rudimentos de músculo estriado (derivado do mesoderma da cabeça) inervados por nervos cranianos específicos de cada arco; e (3) uma artéria do arco aórtico (Cap. 13).

Os arcos faríngeos de embriões humanos inicialmente lembram os arcos branquiais de peixes, exceto pelo fato de que eles nunca se tornam perfurados para formar fendas branquiais. Em vez disso, as **fissuras** ou **sulcos faríngeos** externos entre os arcos permanecem separados das **bolsas faríngeas** internas, justapostas por finas **membranas faríngeas**. Essas membranas são **inicialmente** em duas camadas, consistindo em ectoderma e endoderma; elas são posteriormente infiltradas por células mesenquimais.

Cartilagens dos arcos faríngeos e origem dos elementos esqueléticos

As cartilagens que se formam dentro dos arcos faríngeos desenvolvem-se de células da crista neural originárias de regiões do encéfalo médio e do encéfalo posterior. Como descrito no Capítulo 4, as células da crista neural surgem de pregas neurais e migram ventrolateralmente. Na região do tronco, sua migração ocorre principalmente pelo movimento ativo de células da crista neural. Na cabeça, a migração também envolve o movimento ativo de células da crista neural. Mas, em contraste com as células da crista neural do tronco, a migração de células da crista neural da cabeça também envolve um componente passivo, no qual o deslocamento ventral de tecido adjacente transloca ventralmente as células da crista neural.

A Figura 17-10 e a Tabela 17-1 ilustram e resumem, respectivamente, os elementos esqueléticos derivados das cartilagens dos arcos faríngeos.

Tabela 17-1

Derivados dos arcos faríngeos e seus tecidos de origem

Arco Faríngeo	Artéria do Arco ^a	Elementos Esqueléticos	Músculos	Nervo Craniano ^b
1	Ramo terminal da artéria maxilar	Derivados das cartilagens do arco (originários das células da crista neural): da cartilagem maxilar; alisfenoide, bigorna Da cartilagem de Meckel: martelo Derivados por ossificação direta do mesênquima dérmico do arco: maxila, zigomático, porção escamosa do osso temporal, mandíbula (originária de células da crista neural)	Músculos da mastigação (temporal, masseter, pterigoide medial e lateral), milo-hióideo, ventre anterior do digástrico, tensor do tímpano, tensor do véu palatino (originário do mesoderma da cabeça)	Divisões maxilares e mandibulares do nervo trigêmeo (V)
2	Artéria estapédica (embrionária), artéria caroticotimpânica (adulto)	Estribos, processo estiloide, corno menor e parte do corpo do hioíde (derivado da cartilagem do segundo arco [de Reichert]; originária de células da crista neural)	Músculos de expressão facial (orbicular do olho, orbicular da boca, risório, platisma, auricular, frontal e bucinador), ventre posterior do digástrico, estilo-hióideo, estapédio (originário do mesoderma da cabeça)	Nervo facial (VII)
3	Artéria carótida comum, raiz da carótida interna	Borda inferior e parte do corpo do hioíde (derivado da cartilagem do terceiro arco; originária da crista neural)	Estilosfaríngeo (originário do mesoderma da cabeça)	Nervo glossofaríngeo (IX)
4	Arco da aorta (lado esquerdo), artéria subclávia direita (lado direito); brotos originais de artérias pulmonares	Cartilagem tireoide e laríngea da epiglote (derivada da cartilagem do quarto arco; originária de células da crista neural)	Constritores da faringe, cricotireóideo, levantador do véu palatino (originário de somitos occipitais)	Ramo laríngeo superior do nervo vago (X)
6	Ducto arterioso; raízes das artérias pulmonares definitivas	Remanescentes das cartilagens laríngeas (derivadas da cartilagem do sexto arco; incerto se eles se originam da crista neural ou mesoderma)	Músculos intrínsecos da laringe (exceto o cricotireóideo, originário de somitos occipitais)	Ramo laríngeo recorrente do nervo vago (X)

^a O desenvolvimento da artéria do arco aórtico é discutido no Capítulo 13.

^b O desenvolvimento do nervo craniano é discutido no Capítulo 10.

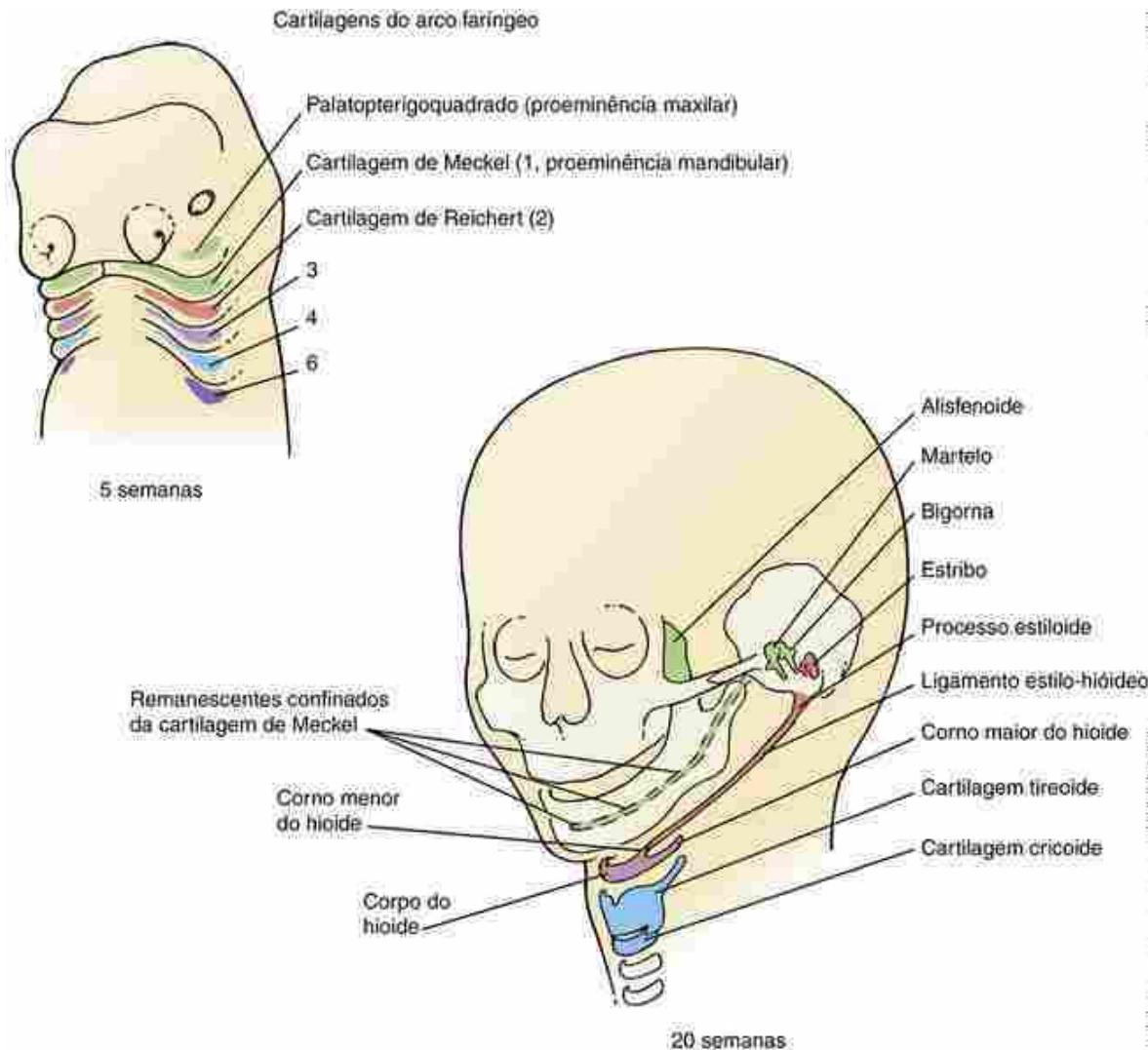


FIGURA 17-10 Destino das cartilagens dos arcos faríngeos. Estas cartilagens dão origem ao alisfenoide (um pequeno osso da órbita), aos elementos do esqueleto da mandíbula, aos três ossículos auditivos e ao esqueleto do hioide e da laringe.

O primeiro arco faríngeo apresenta dois pares de proeminências associadas: **proeminências mandibulares e maxilares** (ou saliências; Fig. 17-9A-C), que dão origem à mandíbula inferior e a parte da mandíbula superior, respectivamente. Embora se acreditasse que as proeminências maxilares desenvolvessem a partir de ramificações dos primeiros arcos faríngeos, sabe-se agora que as proeminências maxilares surgem do mesênquima cranial ao primeiro arco. Cada par de proeminências maxilares e mandibulares contém um elemento cartilaginoso central transitório. A cartilagem central de cada proeminência maxilar é a **barra palatopterigoquadrada**, e a cartilagem central de cada proeminência mandibular é a **cartilagem de Meckel** (Fig. 17-10). Essas cartilagens surgem entre o 41º e o 45º dia. Ambas as proeminências, maxilar e mandibular, são formadas em grande parte a partir de células da crista neural que migram das pregas neurais do encéfalo médio (mesencéfalo) e do rombencéfalo cranial (metencéfalo) (discutido posteriormente neste capítulo).

A maior parte da **cartilagem de Meckel** desaparece, sendo reabsorvida ou se tornando encapsulada pelo desenvolvimento do osso mandibular. Entretanto, a parte proximal forma o **martelo**, o **ligamento esfenomandibular** e o **ligamento anterior do martelo** (Fig. 17-10). A cartilagem maxilar (barra palatopterigoquadrada) forma a **bigorna** e um pequeno osso, denominado **alisfenoide**, localizado na parede orbital (Fig. 17-10; ver também Figs. 17-2A e 17-5). Esses derivados são circundados pela maxila, pelo ziomático e por porções escamosas dos ossos temporais, que, juntamente com a mandíbula, são todos ossos membranosos. Portanto, a maior parte das estruturas do esqueleto facial é derivada de ossos de origem membranosa.

A cartilagem do segundo arco faríngeo forma-se a partir de células da crista neural que migram das pregas neurais no nível do rombômero 4 do encéfalo posterior (rombômeros são discutidos no Cap. 9; Fig. 17-14). Depois da evolução das mandíbulas, as cartilagens do segundo arco são recrutadas como elementos de apoio para auxiliar o suporte das mandíbulas e fixá-las no neurocrânio. A cartilagem humana do segundo arco, que é denominada **cartilagem de Reichert**, surge entre o 45º e o 48º dia. Este arco acabará por formar o **estribo** da orelha média, o **processo estiloide** do

osso temporal, o **ligamento estilo-hióideo** fibroso e os **cornos (chifres) menores** e parte do **corpo do osso hioide** (linha média e regiões que articulam com os cornos maiores; [Fig. 17-10](#)). O osso hioide é estabilizado por ligações musculares do processo estilóide com a mandíbula; através de suas ligações musculares com a laringe e a língua, sua função é exercida tanto na deglutição quanto na vocalização.

A cartilagem do terceiro arco faríngeo é formada a partir de células da crista neural que migram da região caudal do encéfalo posterior (mielencéfalo). A ossificação desta cartilagem ocorre através de processo endocondral para formar os **cornos maiores (chifres)** e parte do **corpo do osso hioide** ([Fig. 17-10](#)).

O quarto e o sexto arcos faríngeos dão origem à **laringe**, consistindo nas **cartilagens tireoide, cuneiforme, corniculada, aritenoides e cricoide** ([Fig. 17-10](#)). A cartilagem tireoide é derivada da crista neural do quarto arco. As **cartilagens da epiglote** não se formam até o 5º mês, muito depois das outras cartilagens do arco faríngeo serem formadas. Estas cartilagens também surgem a partir da crista neural do quarto arco. Se as cartilagens restantes da laringe surgem a partir da crista neural ou do mesoderma, a origem ainda é incerta.

Desenvolvimento da articulação temporomandibular

Em todos os vertebrados com mandíbula, exceto nos mamíferos, a articulação da mandíbula é formada de ossos endocondrais que se desenvolvem das cartilagens maxilar e mandibular, mesmo que outras partes da mandíbula possam ser formadas de ossos membranosos. Entretanto, entre os ancestrais diretos dos mamíferos, uma segunda e nova articulação da mandíbula desenvolveu-se entre dois ossos membranosos: o temporal e o mandibular. Como esta nova **articulação temporomandibular (ATM)** tornou-se dominante, os ossos da antiga articulação mandibular endocondral deslocaram-se para a orelha média adjacente e junto com o estribo preexistente formaram nos mamíferos um mecanismo auditivo exclusivo com três ossículos.

Os componentes e as cavidades da ATM são estabelecidos por volta da 14ª semana de gestação. A ATM consiste em uma articulação sinovial entre o **côndilo mandibular** e o **blastema glenoide** (associado ao osso temporal), que são separados por um **disco interarticular**. A articulação forma-se na 9ª semana, começando com o desenvolvimento do processo condilar na mandíbula. Uma semana depois, a cartilagem condilar está formada e os blastemas dos ossos temporais começam seu desenvolvimento. Neste momento, a cartilagem condilar e o osso temporal estão separados pela condensação do disco interarticular. A cavitação inicia-se na 10ª semana em duas ondas: primeiro entre o processo condilar e o disco interarticular, formando o **espaço articular inferior**; e então (1 semana depois), entre o disco e o osso temporal, formando o **espaço articular superior**.

A cartilagem condilar é distinta das cartilagens endocondrais, pois ela tem origem dentro do periosteio de um osso membranoso. Ela é uma das diversas cartilagens, denominadas **cartilagens secundárias**, que se desenvolvem desta maneira durante o crescimento facial. As cartilagens secundárias apresentam propriedades únicas, incluindo o seu crescimento em resposta à estimulação mecânica. Ao contrário de algumas outras cartilagens secundárias faciais, a cartilagem condilar permanece após o nascimento e tem um papel significativo no crescimento pós-natal da mandíbula inferior.

Origem do suprimento vascular

Como discutido em detalhes no [Capítulo 13](#), o sistema arterial do arco aórtico inicialmente se forma com um arranjo denominado **saco aórtico**, semelhante a uma rede de cinco pares de artérias que surgem da expansão no final da via de saída. Estas artérias conectam o par da aorta ventral com o par de aortas dorsais ([Fig. 17-11](#)). Este sistema é remodelado para produzir as grandes artérias do tórax e os ramos que suprem a cabeça e o pescoço (ilustrado na [Fig. 17-11](#) e resumido na [Tabela 17-1](#); o [Cap. 13](#) apresenta detalhes desta remodelação).

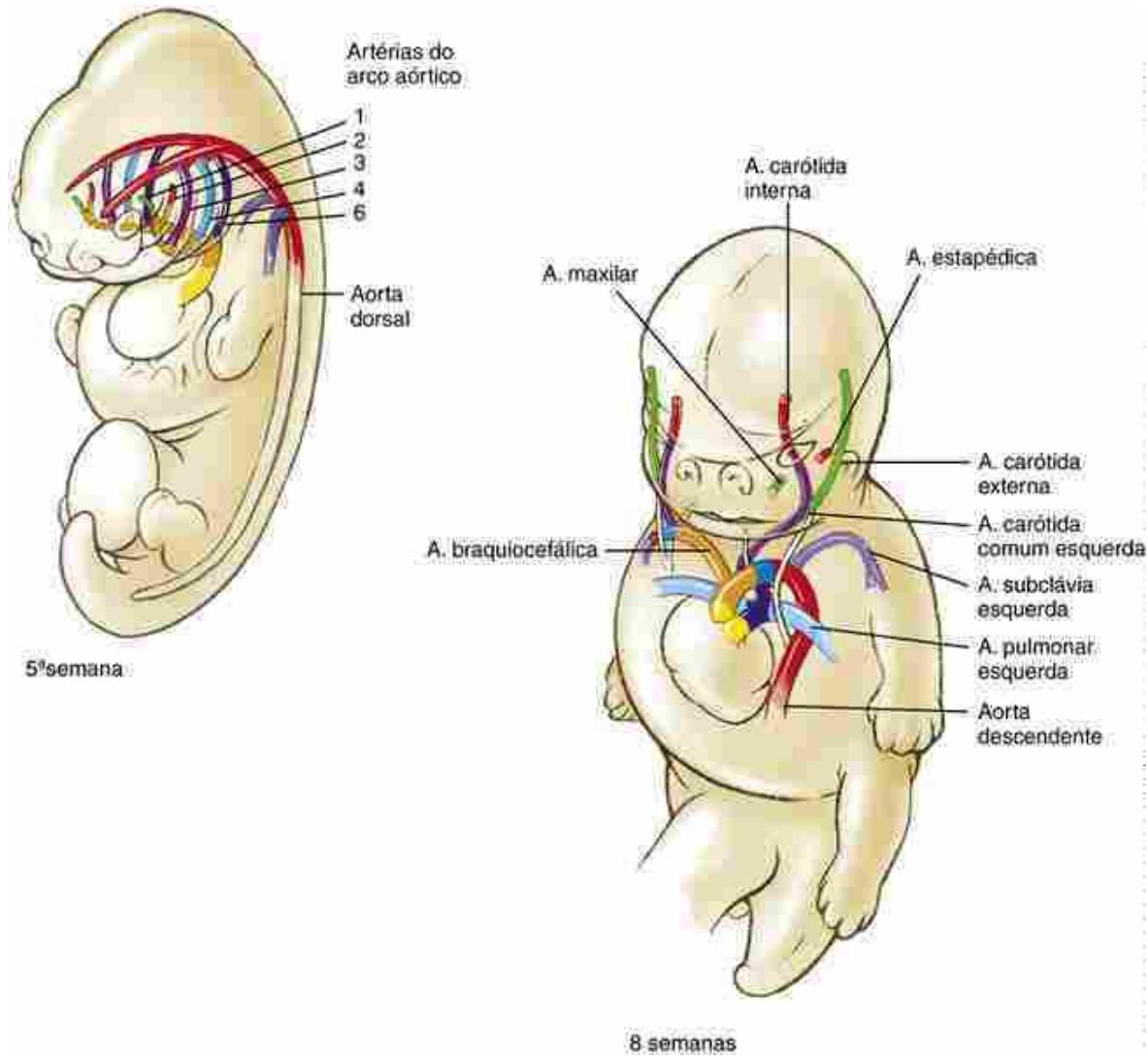


FIGURA 17-11 Destino das artérias dos arcos faríngeos. Estas artérias são modificadas para formar artérias definitivas do tórax superior, pescoço e cabeça ([Cap. 13](#)).

Como discutido no [Capítulo 13](#), o sangue arterial chega à cabeça através do par de artérias vertebrais que se formam da anastomose entre artérias intersegmentares e através das **artérias carótidas comuns**. As artérias carótidas comuns ramificam-se para formar as **artérias carótidas interna e externa**. As artérias carótida interna e vertebral suprem o encéfalo, e a artéria carótida externa supre a face. As carótidas comuns e as raízes da carótida interna derivam das artérias do terceiro arco, enquanto porções distais da carótida interna são derivadas de extensões cranianas do par da aorta dorsal. A artéria carótida externa brota de novo a partir da carótida comum. O endotélio da vasculatura da cabeça e da artéria do arco aórtico derivam do mesoderma.

Origem e inervação da musculatura

A musculatura dos arcos faríngeos deriva do mesoderma craniano. Isso inclui os primeiros cinco somitos (chamados occipitais), que formam os músculos no quarto e no sexto arcos, e o mesoderma não segmentado localizado rostral a estes somitos (mesoderma paraxial), que forma a musculatura nos arcos 1 a 3. Mioblastos de cada arco faríngeo, juntamente com os precursores dos músculos extraoculares, surgem em locais discretos dentro deste mesoderma não segmentado. Os músculos formados em cada arco faríngeo são inervados por um ramo de nervo craniano específico para aquele arco, e no adulto essa relação é mantida. Esta estreita relação tem sido conservada desde a evolução do peixe com mandíbula; juntamente com as bolsas faríngeas, que definem a conservada organização segmentar para o sistema de arco faríngeo. A [Figura 17-12](#) mostra os músculos derivados dos arcos faríngeos, e a [Figura 17-13](#) mostra a inervação destes músculos; a [Tabela 17-1](#) resume os músculos formados em cada arco faríngeo e sua inervação.

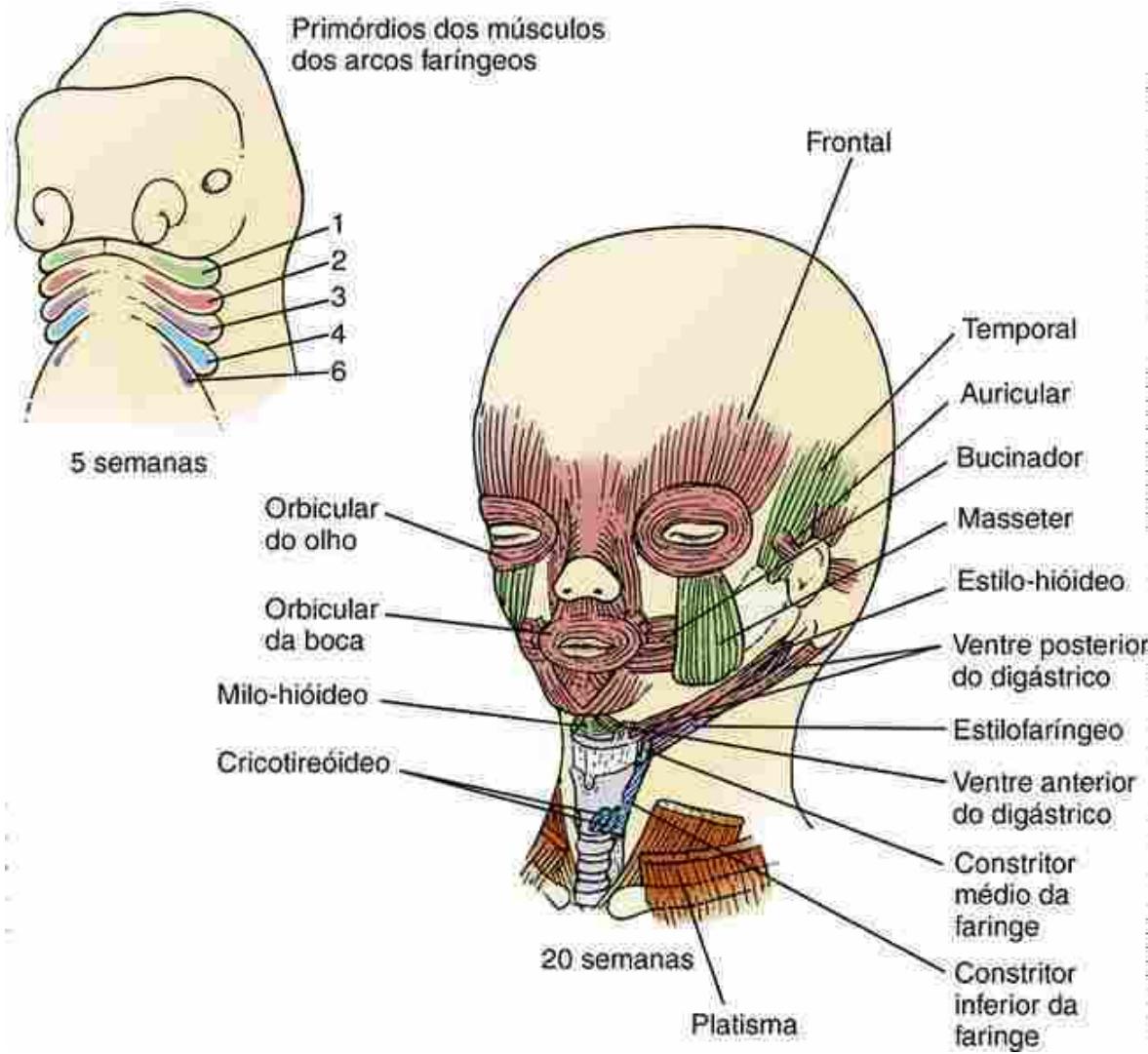


FIGURA 17-12 Destino da musculatura faríngea. Os músculos do arco faríngeo desenvolvem-se a partir do mesoderma paraxial craniano e de somitos occipitais. Os mioblastos do sexto arco transformam-se em músculos intrínsecos da laringe (não mostrados).

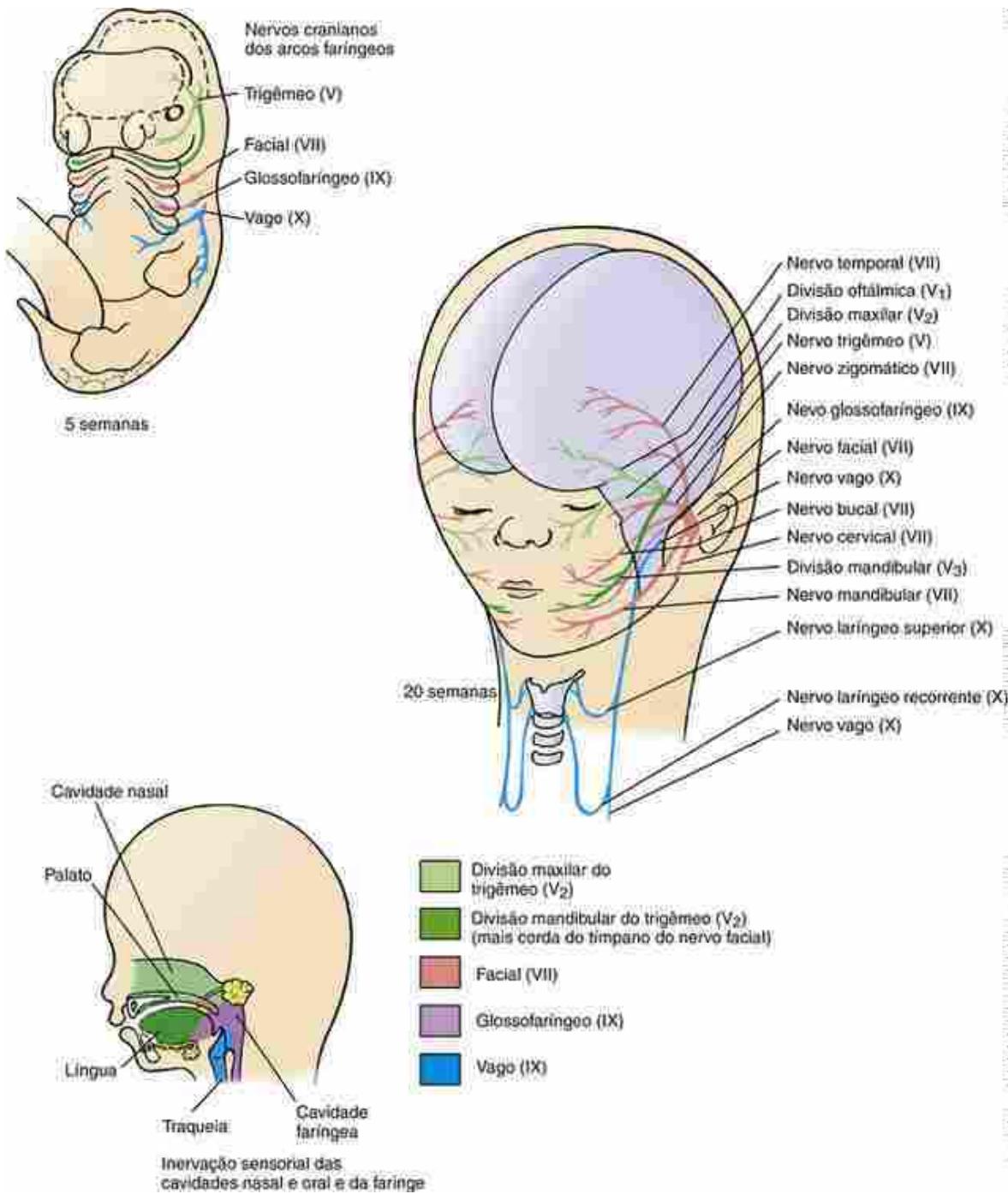


FIGURA 17-13 Distribuições dos nervos cranianos dos arcos faríngeos. Os músculos que se desenvolvem em cada arco faríngeo são supridos pelos nervos cranianos que originalmente inervam aquele arco. A ineração sensorial das cavidades nasal e oral e da faringe também é esquematizada.

No primeiro arco, o mesoderma paraxial originado ao lado do metencéfalo (rombômeros 1 e 2) dá origem aos **músculos da mastigação** (temporal, masseter e pterigoideos medial e lateral), assim como aos músculos **milo-hióideo, ventre anterior do digástrico, tensor do tímpano e tensor do véu palatino**. Ramos do **nervo trigêmeo (V)** inervam todos esses músculos.

No segundo arco, o mesoderma paraxial dá origem aos músculos de expressão facial, incluindo os músculos **orbicular do olho, orbicular da boca, risório, platisma, auricular, frontal e bucinador**, assim como o **ventre posterior do digástrico, o estilo-hióideo e o estapédio**. Os primórdios musculares desses arcos migram para suas posições finais na cabeça e são inervados pelo **nervo facial (VII)**.

No terceiro arco, o mesoderma paraxial dá origem a um único músculo: o longo e delgado **estilofaríngeo**, que se origina no processo estiloide e se insere na parede da faringe. Este músculo aumenta a faringe durante a vocalização e a deglutição, e é inervado pelo **nervo glossofaringeo (IX)**.

Os músculos originários do quarto e sexto arcos derivam dos somitos occipitais e são os **constritores superior,**

médio e inferior da faringe, o **cricotireóideo** e o **levantador do véu palatino**, o qual funciona na vocalização e deglutição. Esses músculos são inervados pelo **nervo vago (X)**.

Além disso, mioblastos dos miótomas dos somitos occipitais se aglutinam ao lado do somito 4 e estendem-se ventralmente como uma coluna alongada, o **cordão do hipoglosso**, eventualmente tornando-se localizado ventralmente à região caudal da faringe. Alguns desses mioblastos deslocam-se dorsalmente para formar a **musculatura intrínseca da laringe** (*i.e.*, músculo **cricoaritenóideo** lateral, **tiroaritenóideo** e **vocal**), cuja função principal é a vocalização. Como os músculos do quarto e do sexto arcos, que também se originam de somitos occipitais, estes músculos são inervados pelo **nervo vago**. Entretanto, a maior parte dos mioblastos do cordão do hipoglosso permanece ventral e se desloca cranialmente. Estes irão formar a **musculatura intrínseca e extrínseca** da língua. Todos esses músculos, exceto um (o palatoglosso, que é inervado pelo **nervo vago**; discutido posteriormente neste capítulo na seção sobre desenvolvimento da língua), são inervados pelo **nervo hipoglosso (XII)**.

Para resumir, quatro dos nervos cranianos que se originam no encéfalo posterior suprem os ramos para os arcos faríngeos e seus derivados (Fig. 17-13; os nervos cranianos são discutidos em detalhes no Cap. 10): (1) as proeminências maxilares e mandibulares (derivadas do mesênquima craniano e do primeiro arco) são inervadas, respectivamente, pelos **ramos maxilar e mandibular do nervo trigêmeo** (nervo craniano V); (2) o segundo arco é inervado pelo **nervo facial** (nervo craniano VII); (3) o terceiro arco é inervado pelo **nervo glossofaríngeo** (nervo craniano IX); e (4) o quarto e o sexto arcos faríngeos são inervados pelos ramos do **laríngeo superior** e do **laríngeo recorrente** do **nervo vago** (nervo craniano X). A maior parte da língua é inervada pelo **nervo hipoglosso** (nervo craniano XII). Portanto, a inervação dos músculos em adultos reflete a origem embrionária dos músculos.

Inervação Adicional dos Nervos Cranianos

Como discutido detalhadamente no Capítulo 10, além dos nervos cranianos aqui abordados, outros sete nervos cranianos inervam estruturas que se desenvolvem em associação com o aparelho faríngeo. Seis **músculos extraoculares** (derivados do mesoderma que migram para circundar os olhos em desenvolvimento) são inervados pelos nervos cranianos: quatro músculos (**oblíquo inferior, reto medial, reto superior e reto inferior**) são inervados pelo **nervo oculomotor** (nervo craniano III; originário do mesencéfalo); um músculo (**oblíquo superior**) é inervado pelo **nervo troclear** (nervo craniano IV; originário do encéfalo posterior); e um músculo (**reto lateral**) é inervado pelo **nervo abducente** (nervo craniano VI; originário do encéfalo posterior). O **nervo acessório** (nervo craniano XI) inerva outro grupo de músculos, incluindo dois importantes músculos do pescoço (**esternocleidomastóideo e trapézio**).

Três **órgãos sensoriais** são inervados pelos nervos cranianos: (1) o **nervo olfatório** (nervo craniano I; originário do placoide nasal e associado ao telencéfalo) inerva o epitélio olfatório das cavidades nasais em desenvolvimento; (2) o **nervo óptico** (nervo craniano II; originário da camada sensorial do cálice óptico e está associado ao diencéfalo) inerva a retina dos olhos em desenvolvimento; e (3) o **nervo vestibulococlear** (nervo craniano VII; originário do placoide ótico e está associado ao encéfalo posterior) inerva a orelha interna em desenvolvimento.

Muitos nervos cranianos são nervos mistos

Como discutido no Capítulo 10, vários nervos cranianos carregam diferentes combinações de fibras motoras somáticas, autonômicas e sensoriais. No tronco os nervos são mistos, mas na cabeça os nervos cranianos podem ser mistos (V, VII, IX e X), predominantemente sensoriais (I, II e VIII) ou motores (III, IV, VI, XI e XII). Entretanto, em todos os casos, os motoneurônios somáticos apresentam seus corpos celulares no encéfalo, enquanto os corpos celulares dos neurônios sensoriais estão localizados nos gânglios dos nervos cranianos. No tronco, os neurônios sensoriais são sempre derivados das células da crista neural, mas na cabeça alguns neurônios sensoriais (V, VII, VIII, IX e X) derivam de duas populações — células da crista neural, como no tronco, e áreas especiais de ectoderma conhecidas como **placoides ectodérmicos neurogênicos**. Esses placoides são discutidos detalhadamente no Capítulo 10.

A inervação sensorial da face é fornecida pelas divisões oftálmicas, maxilares e mandibulares do nervo trigêmeo, como seria de se esperar a partir do fato de que a derme nesta região desenvolve-se a partir de células da crista neural e migram para o primeiro arco faríngeo e a proeminência da face (Fig. 17-13). A inervação sensorial do lado dorsal da cabeça e do pescoço é proporcionada pelo segundo e pelo terceiro nervos espinhais cervicais. A inervação sensorial da boca, faringe e laringe é fornecida pelos nervos cranianos V, VII, IX e X, como ilustrado na Figura 17-13.

No Laboratório de Pesquisa

O encéfalo posterior é segmentado

Como discutido no Capítulo 9, o encéfalo em desenvolvimento é inicialmente subdividido em prosencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo, e este último é subdividido transitoriamente em segmentos distintos denominados

rombômeros (r). Cada rombômero expressa uma única combinação de fatores de transcrição. De particular relevância são aqueles da família de genes Hox, que, como no tronco, são expressos em padrões específicos ao longo do eixo craniocaudal ([Cap. 8](#)). No encéfalo posterior, seu limite rostral de expressão corresponde a um limite de rombômero ([Fig. 17-14A](#)). Membros da família de gene Hox, sozinho ou em combinação, especificam a identidade de rombômeros individuais. Por exemplo, Hoxa 1 é necessário para o desenvolvimento do r4 e 5, já que ambos estão muito reduzidos ou ausentes em camundongos nos quais Hoxa1 está inativo. Hoxb1 é especificamente expresso em r4. A inativação genética de Hoxb1 em camundongo e peixe-zebra resulta em transformação de r4 em r2. Por outro lado, quando Hoxb1 é expresso em r2 em embrião de pinto, r2 adquire características de r4. Como as células da crista neural expressam tipicamente os genes Hox dos rombômeros de onde surgem, isso por sua vez auxilia a especificar a identidade dos derivados da crista neural.

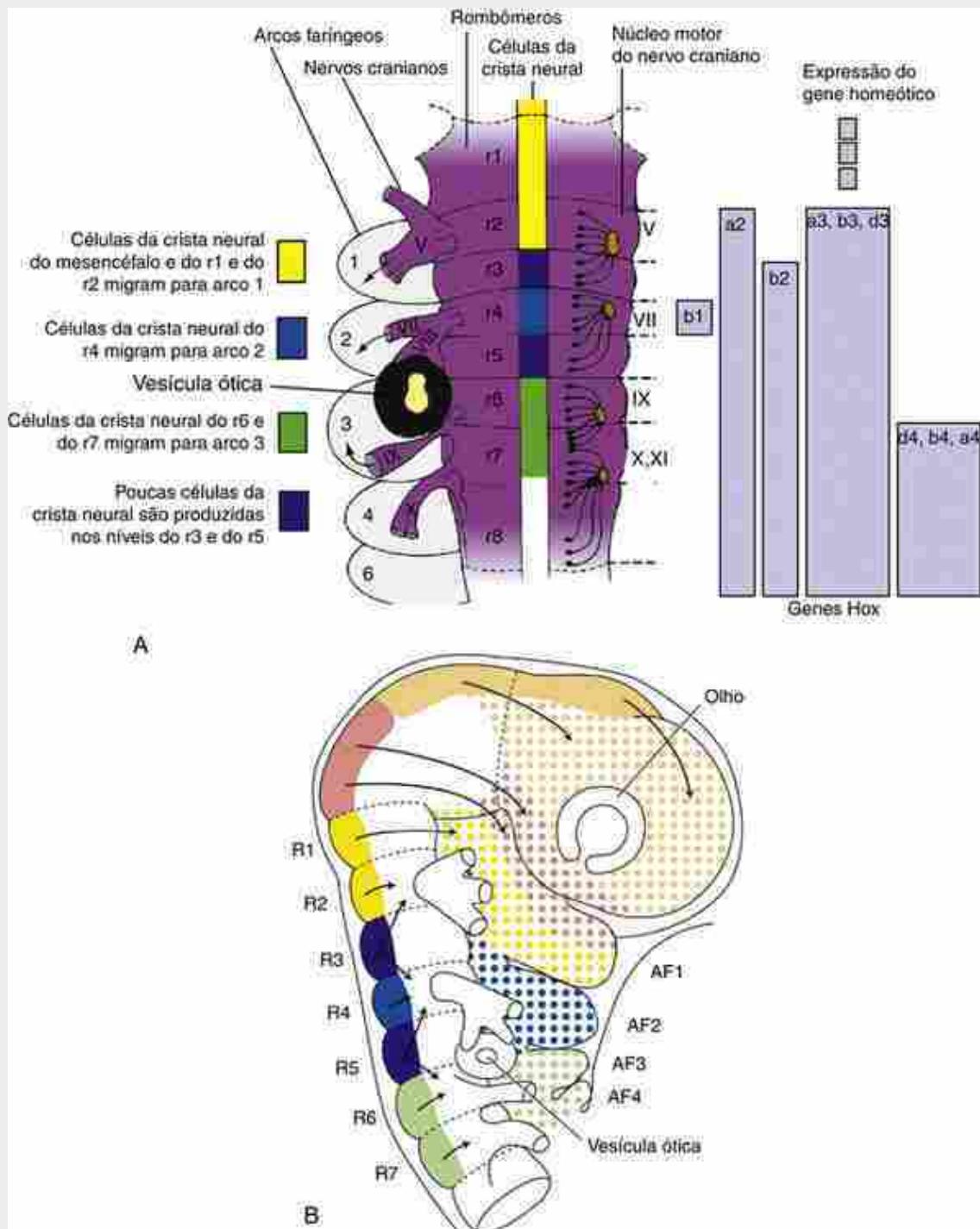


FIGURA 17-14 Diagramas mostrando a natureza segmentar do encéfalo posterior e região craniofacial. A, Esboço da região do encéfalo posterior e arcos faríngeos mostrando segmentação e relações espaciais dos arcos faríngeos, nervos cranianos, núcleos motores do nervo craniano, rombômeros e derivados de células da crista neural específicos de rombômeros. Os rombômeros estão associados à expressão de combinações específicas de genes Hox, que na maioria dos casos (ver texto para exceções importantes) são também expressos por seus derivados de células da crista neural. O código Hox expresso por cada rombômero é ilustrado por barras verticais coloridas à direita. B, Rotas de migração de células da crista neural da cabeça (setas). AF1 a AF4, arcos faríngeos de 1 a 4; r1 a r7, rombômeros de 1 a 7.

Um importante aspecto da segmentação do encéfalo posterior é que ele fornece a estrutura para o estabelecimento da padronização neuronal nos arcos faríngeos em desenvolvimento: os núcleos motores dos nervos cranianos V, VII e IX surgem em uma periodicidade de dois segmentos (*i.e.*, rombômeros), com cada um de seus nervos inervando um arco faríngeo (Fig. 17-14A). Assim, o nervo craniano V inerva o arco faríngeo 1, o nervo craniano VII inerva o arco faríngeo 2; e o nervo craniano IX inerva o arco faríngeo 3 (os nervos cranianos X e XII inervam os arcos faríngeos 4 e 6). Quando a função do Hoxb1 é perdida em camundongos, os motoneurônios que surgem do r4 comportam-se como aqueles que surgem do r2, migrando em padrão característico de neurônio r2.

Em um experimento inverso, em pinto, em que Hoxb1 é superexpresso em r2, os motoneurônios r2 migram para o interior do segundo arco em vez da direção de seus alvos usuais no primeiro arco.

A segmentação do encéfalo posterior também tem um papel na manutenção de diferentes populações de células da crista neural, de modo que separadamente as células da crista neural migram em três grupos segmentados: um grupo derivado do r1 e do r2, um grupo do r4 e um grupo do r6, do r7 (Fig. 17-14B; observe que, além dos três grupos de células da crista neural do rombencéfalo, existe um grupo craniano de células da crista neural originária do mesencéfalo e da região caudal do prosencéfalo). A formação dos três grupos do encéfalo posterior é alcançada em parte pelo fato de que comparativamente poucas células da crista neural originam-se do r3 e do r5; aquelas que se originam do r3 e do r5 migram caudal ou cranialmente dentro de grupos de células da crista neural adjacentes (Fig. 17-14B). Além disso, os sinais mesodérmicos mantêm as distintas populações da crista neural afastadas. A separação desses grupos da crista neural é importante, pois elas expressam diferentes combinações de genes Hox necessárias para a padronização dos arcos faríngeos. Por exemplo, o primeiro (aquele do r1 e do r2) e o segundo (aquele do r4) grupo de células da crista neural do rombencéfalo são caracterizados pela ausência e pela presença, respectivamente, de expressão de Hoxa2: especificamente, as células da crista neural derivadas do r2 perdem a expressão do Hoxa2 conforme elas começam a migrar, e a expressão de Hoxa2 nas presuntivas células da crista neural do r1 é inibida pela sinalização do Fgf8 do istmo (consistindo na zona constrição do mesencéfalo posterior com o rombencéfalo anterior) (Fig. 17-15A). Quando o Hoxa2 está mutado em camundongo, o segundo arco faríngeo sofre uma transformação homeótica no primeiro arco faríngeo. Assim, os derivados do segundo arco, como o estribo e o processo estiloide, estão ausentes e são substituídos por um anel timpânico, martelo e bigorna ectópicos, geralmente derivados do primeiro arco faríngeo (Fig. 17-15B). Por outro lado, a superexpressão de Hoxa2 no primeiro arco faríngeo de pintos e Xenopus transforma o primeiro arco faríngeo em um segundo arco faríngeo. Portanto, a ausência ou presença de Hoxa2 determina a identidade do primeiro *versus* segundo arco faríngeo. Do mesmo modo, a expressão de Hoxa2 junto com Hoxa3 e Hoxa4 forma o terceiro e quarto arcos faríngeos: na ausência de todos os três genes de Hox, os arcos faríngeos 2, 3 e 4 agora formam estruturas características do primeiro arco faríngeo. Essa regulação da identidade esquelética pela expressão do gene Hox também ocorre no esqueleto axial do tronco (Figs. 8-10 e 8-11 no Cap. 8). Os genes Hox não são apenas importantes para a padronização dos derivados esqueléticos do arco faríngeo, mas são necessários para o desenvolvimento das estruturas endodérmicas do arco faríngeo. Por exemplo, o Hoxa3 é necessário para o desenvolvimento do timo e da paratireoide, que são originários da terceira bolsa faríngea (ver discussão sobre desenvolvimento das bolsas faríngeas posteriormente neste capítulo).

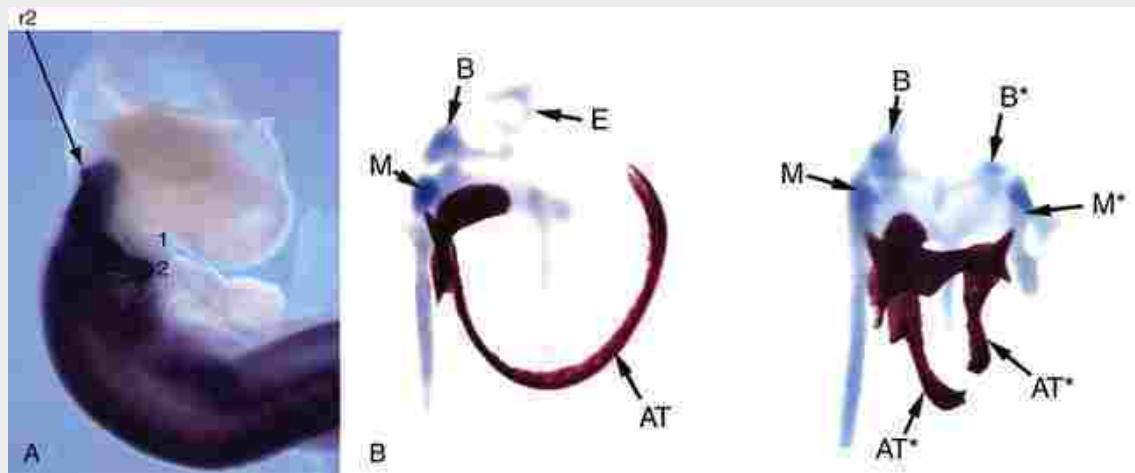


FIGURA 17-15 Hoxa2 determina a identidade do segundo arco. *A*, Montagem completa de estruturas embrionárias para hibridização *in situ* (*whole mount*) mostrando a expressão de Hoxa2 em um embrião de pinto em desenvolvimento. Hoxa2 é expresso especificamente no segundo (2) arco e nos arcos faríngeos mais caudais, mas não no mesênquima do primeiro (1) arco faríngeo. r2 indica a posição do rombômero 2 no encéfalo posterior. *B*, Perda da função do Hoxa2 em camundongo (tipo selvagem à esquerda; mutante à direita) resulta em perda do estribo (E), do processo estiloide e do corno lateral do hioíde — todos derivados do segundo arco. Em contraste, estruturas do primeiro arco — o martelo (M), bigorna (B) e anel timpânico (AT) — estão duplicados (os membros duplicados são indicados pelo asterisco).

O ácido retinoico atua no desenvolvimento normal e anormal da cabeça e pescoço

O ácido retinoico (AR), o derivado biologicamente ativo da vitamina A (retinol), é necessário para o

desenvolvimento e a segmentação dos arcos faríngeos caudais. Mas quando é administrado em excesso, ele atua como um potente teratógeno craniofacial, afetando especialmente os arcos faríngeos 1 e 2, nos quais causa hipoplasia. A isotretinoína (Accutane® ou ácido-13-cis-retinoico), um medicamento utilizado para tratar uma forma grave de acne, pode causar hipoplasia quando embriões são expostos durante a gastrulação e no início da organogênese (*i.e.*, exposição durante o início da gravidez). O desenvolvimento da sensibilidade ao AR é, em parte, explicado pelo gradiente de AR que se forma através do rombencéfalo durante o desenvolvimento, devido à expressão diferencial das enzimas que sintetizam AR, Raldh1-4, e enzimas de citocromo P450 que catabolizam AR (Cyp2A1, B1 e C1). Raldh2 é expressa no mesoderma subjacente ao rombencéfalo caudal em desenvolvimento, enquanto a enzima catabólica Cyp26C1 é expressa no mesoderma subjacente ao rombencéfalo cranial e ao mesencéfalo (Fig. 17-16).

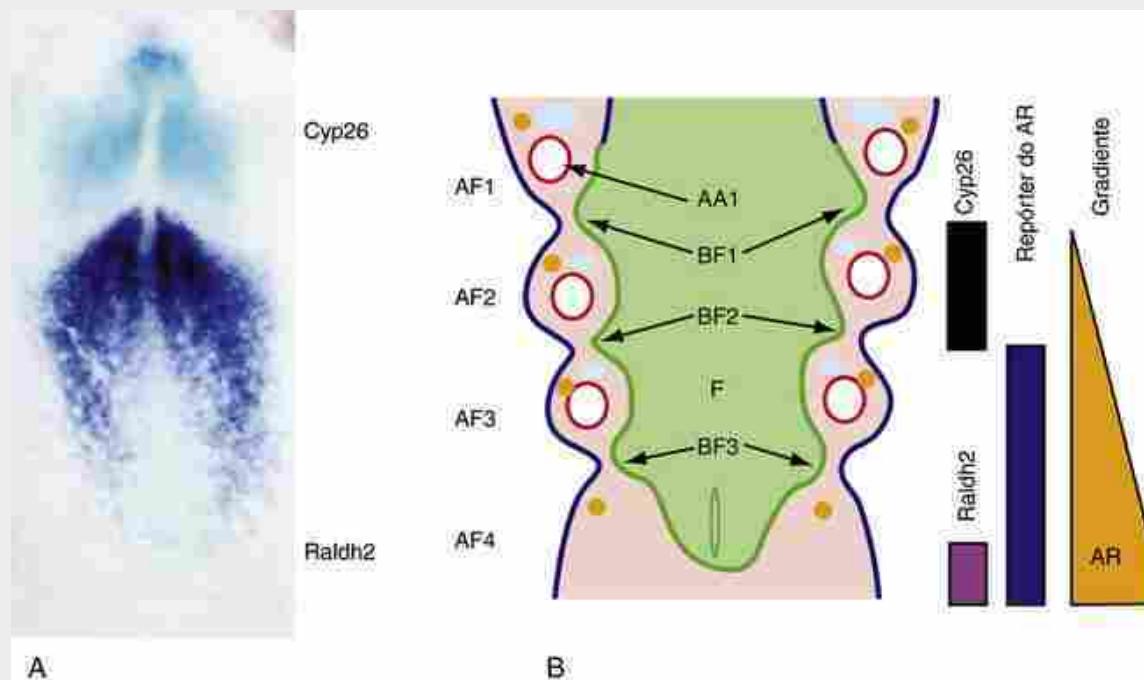


FIGURA 17-16 Um gradiente de padrões de ácido retinoico no encéfalo posterior. **A**, Montagem completa de estruturas embrionárias para hibridização *in situ* (*whole mount*) mostrando a expressão de Raldh2, uma enzima produtora de ácido retinoico, e Cyp26, uma enzima degradante de ácido retinoico, em estágios iniciais do desenvolvimento embrionário de pintinhos. Raldh2 (azul-escuro) é expresso caudalmente, enquanto Cyp26 (azul-claro) é expresso cranialmente. Assim, existe um gradiente de sinalização de ácido retinoico através do eixo craniocaudal do futuro encéfalo posterior, que abrange a transcrição entre esses dois padrões de expressão. **B**, Esboço do gradiente de sinalização de ácido retinoico (AR). AA1, arco aórtico 1; BF1-3, bolsas faríngeas de 1 a 3; F, faringe; AF1-4, arcos faríngeos de 1 a 4. Uma barra cartilaginosa (azul) e um nervo craniano (marrom-claro) são também mostrados em cada arco.

O gradiente de AR modela o rombencéfalo e os arcos faríngeos. Como discutido no [Capítulo 5](#), o AR atua pela ligação aos fatores de transcrição dependentes dos ligantes RAR e RXR, que atuam como heterodímeros para ativar genes sensíveis ao AR. Os genes Hoxa1 e Hoxb1 são alvos de AR e contêm elementos de resposta ao AR (RAREs, do inglês *retinoic acid response elements*) em seus *enhancers*. A aplicação ectópica de AR em embriões de pintos em desenvolvimento transforma os rombômeros 2/3 em rombômeros 4/5. Por outro lado, a perda de AR, como em camundongo *knockout* Raldh2 ou em codornas deficientes de vitamina A (VAD), resulta em cranialização do rombencéfalo, de tal modo que a expressão normal de Hoxa1 e Hoxa2 no neuroepitélio caudal à r4 é abolida. A regulação da expressão do gene Hox durante a somitogênese também é discutida no [Capítulo 8](#) (Figs. 8-11 e 8-12).

O endoderma, que é necessário para a segmentação do arco faríngeo, é também um alvo direto da sinalização do AR. A perda de sinalização de AR inibe o Tbx1, um fator de transcrição envolvido na síndrome 22q11.2 (discutido no “Caso Clínico” deste capítulo e nos [Caps. 4 e 12](#)), o Pax9 (outro tipo de fator de transcrição) e a expressão de Fgf8. Todos esses elementos são necessários para o desenvolvimento e padronização normal do arco faríngeo, e na ausência de AR, o terceiro e o quarto arcos faríngeos não se formam.

Desenvolvimento da face

A morfologia básica da face é estabelecida entre a 4^a e a 10^a semana de desenvolvimento e pela união de cinco proeminências: a **proeminência frontonasal**, que recobre o encéfalo anterior, mais duas **proeminências maxilares** e duas **proeminências mandibulares** associadas ao primeiro arco faríngeo (Fig. 17-17). O mesênquima na proeminência frontonasal surge a partir de células da crista neural derivadas do mesencéfalo e do prosencéfalo, enquanto as proeminências maxilares e mandibulares recebem contribuições da crista neural do mesencéfalo e do rombencéfalo (Fig. 17-14). O espectro de defeitos faciais congênitos conhecidos como **fendas faciais** – incluindo fenda labial e fenda palatina – resultam da falha de alguns desses processos faciais em crescer e se unir corretamente. Essas anomalias congênitas relativamente comuns são discutidas no quadro “Na Clínica” intitulado “Fenda Facial”.

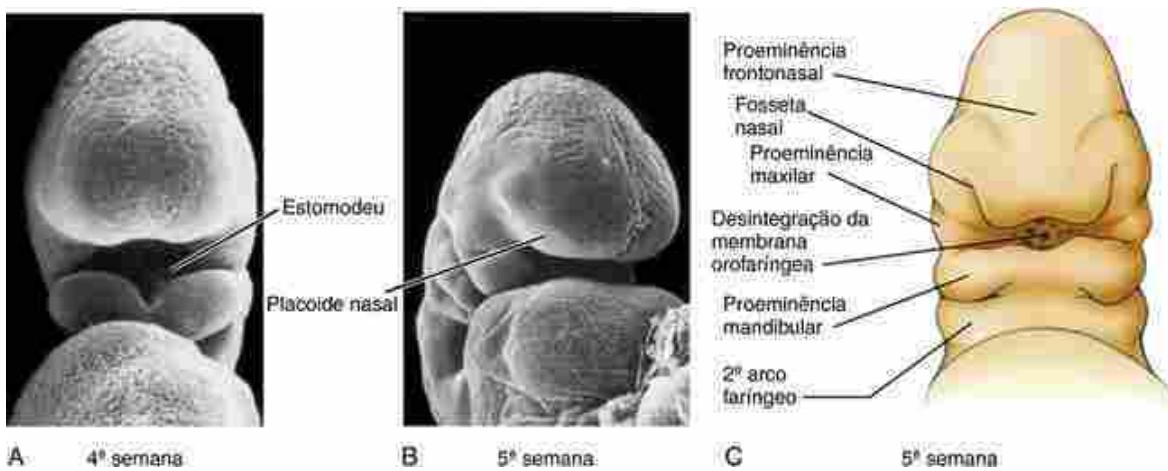


FIGURA 17-17 Origem da face e da boca humanas. A face desenvolve-se a partir de cinco primórdios que aparecem no final da 4^a semana: a proeminência frontonasal, as duas proeminências maxilares e as duas proeminências mandibulares. Dois placoides nasais, pequenos espessamentos ectodérmicos circulares que se desenvolvem na proeminência frontonasal. A membrana faríngea rompe-se na 5^a semana a fim de formar uma abertura para a cavidade oral. *A, C*, Vistas ventrais. *B*, Vista lateral oblíqua.

Todas as cinco saliências faciais formam-se até o final da 4^a semana. Elas inicialmente cercam a cavidade oral primitiva, o **estomodeu** (Fig. 17-17A), o qual é separado do trato gastrointestinal pela membrana **orofaríngea** (**bucofaríngea** ou **oral**) (Fig. 17-17C). Durante a 5^a semana, o par de proeminências maxilares alarga e cresce ventral e medialmente. Enquanto isso, um par de espessamentos ectodérmicos, denominados **placoides nasais** ou **olfatórios** (também chamados de **discos nasais** ou **placas nasais**), forma-se na proeminência frontonasal e começam a se alargar (Fig. 17-17B). Na 6^a semana, o ectoderma do centro de cada placoide nasal invagina-se para formar as **fossetas nasais** ovaladas, dividindo a proeminência frontonasal em **processos nasais laterais** e **mediais** (Fig. 17-18). O sulco entre os processos nasais laterais e a proeminência maxilar adjacente é denominado **sulco nasolágrimo** (**sulco naso-óptico**) (Fig. 17-18C). Durante a 7^a semana, o ectoderma do assoalho deste sulco invagina-se em direção ao mesênquima subjacente para formar estruturas tubulares denominadas **ductos nasolácrimos** ou **sacos lacrimais**. O ducto nasolágrimo é envolvido por osso durante a ossificação da maxila. Após o nascimento, sua função é drenar o excesso de lágrimas da conjuntiva do olho para dentro da cavidade nasal.

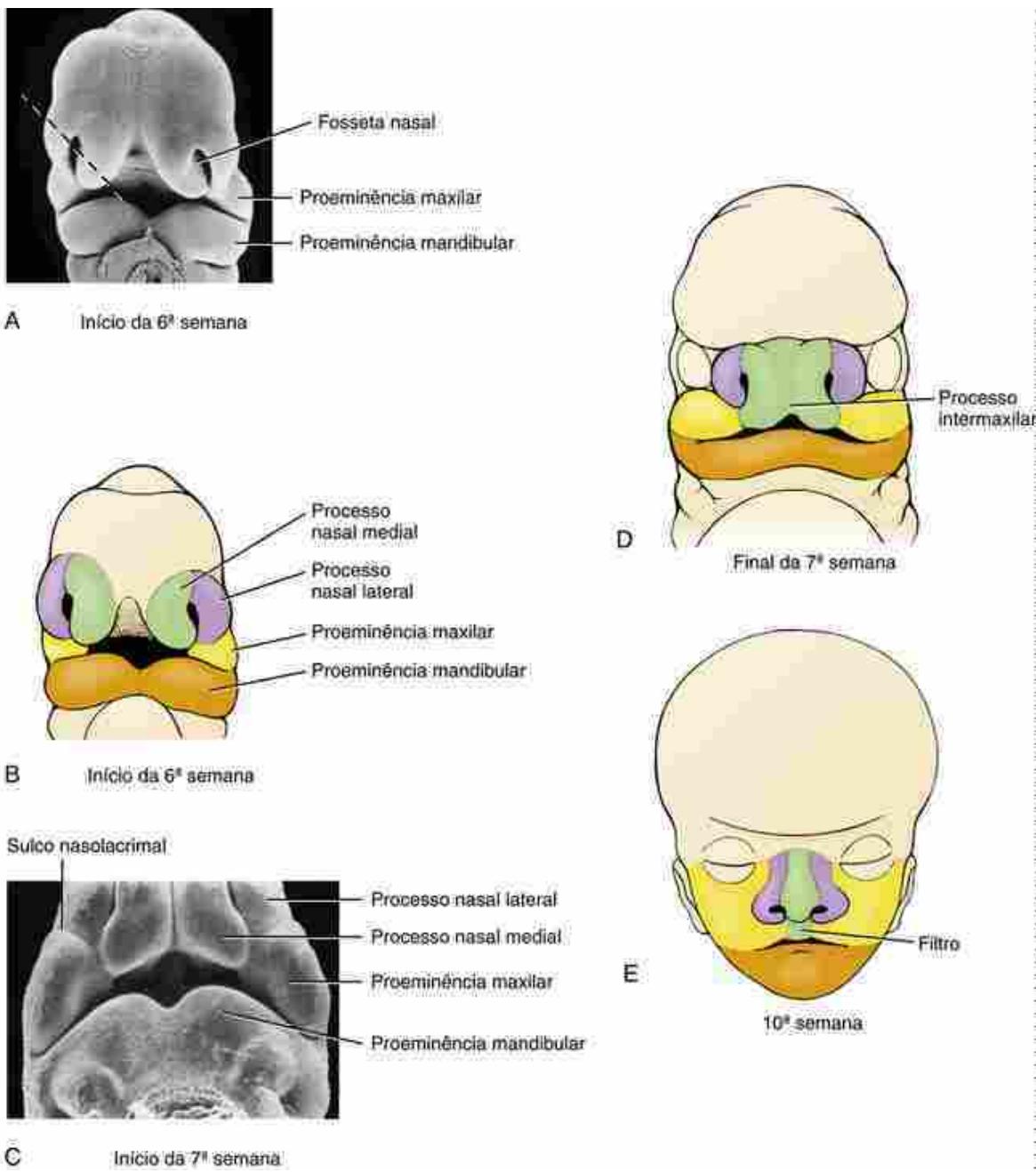


FIGURA 17-18 Desenvolvimento da face. **A, B**, Na 6^a semana, os placoides nasais da proeminência frontonasal invaginam-se para formar as fossetas nasais e os processos nasais laterais e mediais. A linha tracejada indica o nível do corte mostrado na [Figura 17-21](#). **C, D**, Na 7^a semana, os processos nasais mediais fundem-se na linha média para formar o processo intermaxilar. **E**, Por volta da 10^a semana, o processo intermaxilar forma o filtro do lábio superior.

Durante a 6^a semana, os processos nasais mediais aproximam-se em direção à linha média e se juntam para formar o primórdio da ponte e da ponte do nariz ([Fig. 17-18A, B](#)). No final da 7^a semana, as fossetas inferiores dos processos nasais mediais expandem-se lateral e inferiormente e se unem para formar o **processo intermaxilar** ([Fig. 17-18C, D](#)). As fossetas das proeminências maxilares crescem para encontrar o processo intermaxilar e se fundir com ele. O processo intermaxilar dá origem ao **filtro** ([Fig. 17-18E](#)) e ao **palato primário**, que contém quatro dentes incisivos.

Embora as duas proeminências mandibulares pareçam ser separadas por uma fissura medioventral ([Fig. 17-18A](#)), elas, na verdade, estão em continuidade uma com a outra, assim como o resto do arco faríngeo. A depressão intermandibular transitória é preenchida durante a 4^a e a 5^a semanas pela proliferação do mesênquima ([Fig. 17-18B-D](#)). Enquanto isso, durante a 5^a semana, a ruptura da membrana orofaríngea ocorre para formar a ampla boca embrionária semelhante a uma fenda ([Fig. 17-18C, D](#)). A boca é reduzida para sua largura final durante o 2^º mês, conforme a fusão das porções laterais das saliências maxilares e mandibulares criam as bochechas ([Fig. 17-18E](#)). Pequena fusão resulta em **macrostomia** (uma boca ampla), enquanto grande fusão resulta em **microstomia** (uma boca pequena).

No Laboratório de Pesquisa

Padronização das proeminências faciais

O desenvolvimento facial requer a integração de múltiplas interações recíprocas e de trocas de tecidos entre as células da crista neural, mesoderma, ectoderma e endoderma, e cada tecido tem papéis específicos. O transplante de células da crista neural entre diferentes espécies mostrou que as características morfológicas faciais das espécies são determinadas pelo doador das células da crista neural. Portanto, quando células da crista neural de pato são transplantadas em codornas hospedeiras, ou vice-versa, as estruturas resultantes são características do doador das células da crista neural (Fig. 17-19A, B). O doador de células da crista neural também estabelece o padrão temporal da expressão do gene no ectoderma sobrejacente e o desenvolvimento e padronização das estruturas derivadas do ectoderma, como as penas (Fig. 17-19C). O ectoderma, em seguida, sinaliza de volta para o mesênquima coordenar o crescimento facial. Essas interações epitélio-mesênquima controlam a proliferação celular e a sobrevivência celular; e são mediadas pelo Shh e membros da família de Fgf, Wnt e Bmp (ver quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Mecanismos Ambientais e Genéticos da Fenda Orofacial”).

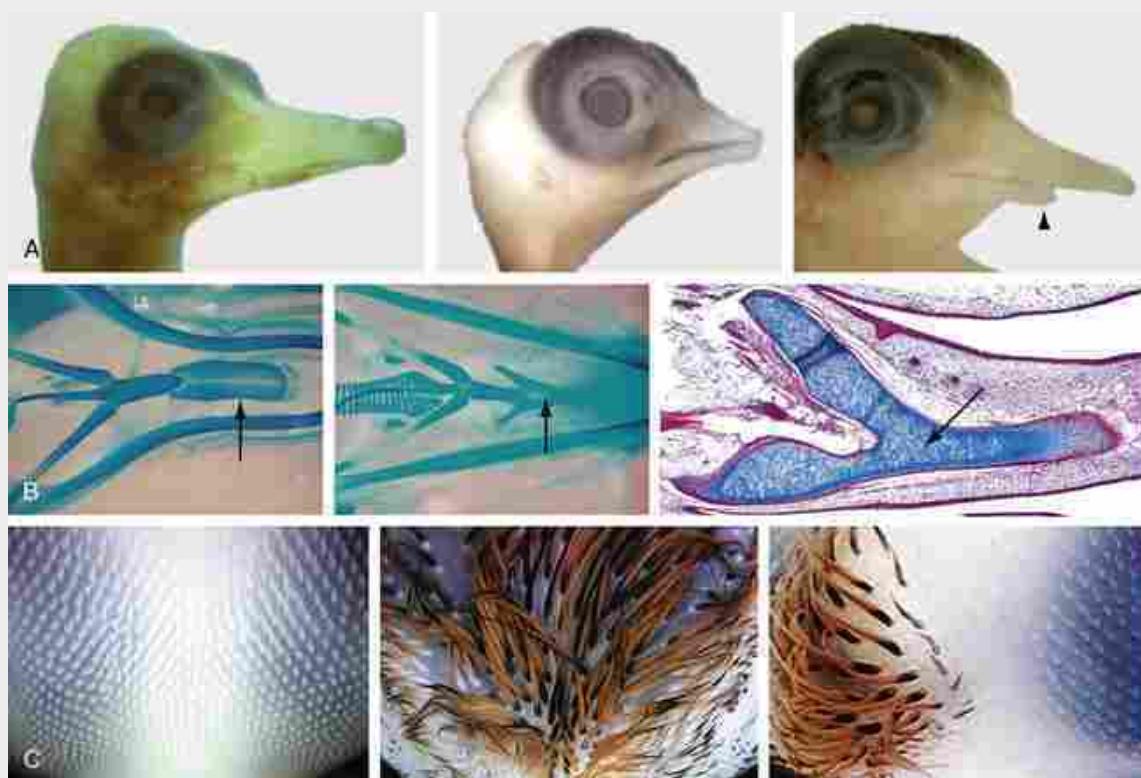


FIGURA 17-19 Células da crista neural controlam a padronização dos primórdios faciais. A, Comprimento e forma das mandíbulas em um pato (esquerda), em uma codorna (centro) e em uma quimera transplantada, na qual as células da crista neural que contribuem para a mandíbula inferior foram transplantadas de uma codorna para um pato (direita). Observe que o comprimento da mandíbula inferior na quimera imita o da codorna (*cabeça da seta*) e é mais curta do que a do pato. B, Ossos da mandíbula inferior corados para destacar a cartilagem em um pato (esquerda) e em uma codorna (centro). O osso entoglosso (*setas*) é um osso de suporte para a língua. No pato, este osso é largo e plano, enquanto na codorna ele tem forma de lança. Em um embrião de pato no qual células da crista neural de codorna foram transplantadas (direita), o entoglosso imita a forma do entoglosso de codorna (i.e., é em forma de lança, como observado no corte histológico; cortes adjacentes, não mostrados, revelam que o entoglosso derivou inteiramente de células da crista neural da codorna). C, Partes da pele da cabeça mostram penas em um pato (esquerda), em uma codorna (centro) e em um embrião quimérico (direita). As penas, que são derivados ectodérmicos, também se desenvolvem de acordo com a tabela de tempo e o padrão do doador de células da crista neural, como mostrado em embrião de pato no qual células da crista neural de codorna foram transplantadas no lado esquerdo da figura mostrando a quimera (painel da direita). A diferença de pigmentação entre as penas do pato e da codorna deve-se à presença de melanócitos da codorna derivados de células da crista neural.

O ectoderma também apresenta a capacidade de padronização, ilustrada pelo fato de que o epitélio odontogênico pode induzir o desenvolvimento dentário em mesênquima não odontogênico (ver quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Indução do Dente”), e que a **zona ectodérmica frontonasal (FEZ)**, uma região

na proeminência frontonasal caracterizada pela justaposição da expressão de Shh e de Fgf8, pode induzir estruturas de bicos distais duplicados quando transplantadas ectopicamente. Finalmente, o endoderma é essencial para o desenvolvimento facial: a ablação do endoderma resulta em perda de estruturas faciais, enquanto o transplante de endoderma causa a formação de estruturas ectópicas faciais. Surpreendentemente, a identidade e orientação das estruturas esqueléticas são determinadas pela região do endoderma que é transplantado e sua orientação no hospedeiro. Shh é um dos sinais do endoderma que controla a padronização.

Estudos sobre “tentilhões de Darwin” da Ilha de Galápagos identificaram dois genes candidatos que podem determinar a morfologia facial. A expressão do fator de crescimento Bmp4, que controla a proliferação de células mesenquimais e condrogênese, é mais elevada nos tentilhões com bicos mais largos e mais profundos, os tentilhões de terra. Em contraste, o primórdio facial dos tentilhões com bicos longos e finos, os tentilhões de cactos, apresentam níveis altos de fator de sinalização intracelular calmodulina cinase II, que promove o crescimento distal.

O primeiro arco faríngeo é padronizado pelo código dlx

Nos arcos faríngeos caudais e do tronco, os genes Hox controlam a padronização dos tecidos, incluindo estruturas esqueléticas (ver anteriormente o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “O Encéfalo Posterior é Segmentado”, e Caps. 8 e 9). Membros da família do gene Hox (A, B, C, D) não são expressos no primeiro arco faríngeo ou no ectomesênquima cranial a ele; portanto, os genes Hox não modelam o primórdio facial. Em vez disso, acredita-se que o papel da padronização possa ser controlado por genes relacionados contendo homeobox Msx1, 2, Dlx1-6 (antigo Dlx7 é agora chamado dlx4), Gsc1, Lhx6/7 e Barx1, com a expressão combinatória destes fatores determinando as estruturas faciais. A família Dlx em conjunto com o fator de transcrição Hand2 demonstrou o padrão de relação da proeminência maxilar *versus* mandibular. Como o clássico conjunto Hox em regiões mais caudais do corpo, os membros da família Dlx são expressos em domínios aninhados na proeminência mandibular (Fig. 17-20A). Dlx1 e 2 são também expressos na proeminência maxilar (Fig. 17-20A). A perda de Dlx5 e 6 em ratos resulta em uma transformação homeótica de tal forma que partes das proeminências mandibulares são substituídas por estruturas esqueléticas normalmente formadas na proeminência maxilar. Especificamente, a parte proximal do osso dentário está ausente e é substituída por uma maxila ectópica, pelo osso asa maior do esfenóide, pelo jugal, pelo escamoso e pelo palatino (Fig. 17-20B). Esses ossos são duplicações como imagem no espelho de seus homólogos endógenos, sugerindo que existe um centro de sinalização controlando a padronização das estruturas circundantes entre as proeminências maxilares e mandibulares. Essa transformação está também associada à transformação de estruturas sobrejacentes: existe um conjunto adicional de vibrissa na proeminência mandibular transformada, e rugas ectópicas também se formam em associação ao osso palatino ectópico. Isso é consistente com o papel do mesênquima derivado da crista neural na padronização de estruturas ectodérmicas sobrejacentes (Fig. 17-19C).

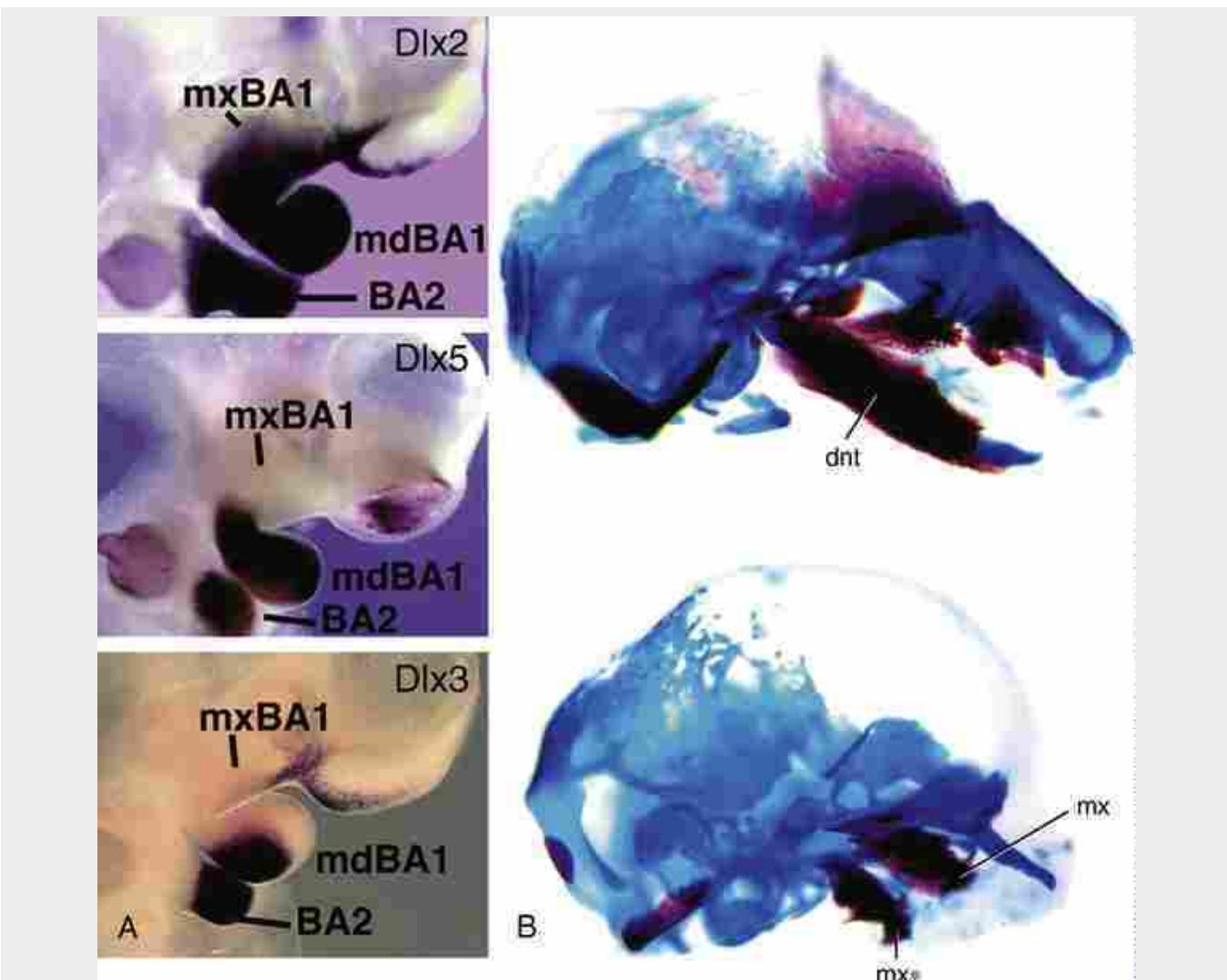


FIGURA 17-20 Dlx codifica a padronização do primeiro arco branquial. *A*, Montagem completa de estruturas embrionárias para hibridização *in situ* (*whole mount*) mostrando a expressão concentrada dos membros da família Dlx nas proeminências mandibulares (mdBA1) e maxilares (mxBA1). *B*, A perda de Dlx5 e 6 em camundongos resulta em derivados da proeminência mandibular sendo transformados em derivados da proeminência maxilar (superior = tipo selvagem; inferior = *knockout* duplo). Ou seja, a cartilagem de Meckel e o osso dentário (dnt) são substituídos por uma maxila ectópica (mx*) e outros ossos derivados maxilares (não mostrados). mx, posição da maxila normal.

A expressão de Dlx5 e 6 é controlada por um pequeno peptídeo, a endotelina-1 (Et1), que é expresso no mesoderma e no ectoderma. A expressão de Dlx5 e 6, por sua vez, regula a expressão de Hand2 (proteína 2 expressa por derivados do coração e da crista neural, um fator de transcrição básico hélice-alça-hélice; anteriormente chamado dHand) no mesênquima. A inativação genética de Et1, seu receptor, ou a enzima envolvida em sua ativação (Ece1) ou a inativação de Hand2 também resultam em transformação do arco mandibular. Crucialmente, a expressão reduzida de Hand2 ou Et-1 na proeminência maxilar a transforma em proeminência mandibular. Isso revela uma rede de sinalização, Et-1 para Dlx5/6 para Hand2, que é necessária para o desenvolvimento mandibular e é suficiente para transformar a proeminência maxilar em arco mandibular.

A identidade das proeminências frontonasal *versus* maxilar é controlada pela sinalização de Bmp e AR. A proeminência frontonasal é caracterizada pelos altos níveis de AR do encéfalo posterior e do epitélio nasal, enquanto a proeminência maxilar é caracterizada por altos níveis de sinalização de Bmp. Portanto, a aplicação de AR, em conjunto com o antagonista Bmp, noggin, na proeminência maxilar de embriões de pinto em desenvolvimento transforma os derivados da proeminência maxilar em estruturas que são normalmente derivadas da proeminência frontonasal (*i.e.*, o osso palatino é perdido e substituído pelo septo nasal).

Desenvolvimento das cavidades nasal e oral

A Figura 17-21 ilustra o processo pelo qual as fossetas nasais dão origem às passagens nasais. As fossetas nasais

aprofundam-se por invaginação e crescimento do epitélio nasal com crescimento anterior simultâneo da proeminência frontonasal (indicado por setas na Fig. 17-21A). Ao final da 6^a semana, os processos nasais mediais começam a se mesclar, reunindo a região dorsal das fossetas nasais aprofundadas, que se unem para formar um único saco nasal ectodérmico ampliado, disposto súpero-posterior ao processo intermaxilar (Fig. 17-21A, B). A partir do fim da 6^a semana para o início da 7^a semana, o assoalho e a parede posterior do saco nasal proliferam para formar uma espessa placa semelhante a uma barbatana, ou quilha, de ectoderma que separa o saco nasal da cavidade oral. Esta estrutura é denominada **barbatana nasal** (Fig. 17-21B). Vacúolos desenvolvem-se na barbatana nasal e se fundem com o saco nasal, alargando assim o saco e afinando a barbatana até uma fina membrana chamada de **membrana oronasal**, que separa o saco da cavidade oral (Fig. 17-21C). Esta membrana rompe-se durante a 7^a semana para formar uma abertura chamada **coana primitiva** (Fig. 17-21D). O assoalho da cavidade nasal nesta fase é formado por uma extensão posterior do processo intermaxilar denominado **palato primário** (Fig. 17-21E).

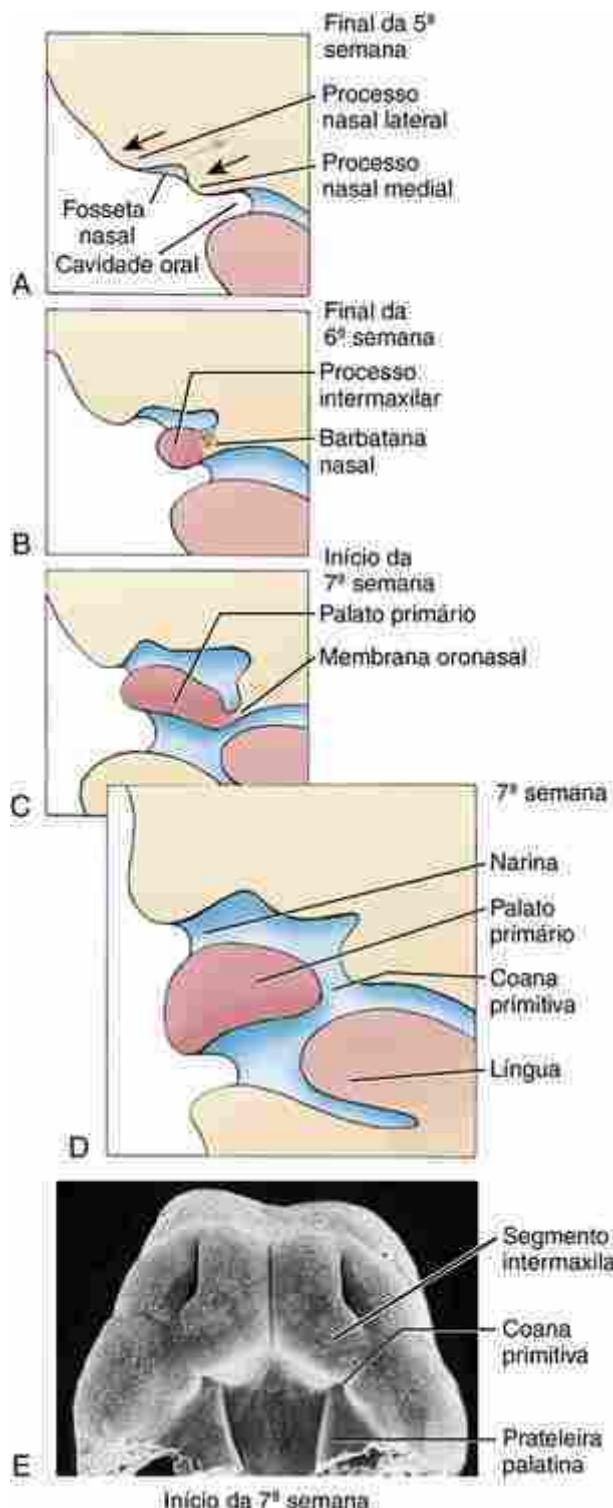


FIGURA 17-21 Formação da cavidade nasal e da coana primitiva (Fig. 17-18A para orientação dos cortes). A, B, As fossetas nasais invaginam-se para formar uma única cavidade nasal separada da cavidade oral por uma barbatana nasal. C-E, A barbatana nasal afina-se para formar a membrana oronasal, que se desintegra completamente para formar a coana primitiva. A extensão posterior do processo intermaxilar forma o palato primário.

Neste ponto as cavidades nasais e orais são contínuas, mas serão separadas durante a 7^a ou 8^a semana pela formação de lâminas palatinas, formadas como um par de extensões finas das paredes mediais das proeminências maxilares (Fig. 17-22A, B). Em primeiro lugar, essas lâminas crescem para baixo, paralelamente às superfícies laterais da língua. No entanto, no final da 7^a semana, elas giram rapidamente para cima, para uma posição horizontal e, em seguida, fundem-se uma com a outra e com o palato primário para formar o palato secundário (Fig. 17-22C, D). A rotação das lâminas palatinas foi atribuída à rápida síntese e hidratação do ácido hialurônico dentro da matriz extracelular das lâminas, e o alinhamento das lâminas elevadas em um plano horizontal pode ser determinado pela orientação do

colágeno e das células mesenquimais. A fusão ocorre próximo ao meio das lâminas palatinas e continua anterior e posteriormente. Durante a fusão, a costura epitelial medial desaparece, e uma ponte mesenquimal contínua é formada entre as duas lâminas palatinas (Fig. 17-22D). A região central, onde o palato primário e o palato secundário encontram-se, é marcada pelo forame incisivo (Fig. 17-22D). O crescimento e estreitamento do primórdio mandibular são também importantes para a elevação da lâmina palatina, uma vez que ela reduz a língua, que inicialmente preenche a cavidade oral (Fig. 17-22A, B). Portanto, a fissura palatina pode estar secundariamente associada aos defeitos de desenvolvimento da mandíbula inferior (ver o quadro “Na Clínica” intitulado “Fenda Facial”).

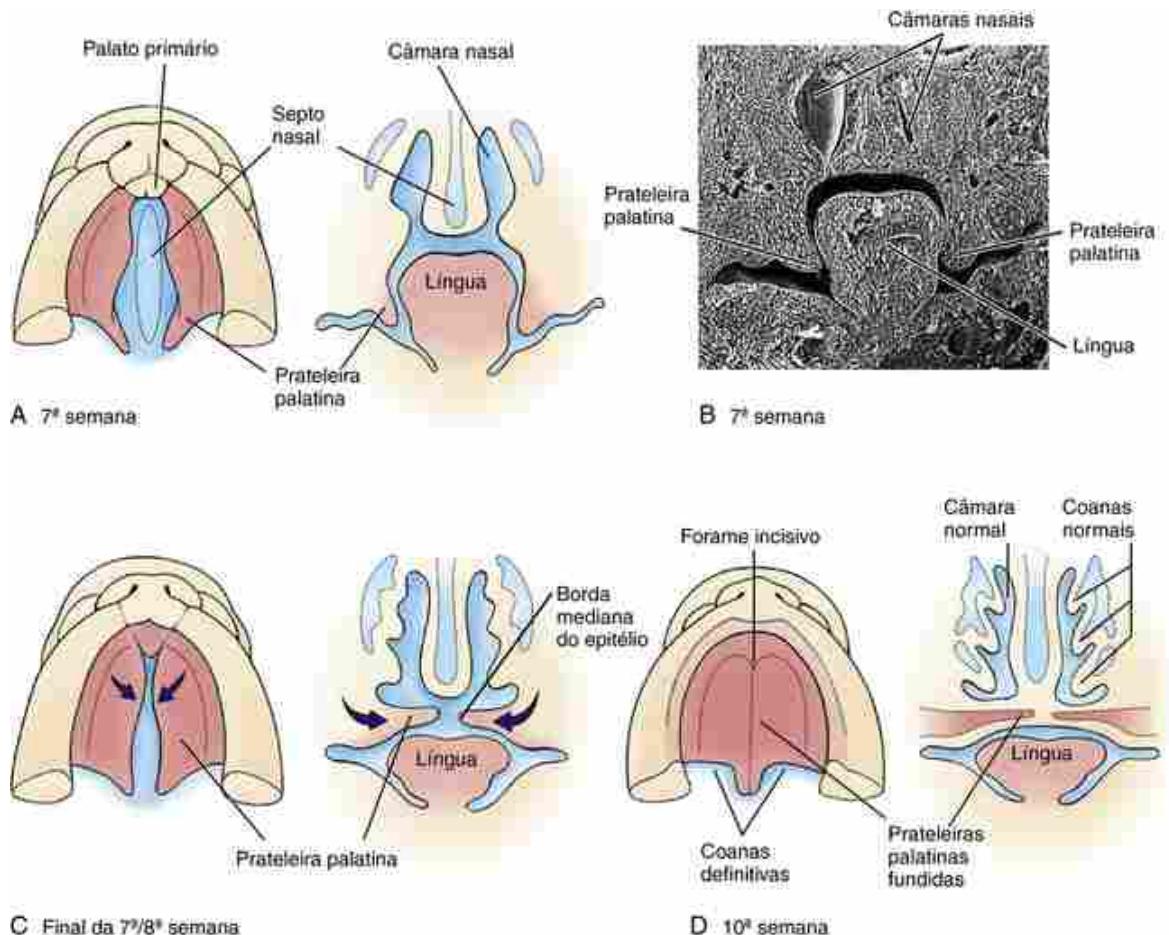


FIGURA 17-22 Formação do palato secundário e do septo nasal. O palato secundário forma-se a partir de prateleiras palatinas que crescem medialmente das saliências maxilares. Durante o mesmo período, o crescimento do septo nasal separa as passagens nasais da esquerda e direita. As prateleiras palatinas primeiro crescem inferiormente em ambos os lados da língua (A, B), mas, em seguida, giram para cima para se encontrarem na linha média (C), onde se fundem uma com a outra e com a borda inferior do septo nasal (D).

Condensações intramembranosa dentro do mesênquima na porção anterior ao palato secundário forma o **palato duro** ósseo. Defeitos no desenvolvimento ósseo resultam em uma **fissura palatina na submucosa**. Na porção posterior do palato secundário, mesênquima miogênico condensa-se para dar origem à musculatura do palato mole, que é inervado pelos nervos vago e trigêmeo (V3). No nascimento, o palato mole e a epiglote estão em contato. Portanto, os recém-nascidos são respiradores nasais obrigatórios. Consequentemente, a obstrução nasal, como a **atresia da coana** (obstrução da parte de trás da passagem nasal), afetará a capacidade do bebê de respirar. Entretanto, com a idade de 6 meses, o crescimento da laringe separa a epiglote e o palato mole.

Enquanto o palato secundário está se formando, o ectoderma e o mesênquima da proeminência frontonasal e dos processos nasais mediais proliferam para formar um **septo nasal** na linha média, que cresce para baixo a partir do teto da cavidade nasal para se fundir com a superfície superior dos palatos primários e secundários ao longo da linha média (Fig. 17-22). A cavidade nasal é agora dividida em duas **passagens nasais**, que se abrem na faringe através do palato secundário através de uma abertura chamada de **coana definitiva** (Fig. 17-22D).

Fenda facial

Como discutido anteriormente neste capítulo, a face é formada pelo crescimento e pela fusão de cinco saliências faciais. Falha completa ou parcial da fusão entre qualquer dessas saliências resulta em uma **fenda facial**, que pode ser unilateral ou bilateral, e é um componente de mais de trezentas síndromes. No entanto, em sua maioria as fendas orofaciais são não sindrômicas. As fendas faciais podem afetar a alimentação, a fala, a audição e a integração social. Os dois tipos mais comuns de fendas faciais são a **fenda labial** (Figs. 17-23 e 17-24) e a **fenda palatina** (Fig. 17-24). A fenda labial geralmente resulta da falha de união da proeminência maxilar com os processos nasais mediais, enquanto a fenda palatina resulta da falha das duas prateleiras palatinas em se fundir uma com a outra ao longo da linha média. A fenda labial mediana resultante da falha dos dois processos nasais mediais em se fundirem é muito mais rara (Fig. 4-12A no Cap. 4). Embora a fenda labial e a fenda palatina frequentemente ocorram juntas, os dois defeitos diferem em sua distribuição em relação ao sexo, associação familiar, raça e geografia. Portanto, elas provavelmente apresentam diferentes etiologias. A fenda labial ocorre mais frequentemente no lado esquerdo e é mais prevalente no sexo masculino, enquanto a fenda palatina isolada ocorre com mais frequência no sexo feminino. A fenda palatina é atribuída a um retardo de 1 semana na elevação da prateleira palatina em mulheres, que ocorre na 8^a semana, em comparação com a 7^a semana em homens.



FIGURA 17-23 Fissura labial bilateral. Esta malformação resulta da falha dos processos nasais mediais em se fundir com as saliências maxilares.

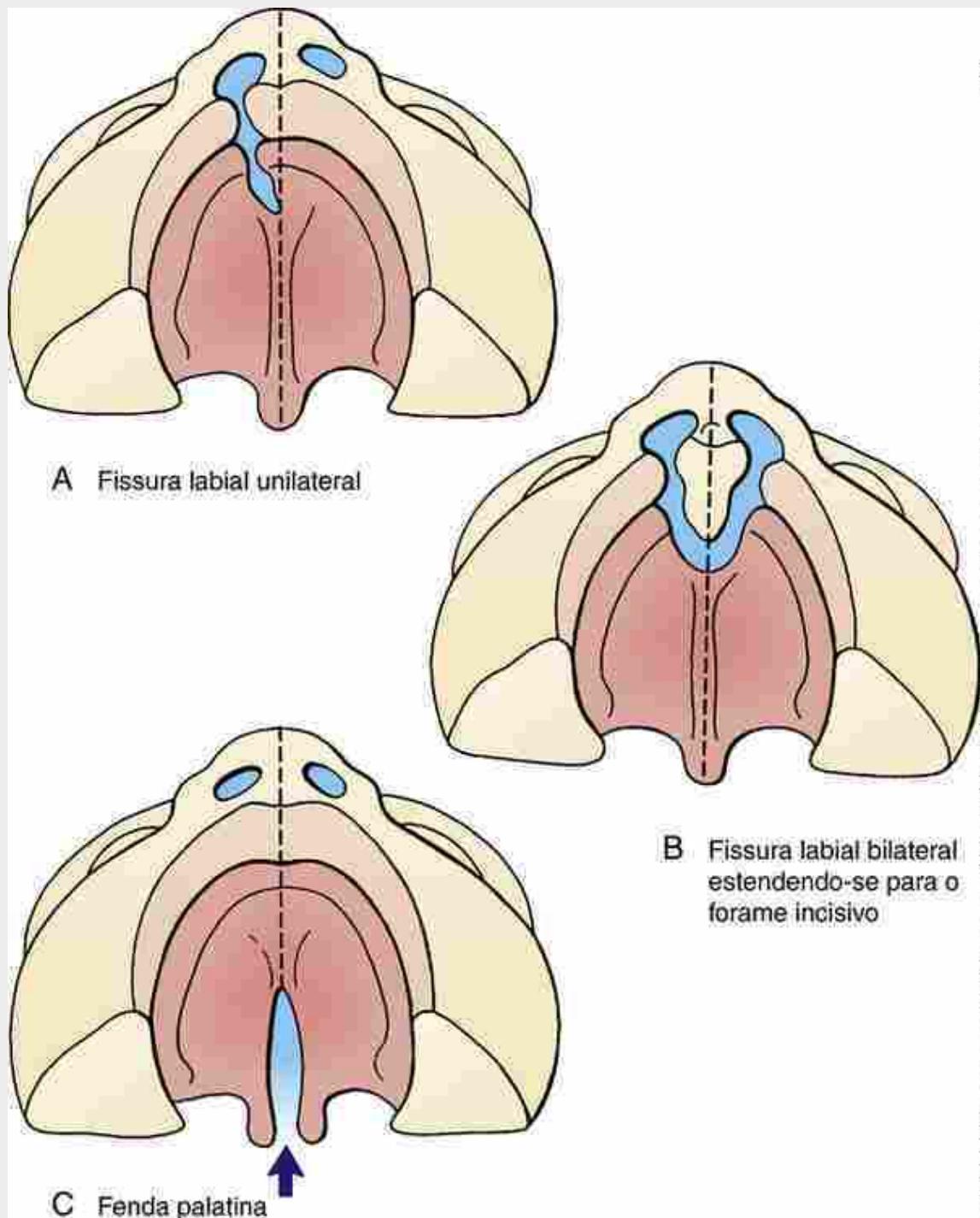


FIGURA 17-24 Fissura labial e fenda palatina. A, B, A fissura pode envolver apenas o lábio ou pode estender-se dorsalmente ao longo de uma ou de ambas as bordas do palato primário. C, A fenda palatina resulta da falha das prateleiras palatinas ao se fundirem corretamente durante o desenvolvimento do palato secundário. As setas indicam a lacuna palatina.

A etiologia das fendas orofaciais é geralmente multifatorial, e a um número de medicamentos comuns — incluindo a fenitoína anticonvulsivante (Dilantin®), vitamina A, alguns análogos da vitamina A, especialmente a isotretinoína, e alguns corticosteroides anti-inflamatórios — mostraram induzir a fenda labial em animais experimentais. A vitamina A e seus análogos são conhecidos por sua capacidade de causar defeitos faciais. Outros fatores ambientais incluem o tabagismo, o álcool, a infecção viral e a nutrição deficiente. A etiologia multifatorial é enfatizada pela concordância incompleta (*i.e.*, inferior a 100%) da fenda labial e palatina em gêmeos idênticos (25%). Mutações em um número de genes suscetíveis foram identificados, que, junto com fatores ambientais específicos, aumentam significativamente o risco de fendas (p. ex., mutações TGF3 com esteroides ou mutações no RECEPTOR B3 do GABA com anticonvulsivantes). Estudos de longo prazo mostraram que os pais, principalmente a mãe, de crianças com fendas orofaciais estão em maior risco de câncer, pois elas carregam mutações genéticas e/ou foram expostas a teratógenos/mutagênicos. Da mesma forma, crianças afetadas também mostram aumento

nas taxas de câncer, particularmente do pulmão e da mama — não está claro se este aumento reflete mutações genéticas subjacentes ou diferenças no estilo de vida/fatores ambientais.

A fenda labial tem sido relacionada ao subdesenvolvimento do mesênquima da proeminência maxilar e do processo nasal medial, o que resultaria em seu contato inadequado. A fenda resultante pode variar em comprimento de um pequeno entalhe na borda avermelhada do lábio, próximo à lateral do filtro, até a uma fenda que separa completamente a lateral do lábio do filtro e a cavidade nasal. A profundidade da fenda também varia: algumas fendas envolvem apenas o tecido mole do lábio; outras dividem a porção lateral do osso maxilar da região pré-maxilar (região onde se situam os incisivos) do palato primário. Fendas deste tipo muitas vezes resultam em dentes deformados, ausentes ou supranumerários. Os asiáticos e americanos nativos são mais suscetíveis à fenda labial (1/500 de nascidos vivos), enquanto populações africanas mostram uma menor incidência de fenda labial (1/2.000). A taxa de fenda labial em caucasianos é intermediária em aproximadamente 1/1.000. As fendas podem também ocorrem entre os processos nasais laterais e a proeminência maxilar (**fenda oblíqua**), expondo o ducto nasolacrimal, ou entre os primórdios maxilar e mandibular (**fendas laterais**). Embora extremamente raras, as fendas também podem formar-se ao longo da linha média das duas proeminências mandibulares (**fenda mandibular mediana**). Conforme as proeminências faciais se fundem, o epitélio próximo desintegra-se. Os remanescentes destas suturas epiteliais podem resultar em formação de cisto.

Qualquer um dos vários fatores patogênicos poderia explicar a fenda. Estes incluem a migração inadequada ou proliferação de células da crista neural, ectomesênquima, e morte excessiva de células. A fenda palatina também pode ocorrer como resultado da falha das prateleiras em se elevarem no tempo correto, defeitos no desenvolvimento muscular, um alargamento excessivo da cabeça, falha das prateleiras para se fundir, e ruptura secundária após fusão. A fenda palatina pode também ser uma consequência secundária de displasias mandibulares. Durante o desenvolvimento normal, o primórdio mandibular cresce, rebaixando, assim, a língua em relação às prateleiras palatinas e permitindo que elas se elevem. Quando o primeiro arco faríngeo não se desenvolve apropriadamente, a língua não se rebaixará e irá obstruir fisicamente a elevação da prateleira palatina. Esta fenda palatina secundária resultante de uma mandíbula menor (**micrognatia**) e ocorrendo com **glossoptose** (língua deslocada para trás) é referida como a **sequência de Pierre Robin** e é muitas vezes observada como parte das síndromes semelhantes, **síndromes de Stickler e Treacher Collins** (ver posteriormente o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Base de Desenvolvimento da Síndrome de Treacher Collins”).

Várias mutações em seres humanos têm sido agora associadas à fenda labial e palatina sindrômica. Estas incluem mutações em fatores de transcrição MSX1, TP63, FATOR REGULATÓRIO DO INTERFERON 6 (IRF6), e TBX22 e molécula de adesão celular RECEPTOR RELACIONADO AO POLIOVÍRUS 1 (PVR1, NECTIN-1). Mutações no IRF6 são responsáveis pela **síndrome de van der Woude**, a mais comum síndrome que combina fenda labial e palatina. Mutações no TBX22 (**fenda palatina mais anquiloglossia**) são as causas mais comuns de fenda palatina. A sequência de Pierre Robin isolada tem sido agora atribuída à desregulação da expressão do SOX9, um fator de transcrição essencial para a condrogênese, enquanto a síndrome de Stickler, que também mostra a tríade de defeitos de Pierre Robin, pode ser causada por mutações dominantes em colágenos que são expressas por condróцитos (ver Cap. 8 para cobertura adicional da diferenciação dos condróцитos). Estas mutações afetam o desenvolvimento da cartilagem de Meckel dentro do primeiro arco faríngeo, impactando o crescimento e redução da mandíbula.

No Laboratório de Pesquisa

Mecanismos ambientais e genéticos da fenda orofacial

O crescimento do primórdio facial é controlado por interações epitélio-mesenquimais; assim, quando o epitélio é removido, as proeminências faciais são truncadas. Estas interações são mediadas por fatores de crescimento que normalmente sinalizam em outros lugares (p. ex., Shh e membros das famílias de Bmp, Fgf e Wnt). Portanto, não é surpreendente que mutações em componentes destas vias e seus alvos a jusante foram associados à fenda labial e palatina. Por exemplo, mutações no BMP4, FGFR1, FGFR2, WNT3, WNT7A, GLI2, PTC1 e MSX1 foram todos ligados a fendas orofaciais.

Bmp4, Fgf8, Wnt3 e Shh são expressos no epitélio facial. Estes fatores sinalizam para o mesênquima subjacente para controlar a expressão de genes homeobox, proliferação celular e/ou sobrevivência da célula. Por exemplo, o Bmp4 controla a expressão de Msx1 no mesênquima subjacente. A perda da função de Bmps, de Fgfs, de Wnts ou de Shh resulta em fenda labial. Curiosamente, em mutantes de Bmp4, a fenda labial é capaz de curar-se espontaneamente durante o desenvolvimento. Portanto, em E12.5, 100% dos embriões apresentam fenda labial, enquanto em E14.5, esta porcentagem é reduzida a 12,5%, sugerindo que outros membros de Bmp podem ser

capazes de compensar a perda de Bmp4. Isto pode explicar, em parte, a fenda labial em microforma (um defeito no músculo orbicular da boca) que é observada em humanos com uma mutação no BMP4.

As mesmas vias de sinalização controlam o desenvolvimento das prateleiras palatinas, onde elas também regulam a expressão do gene homeobox, a proliferação e sobrevivência celular. Por exemplo, a sinalização de Fgf10 do mesênquima da prateleira palatina controla a expressão de Shh no epitélio da prateleira palatina (Fig. 17-25). O Shh, por sua vez, ativa a expressão de Bmp2 no mesênquima palatino, que, em seguida, induz a expressão de Msx1. A sinalização de Bmp também controla a expressão de p63 no epitélio. Finalmente, os sinais de Msx1 voltam pra Bmp2 para manter sua expressão. Portanto, uma rede de sinalização complexa entre o ectoderma e o mesênquima coordena o desenvolvimento da prateleira palatina.

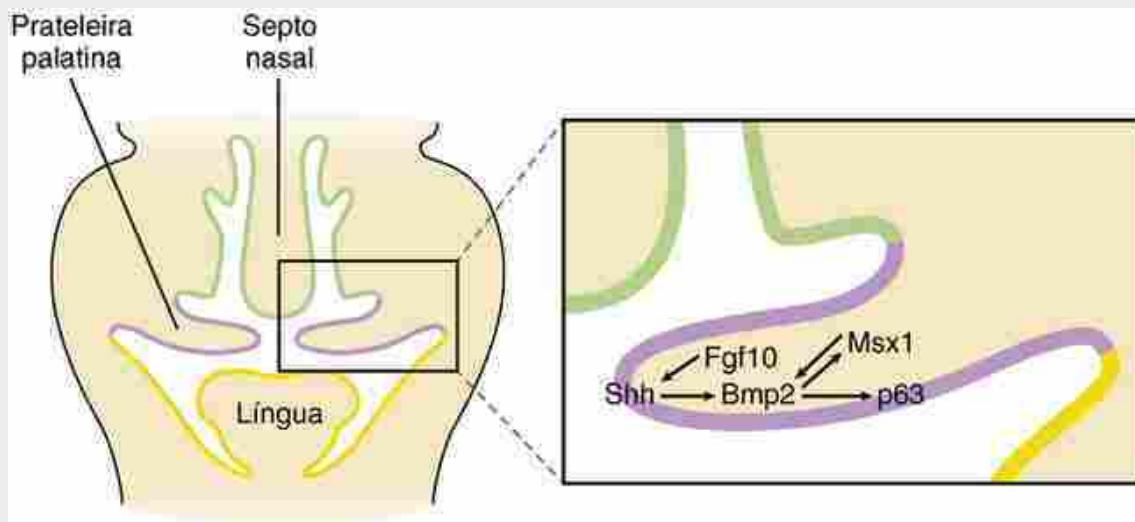


FIGURA 17-25 Fatores expressos no mesênquima e no epitélio das prateleiras palatinas atuam em uma rede regulatória para controlar o crescimento e a elevação da prateleira palatina. Desenho de um corte coronal através do nível oral-basal de um embrião e um alargamento da prateleira palatina (da área enquadrada na ilustração em menor aumento.)

O Wnt5a apresenta um novo papel durante a morfogênese da prateleira palatina no controle direto do movimento celular durante o crescimento das prateleiras palatinas. O gene homeobox, Stab2, também controla a padronização e o crescimento celular nas prateleiras palatinas em desenvolvimento, e em camundongos mutantes de Stab2, as prateleiras palatinas não se formam com uma forma e uma elevação correta no tempo.

A fusão dos primórdios faciais exige a remoção do epitélio para gerar um corpo uniforme de mesênquima. Em primeiro lugar, o periderma é descartado. Em segundo lugar, as células epiteliais estendem filopódios para o epitélio no primórdio adjacente para preencher a lacuna. Em terceiro lugar, aumento da adesão celular, e intercalação de célula epitelial, degradação da matriz, e finalmente segue-se com a morte celular epitelial. TGF3 e TGF, fatores ligados à suscetibilidade de fenda palatina em humanos, são essenciais para este processo. O Tgf3 e o Tgf são expressos na borda medial do epitélio (BME) das prateleiras palatinas, e em sua ausência, as células epiteliais não aderem. Enfatizando o principal papel da apoptose celular, a perda de função de Apaf1 em camundongo (fator de ativação da protease apoptótica 1, que é expressa na BME) resulta em fenda palatina. Outros fatores epiteliais fundamentais para a proliferação, sobrevivência e diferenciação do epitélio incluem o TP63 (Cap. 7), seu alvo a jusante IRF6, e PVR1. As mutações em todos esses fatores resultam em fenda labial/fenda palatina em humanos.

Foi obtida compreensão adicional sobre como fatores ambientais aumentam o risco de fenda. Por exemplo, em humanos, mutações em genes envolvidos nas vias de desintoxicação aumentam significativamente o risco de fendas orofaciais em mães que fumam durante a gravidez. Além disso, vários fatores de transcrição envolvidos na fenda labial e palatina (p. ex., MSX1, TBX22, TP63, STAB2) foram demonstrados que requerem modificação pós-translacional pela via Sumo (pequeno modificador relacionado com a ubiquitina). Acredita-se que a adição de porção de Sumo regula a localização nuclear e a atividade de transcrição. Mutações em SUMO1, uma enzima essencial nesta via, resulta em fenda palatina em humanos, o que demonstra o papel fundamental da sumoilação durante o desenvolvimento da prateleira palatina. Fatores ambientais, tais como radicais livres, hipoxia e infecção viral afetam a sumoilação de proteínas. Portanto, a mutação genética em um gene(s) suscetível(eis) em conjunto com defeitos na sumoilação devido a fatores ambientais terão efeitos aditivos, aumentando o risco de fendas.

Desenvolvimento dos seios

Ao nascimento, a relação entre o volume do esqueleto facial e o volume da calota craniana é cerca de 1:7. Durante o período neonatal e a infância, esta proporção diminui de forma constante, principalmente como resultado de desenvolvimento dos dentes e do viscerocrânio, em conjunto com o crescimento de quatro pares de **seios paranasais**: **seios maxilares, etmoidais, esfenoidais e frontais** (Fig. 17-26). Os seios maxilares, etmoidais e frontais desenvolvem-se de invaginações da cavidade nasal, que se estendem para os ossos, enquanto os seios esfenoidais formam-se pelo fechamento do recesso esfenoetmoidal. Os seios maxilares, o maior dos seios paranasais, forma-se durante o terceiro mês fetal como invaginações do saco nasal que lentamente se expandem para dentro dos ossos maxilares. As cavidades resultantes são muito pequenas no nascimento (tamanho de uma ervilha), mas continuam a se expandir durante toda a infância. A invaginação inicial dos seios é denominada **pneumatização primária**, enquanto a expansão é conhecida como **pneumatização secundária**. Os seios esfenoides e frontais iniciam o desenvolvimento durante o quarto mês fetal e passam por pneumatização secundária (*i.e.*, expansão) durante a infância. Os seios frontais não são radiograficamente visíveis até o 5º ou 6º ano após o nascimento. Cada seio frontal, na verdade, consiste de dois espaços independentes que se desenvolvem de diferentes fontes. Um se forma pela expansão do seio etmoidal no osso frontal, e o outro se desenvolve de uma invaginação independente do meato médio da passagem nasal (o espaço subjacente à concha nasal média). Como essas cavidades nunca coalescem, elas drenam independentemente. Os seios etmoidais formam-se durante o 5º mês fetal como invaginações do meato médio das passagens nasais e crescem no osso etmoide após o nascimento. O crescimento dos seios continua até a idade adulta.

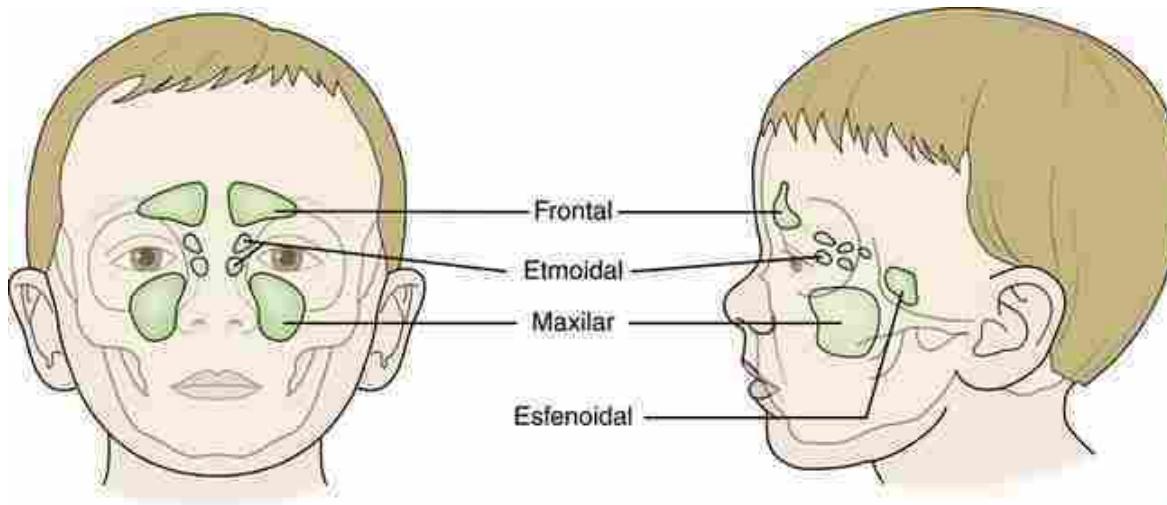


FIGURA 17-26 Localizações dos quatro pares de seios paranasais.

Destino dos sulcos faríngeos

Como descrito anteriormente, os arcos faríngeos são separados externamente pelos sulcos faríngeos e internamente pelas bolsas faríngeas (Fig. 17-27A; ver também Fig. 17-9D, E). O primeiro sulco e bolsa faríngea, localizados entre o primeiro e o segundo arcos faríngeos, participam na formação da orelha: o primeiro sulco torna-se o **meato auditivo externo** e a **parte externa da membrana timpânica**. A primeira bolsa expande-se para contribuir para uma cavidade chamada **recesso tubotimpânico**, que se diferencia para se tornar a **cavidade timpânica** da orelha média e a **tuba auditiva** (Eustáquio). O desenvolvimento destas estruturas é discutido em maiores detalhes no [Capítulo 18](#).

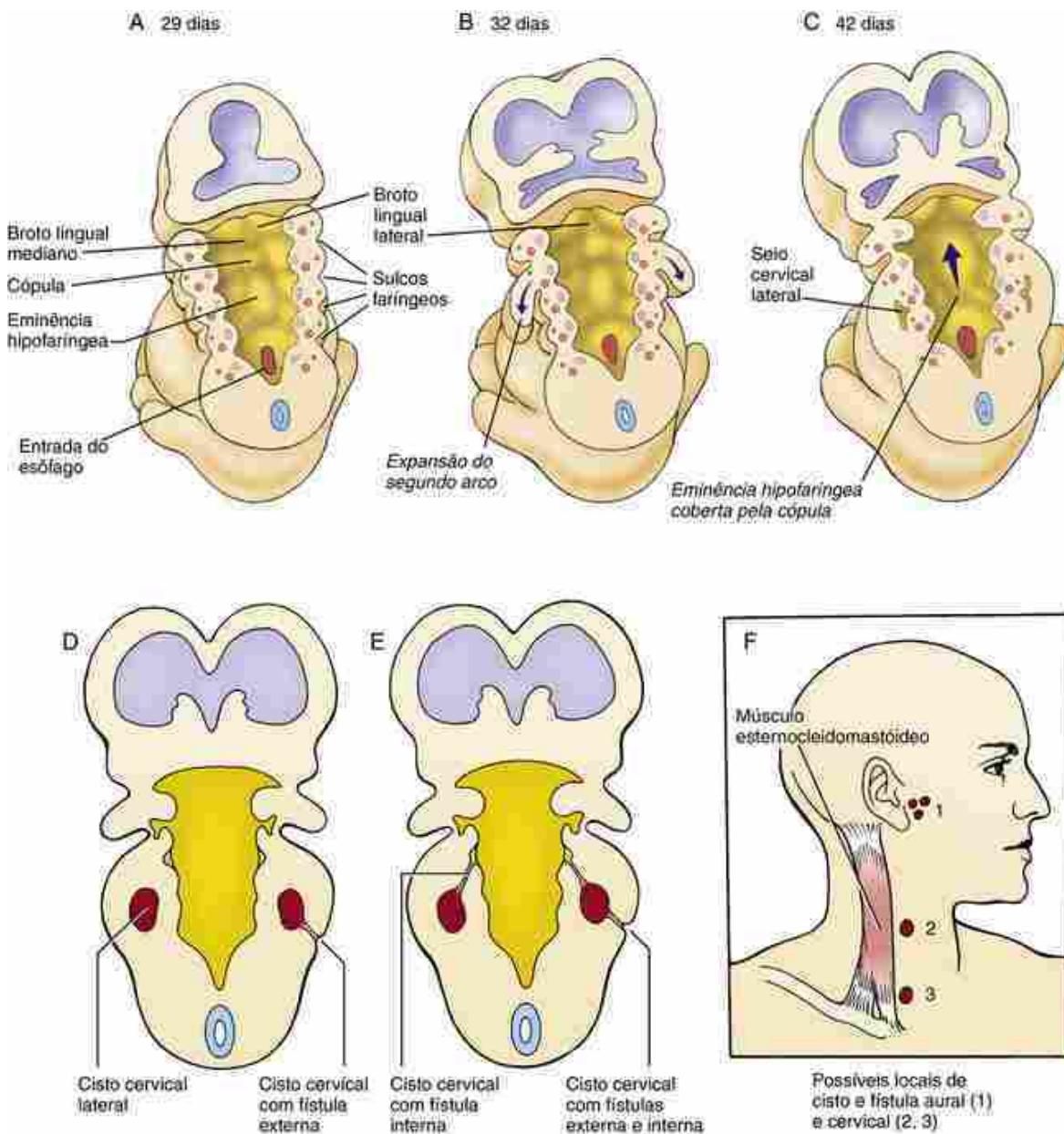


FIGURA 17-27 Destinos normais e anormais das fissuras faríngeas. A-C, Três estágios no desenvolvimento normal. A primeira fissura faríngea forma o meato auditivo externo. O segundo arco faríngeo expande-se e se funde com a eminência cardíaca para cobrir os sulcos faríngeos remanescentes, que formam o seio cervical lateral transitório. D-F, Formação de cistos. D, E, Cortes através da faringe e dos arcos faríngeos mostram que os cistos cervicais podem ser isolados ou podem se conectar com a pele do pescoço por uma fistula cervical externa, ou para a faringe por uma fistula interna, ou de ambas as formas. F, Cistos cervicais laterais (2, 3) estão localizados próximo à região medial da borda anterior do músculo esternocleidomastóideo. Derivados anômalos do primeiro sulco faríngeo, conhecidos como cistos aurais (ou pré-auriculares), podem formar-se anteriormente à orelha (1).

Os três sulcos faríngeos restantes são normalmente obliterados durante o desenvolvimento. Durante a 4^a e a 5^a semanas, o segundo arco faríngeo rapidamente se expande crescendo sobre estes sulcos e se funde caudalmente com a eminência cardíaca, confinando os sulcos em um **seio cervical lateral** revestido por ectoderma (Fig. 17-27B, C). Este espaço normalmente desaparece rápido e completamente.

Entretanto, o seio cervical lateral persiste em um ou em ambos os lados, sob a forma de um **cisto cervical** localizado próximo à região anterior do músculo esternocleidomastóideo (locais 2 e 3 na Fig. 17-27F). Um cisto completamente fechado pode se expandir para formar um nódulo palpável conforme seu revestimento epitelial descama ou quando se torna infeccionado. Ocionalmente, os cistos comunicam-se com a pele através de uma **fistula cervical externa** ou com a faringe através de uma **fistula cervical interna** (Fig. 17-27D, E). As fistulas cervicais internas, mais frequentemente, abrem-se em um derivado embrionário da segunda bolsa, a **tonsila palatina**. Menos frequentemente, elas se comunicam com derivados da terceira bolsa. Raramente, um cisto cervical apresenta tanto fistulas internas e externas (Fig. 17-27E). Os cistos deste tipo podem ser diagnosticados pela drenagem da mucosa através de pequenas aberturas

da fistula externa no pescoço, na borda anterior do músculo esternocleidomastóideo (Fig. 17-27F). Os cistos cervicais são geralmente de menor importância clínica, mas exigem ressecção quando se tornam seriamente infecionados.

Com pouca frequência, a duplicação do primeiro sulco faríngeo resulta na formação de um seio do primeiro sulco ou uma fistula auricular cervical revestida por ectoderma, localizada nos tecidos anteriores ao meato acústico externo (a denominada área pré-auricular; local 1 na Fig. 17-27F). Um seio do primeiro sulco totalmente fechado pode tornar-se aparente como um inchaço próximo à região anterior ao pavilhão auricular ou orelha externa. Alternativamente, ele pode drenar para o exterior através da fistula auricular cervical, que normalmente abre-se no canal auditivo externo. Dependendo de sua posição, um cisto ou fistula do primeiro sulco pode comprometer o nervo facial se eles se tornarem infecionados e podem exigir ressecção. Fossetas, seios ou fistulas periauriculares (ou pré-auriculares) podem também surgir como resultado de defeitos de fusão das saliências periauriculares durante a formação da orelha externa (Cap. 18).

Arcos faríngeos dão origem à língua

No final da 4^a semana, o assoalho da faringe consiste de cinco arcos faríngeos e das interpostas bolsas faríngeas. O desenvolvimento da língua começa no final da 4^a semana, quando o primeiro arco forma uma saliência mediana denominada **broto lingual mediano** ou **tubérculo ímpar** (Fig. 17-28A). Um par adicional de saliências laterais, os **brotos linguais distais** (também denominados **saliências linguais laterais**), desenvolvem-se no primeiro arco no início da 5^a semana e rapidamente se expande crescendo sobre o broto lingual mediano (Fig. 17-28A-D). Essas saliências continuam a crescer ao longo da vida embrionária e fetal e formam os dois terços anteriores da língua.

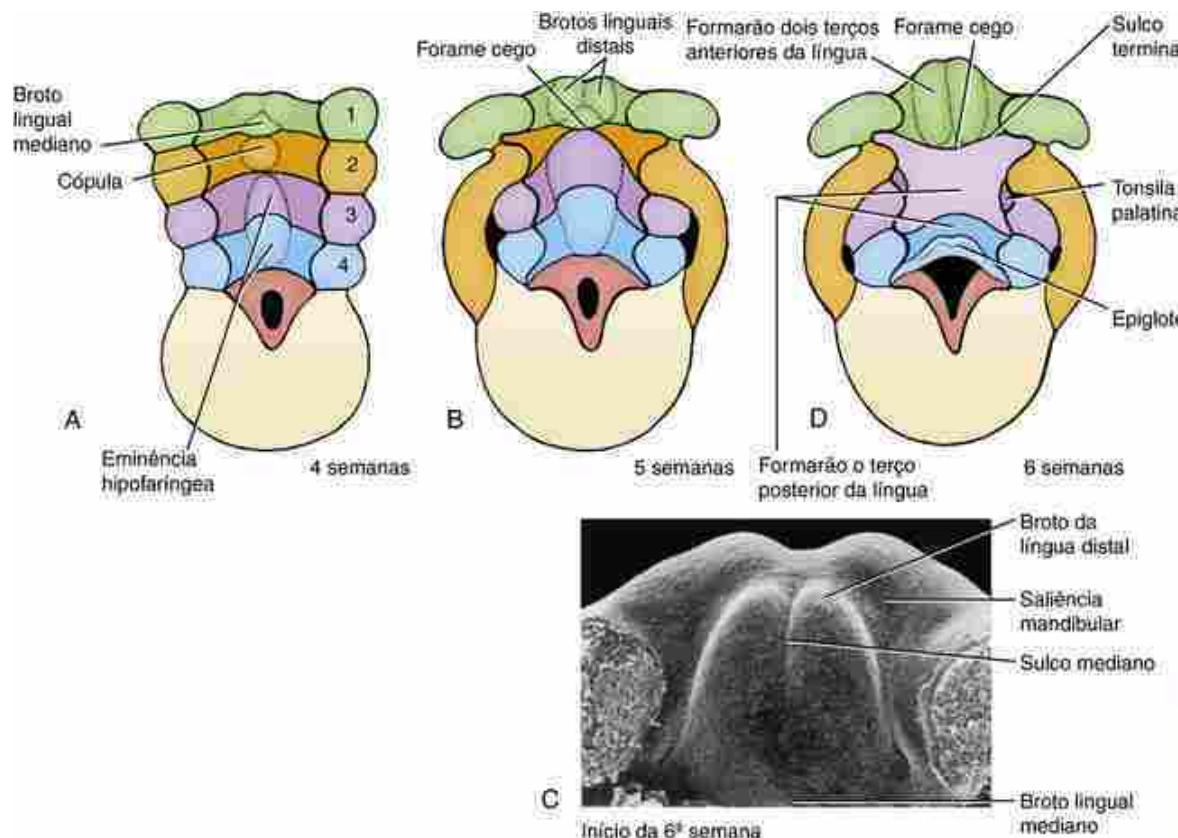


FIGURA 17-28 Desenvolvimento da mucosa da língua a partir do endoderma do assoalho faríngeo. A, B, D, Desenhos mostrando que a mucosa dos dois terços anteriores da língua desenvolvem-se principalmente de brotos linguais distais (saliências linguais laterais) do primeiro arco faríngeo, enquanto o revestimento mucoso do terço posterior da língua é formado pela eminência hipofaríngea do terceiro e do quarto arcos faríngeos, que recobrem a cúpula do segundo arco. C, Eletromicrografia de varredura da língua em desenvolvimento.

No final da 4^a semana, o segundo arco desenvolve uma saliência na linha média chamada de **cúpula** (Fig. 17-28A). Esta saliência é rapidamente coberta durante a 5^a e a 6^a semanas por uma saliência na linha média do terceiro e do quarto arcos denominada **eminência hipofaríngea**, que dá origem ao terço posterior da língua (Fig. 17-28A). A **epiglote** desenvolve-se próxima à região posterior da eminência hipofaríngea (Fig. 17-28A, B, D). A eminência hipofaríngea expande-se principalmente pelo crescimento do endoderma do terceiro arco, enquanto o quarto arco

contribui apenas em uma pequena região no aspecto mais posterior da língua (Fig. 17-28D). Assim, a maior parte da mucosa da língua é formada pelo primeiro e pelo terceiro arcos. Durante seu desenvolvimento, a superfície ventral da língua é inicialmente fixada ao assoalho da boca (Fig. 17-28C). Esta fixação eventualmente regide na região anterior, liberando, assim, a parte anterior da língua, mas mais posteriormente ela persiste como o **frênuo**. Quando esta regressão falha em ocorrer, o defeito resultante é chamado de **anquiloglossia** (língua presa). A Tabela 17-2 resume as origens das partes da língua em desenvolvimento.

Tabela 17-2

Desenvolvimento da língua a partir dos arcos faríngeos 1 a 4 e dos somitos occipitais

Precursor Embryônário	Estrutura Intermediária	Estrutura no Adulto	Inervação
Arco faríngeo 1	Broto lingual mediano	Recoberto pelas saliências linguais laterais	Ramo lingual (sensorial) da divisão mandibular do nervo trigêmeo (V)
	Saliências linguais laterais	Mucosa dos dois terços anteriores da língua	Corda do tímpano a partir do nervo facial (VII; inervação do arco 2) (inerva todos os brotos gustativos, exceto os das papilas circunvaladas)
Arco faríngeo 2	Cópula	Recoberto por outras estruturas	
Arco faríngeo 3	Grande parte ventral da eminência hipofaríngea	Mucosa da maior parte do terço posterior da língua	Ramo sensorial do nervo glossofaríngeo (IX) (também supre as papilas circunvaladas)
Arco faríngeo 4	Pequena parte dorsal da eminência hipofaríngea	Mucosa de uma pequena região no lado dorsal do terço posterior da língua	Fibras sensoriais do ramo laríngeo superior do nervo vago (X)
Somitos occipitais	Mioblastos	Músculos intrínsecos da língua	Nervo hipoglosso (XII)
Mesoderma da cabeça	Mioblastos	Músculo palatoglosso	Plexo faríngeo do nervo vago (X)

As características da superfície da língua definitiva refletem sua origem embrionária. O limite entre as contribuições do primeiro arco e do terceiro arco — aproximadamente, o limite entre os dois terços anteriores e o terço posterior da língua — é marcado por um sulco transversal chamado de **sulco terminal** (Fig. 17-28D). A linha de fusão entre os brotos linguais distais direito e esquerdo é marcada por um sulco na linha média, o **sulco mediano**, nos dois terços anteriores da língua. Uma depressão denominada **forame cego** é visível onde o sulco mediano intersecta o sulco terminal (Fig. 17-28B, D). Como discutido na próxima seção, esta depressão é o local de origem da glândula tireoide.

Todos os músculos da língua, exceto o **palatoglosso**, são formados pelo mesoderma derivado dos miótomas dos somitos occipitais, e a proliferação deste mesoderma é responsável pela maior parte do crescimento dos primórdios da língua. A inervação dos músculos da língua é de acordo com sua origem: todos os músculos, exceto o palatoglosso, são inervados pelo **nervo hipoglosso**, que é o nervo craniano associado aos somitos occipitais; o palatoglosso é inervado pelo **plexo faríngeo do nervo vago**.

O revestimento de mucosa da língua é derivado do endoderma do arco faríngeo e é inervado pelos ramos sensoriais dos quatro nervos cranianos correspondentes (V, VII, IX e X; Tabela 17-2 e Fig. 17-13). Desse modo, a mucosa da língua é inervada por diferentes nervos daqueles que inervam a musculatura da língua (a maior parte da musculatura da língua, como descrito no parágrafo anterior, é inervada pelo nervo craniano XII). Os receptores sensoriais gerais sobre os dois terços anteriores da língua são fornecidos por um ramo do nervo mandibular (nervo craniano V₃), chamado de **nervo lingual**. Os botões gustativos dos dois terços anteriores da língua são supridos por um ramo especial do nervo facial (nervo craniano VII) chamado de **corda timpânica**. Em contraste, as papilas circunvaladas (uma linha de grandes botões gustativos flanqueando o sulco terminal) e as terminações dos sensoriais gerais, na maior parte do terço posterior da língua, são supridas pelo **nervo glossofaríngeo** (nervo craniano IX). A pequena área no aspecto mais posterior da língua, que é derivada do quarto arco faríngeo, e a epiglote recebem inervação sensorial do ramo **laríngeo superior** do nervo vago (nervo craniano X).

No Laboratório de Pesquisa

Botões gustativos desenvolvem-se de placoides, e seu desenvolvimento requer inervação

Como outros derivados epiteliais (discutidos no Cap. 7), os botões gustativos desenvolvem-se a partir de placoides epiteliais, o placoide papilar, que sofre interações epitélio-mesenquimais para formar a papila final. Seguindo a formação do placoide, o placoide inicialmente evagina-se e depois se diferencia para formar as células especializadas da papila (*i.e.*, células gustativas e sensoriais, células de suporte e células basais). Existem três tipos de papilas: **fungiformes**, **circunvaladas** e **foliáceas**.

O desenvolvimento da papila fungiforme, como outras estruturas derivadas de epitélio, requer sinalização de Wnt e Bmp (Cap. 7). A sinalização de Wnt é necessária para a iniciação do desenvolvimento do placoide, e o desenvolvimento da papila fungiforme é bloqueado na ausência da sinalização de Wnt canônica. As papilas fungiformes estão dispostas em um arranjo ordenado em toda região anterior da língua (Fig. 17-29). Como ocorre para os folículos pilosos (Cap. 7), este padrão espacial é gerado pela sinalização de Bmp do placoide do botão gustativo, que inibe o desenvolvimento de placoide em células vizinhas. O placoide também expressa o antagonista de Bmp, noggin, que garante que apenas as células epiteliais vizinhas recebam o sinal de Bmp.



FIGURA 17-29 Brotos gustativos em desenvolvimento. Eletromicrografia de varredura mostrando brotos gustativos em desenvolvimento e sua inervação sensorial (vermelho). Os sinais provenientes do broto gustativo em desenvolvimento orientam a migração dos nervos sensoriais.

As papilas expressam fator neurotrófico derivado do encéfalo (Bdnf), que promove a migração de nervos sensoriais para as papilas (Fig. 17-29): a perda de papilas está ligada à diminuição no número de neurônios sensoriais, enquanto a formação de um excesso de número de papilas, por exemplo, pelo aumento de sinalização de Wnt, está associado ao aumento de inervação. Embora a padronização de papilas fungiformes pareça ser intrínseca ao endoderma, a inervação é fundamental para estágios posteriores do desenvolvimento e manutenção

do desenvolvimento do botão. Botões gustativos são regenerados durante toda a vida.

Desenvolvimento da glândula tireoide

A Figura 17-30 ilustra a embriogênese da **glândula tireoide**. O primeiro primórdio da glândula forma-se no final da 4^a semana e aparece como uma pequena massa sólida de endoderma proliferando no ápice do forame cego na língua em desenvolvimento. O primórdio da tireoide desce através dos tecidos do pescoço na extremidade de um estreito **ducto tireoglosso**. O ducto tireoglosso rompe-se no final da 5^a semana, e a tireoide isolada agora consiste em lobos laterais conectados por um istmo bem definido, que continua a descer, alcançando sua posição definitiva logo abaixo da cartilagem cricoide, por volta da 7^a semana. Estudos sobre a capacidade da tireoide embrionária em incorporar iodo nos hormônios da tireoide e secretar estes hormônios na circulação mostraram que esta glândula começa a funcionar já na 10^a ou 12^a semana no embrião humano. O desenvolvimento da glândula tireoide torna-se investida com células da crista neural assim como células de corpos ultimobranquiais. Os corpos ultimobranquiais formam as células parafoliculares, as células C, que produzem **calcitonina**.

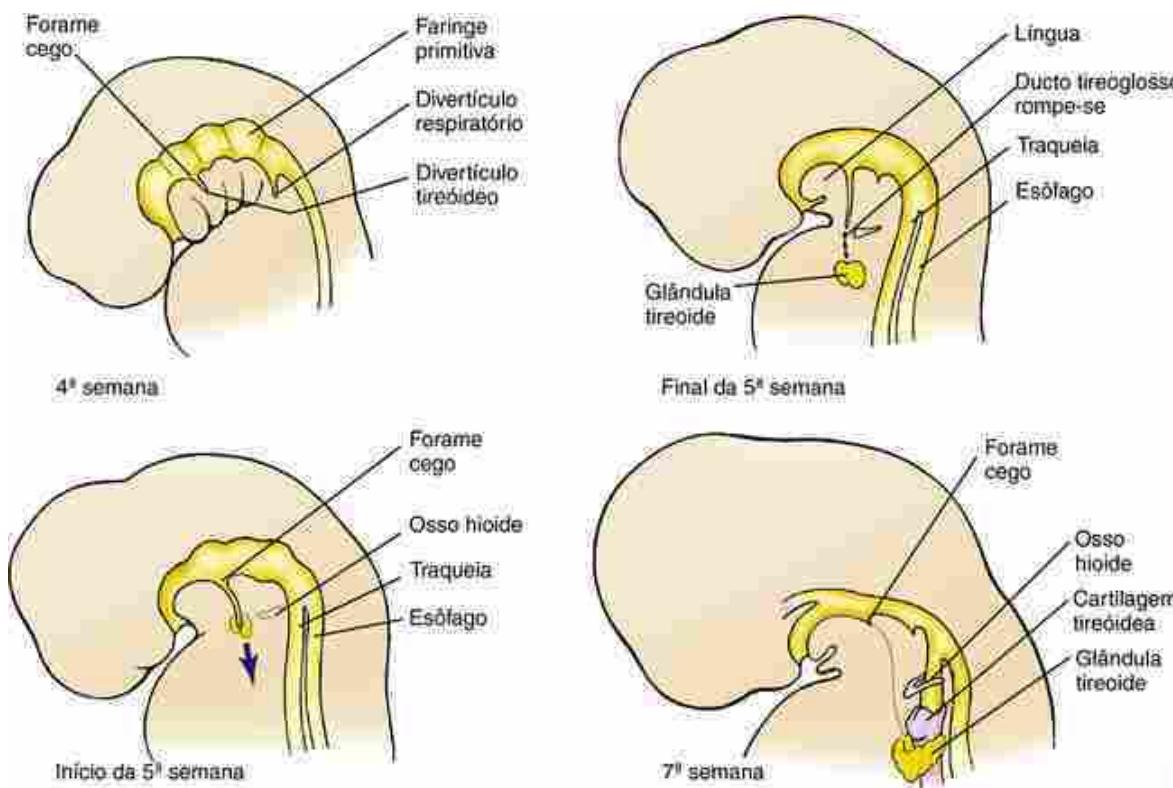


FIGURA 17-30 A tireoide origina-se como uma proliferação endodérmica na extremidade do forame cego da língua em desenvolvimento e migra inferiormente até a sua localização final anterior e inferior à laringe. Até a 5^a semana, a tireoide permanece conectada ao forame cego pelo ducto tireoglosso. A glândula atinge sua localização definitiva na 7^a semana. A seta indica a direção de migração da glândula tireoide em desenvolvimento.

A função da tireoide é necessária para o desenvolvimento do encéfalo. O hipotireoidismo é caracterizado pelo retardo mental, surdez, hipertonia muscular e nanismo. A deficiência de iodo é uma das principais causas de retardo mental. O **hipotireoidismo congênito** é o distúrbio mais comum do sistema endócrino, afetando aproximadamente 1 em 3.500 crianças. O hipotireoidismo congênito pode ser consequência da **atireose** (ausência da glândula tireoide), **tireoide ectópica** (glândula tireoide mal posicionada), **hipoplasia da tireoide** ou **disormonogênese** (incapacidade para sintetizar hormônios da tireoide devido às mutações nos genes necessários para produção de tiroxina). Na síndrome de **DiGeorge** (também denominada de síndrome de deleção 22q11.2), um defeito no desenvolvimento dos arcos faríngeos caudais afeta o desenvolvimento normal da tireoide (discutido no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Base de Desenvolvimento da Síndrome de DiGeorge”). As mutações em NKX2.1, PAX8, FOXC1 e no HHEX em humanos também resulta em hipoplasia/atireose da tireoide. Estes fatores de transcrição são necessários para formação e função do broto da tireoide e, estágios posteriores do desenvolvimento da tireoide.

Normalmente, o único remanescente do ducto tireoglosso é mesmo o forame cego. Entretanto, ocasionalmente, uma

porção do ducto persiste como um **cisto tireoglosso** ou um **seio tireoglosso**, que se abre na superfície do pescoço. Raramente, um fragmento da tireoide se solta durante a descida da glândula e forma um pedaço de tecido tireoidiano ectópico (**ectopia da tireoide**), que pode estar localizado em qualquer lugar ao longo da rota de descida. Frequentemente (*i.e.*, cerca de 50% da população), tecido tireoidiano adicional pode formar-se sobre ou próximo à superfície superior da tireoide, formando o chamado **lobo piramidal**.

Desenvolvimento das bolsas faríngeas

As [Figuras 17-31](#) e [17-32](#) resumem a origem e a migração das estruturas que dão origem às bolsas faríngeas. O destino da primeira bolsa faríngea, que se diferencia em cavidade timpânica e na tuba auditiva, é discutido no [Capítulo 18](#).

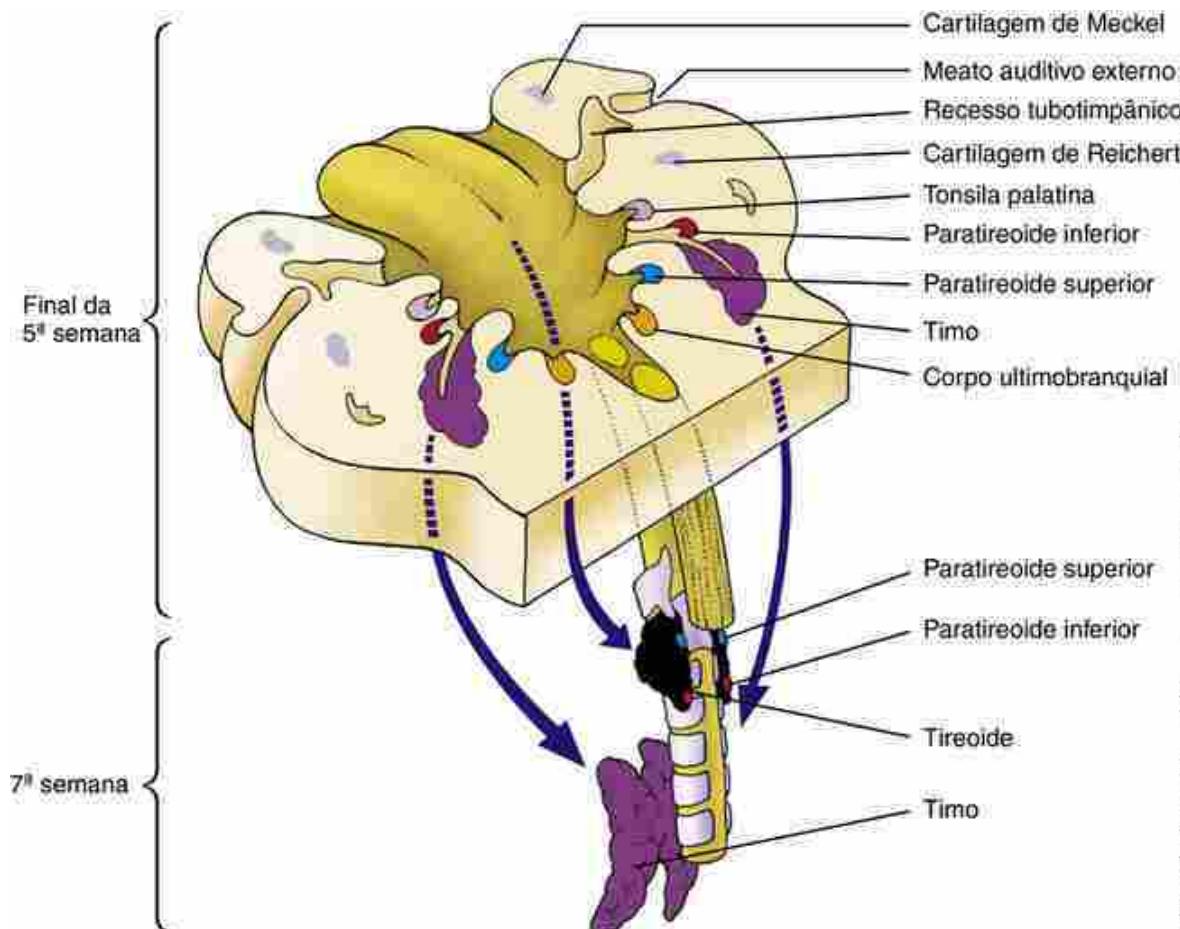


FIGURA 17-31 Desenvolvimento dos derivados das bolsas faríngeas. Todos estes derivados da bolsa faríngea dão origem a estruturas no adulto. Estas estruturas são o recesso tubotimpânico (1^a bolsa), as tonsilas palatinas (2^a bolsa), a glândula paratireoide inferior e o timo (3^a bolsa), a glândula paratireoide superior (4^a bolsa) e o corpo ultimobranquial (telofaríngeo) (parte inferior da 4^a bolsa ou uma 5^a bolsa hipotética). As paratireoides, o primódio do timo e os corpos ultimobranquiais separam-se do revestimento da faringe e migram para seus locais definitivos dentro do pescoço e do tórax.

- Paratireoide III (inferior)
- Paratireoide IV (superior)
- Corpo ultimobranquial
- Timo
- Tiroide

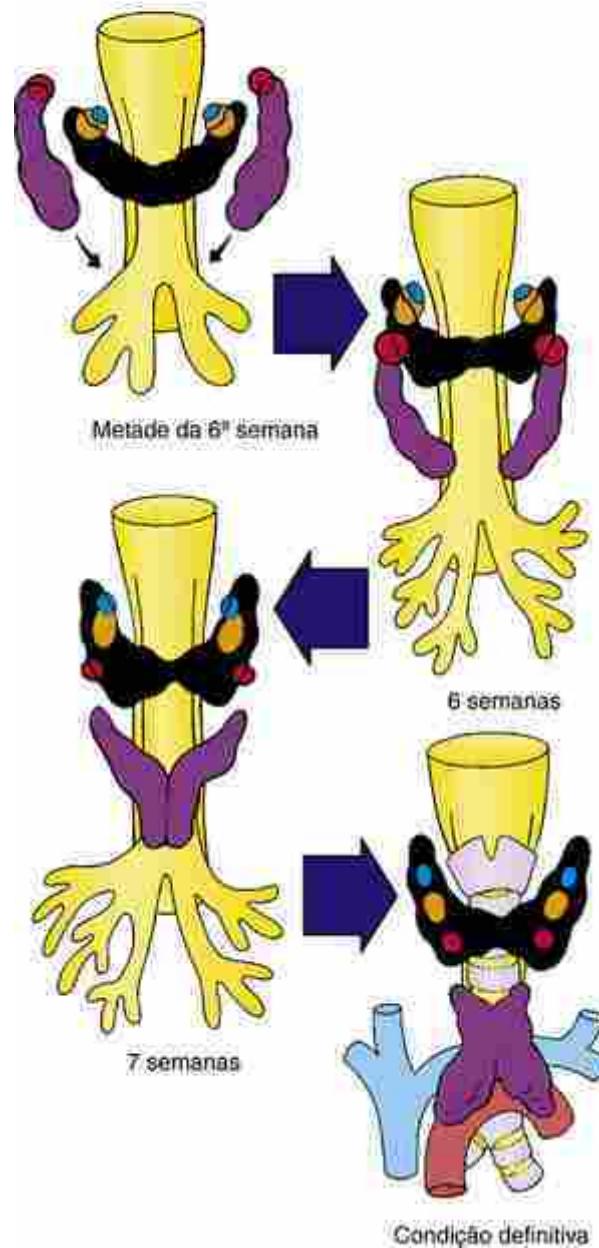


FIGURA 17-32 Migração dos derivados da bolsa faríngea. As glândulas paratireoides e os corpos ultimobranquiais migram inferiormente para tornarem-se incrustados na parede posterior da glândula tireoide. As duas paratireoides trocam de posição à medida que migram: a paratireoide III torna-se a paratireoide inferior, enquanto a paratireoide IV torna-se a paratireoide superior.

As tonsilas palatinas originam-se do revestimento endodérmico da segunda bolsa faríngea (localizada entre o segundo e o terceiro arcos). O desenvolvimento destas tonsilas começa no início do terceiro mês conforme o epitélio da segunda bolsa prolifera para formar brotos, ou saliências, endodérmicas sólidas, que crescem no mesênquima subjacente, que dará origem ao estroma da tonsila. As células centrais destes brotos morrem e são descartadas, convertendo os brotos sólidos em **criptas tonsilares** infiltradas por tecido linfoide. Entretanto, os folículos linfáticos definitivos da tonsila não se formam até os últimos três meses de vida pré-natal.

Tonsilas linfáticas semelhantes, denominadas **tonsilas faríngeas**, desenvolvem-se em associação às glândulas mucosas da faringe. As principais tonsilas faríngeas são as **adenoides**, as **tonsilas tubárias** (associadas às tubas

auditivas) e as **tonsilas linguais** (associadas às regiões posteriores da língua). Também são formados pequenos pedaços de tecido linfoide interpostos.

A terceira bolsa faríngea dá origem ao timo e às glândulas paratireoides inferiores. Os dois primórdios do timo surgem no final da 4^a semana sob a forma de proliferações endodérmicas na extremidade de alongamentos ventrais das terceiras bolsas faríngeas. Estas proliferações endodérmicas formam tubos ocos que invadem o mesênquima subjacente e depois se transforma em cordões ramificados sólidos. Estes cordões são os primórdios dos lóbulos tímicos poliédricos.

Entre a 4^a e a 7^a semana, a glândula do timo perde suas conexões com a faringe e migra caudal e medialmente para sua posição definitiva, inferior e ventral à tireoide em desenvolvimento e próximo à região dorsal do esterno. Lá eles são unidos através de tecido conjuntivo para formar uma única glândula do timo bilobada. Neste ponto, o timo é ainda epitelial, mas rapidamente se torna infiltrado por células da crista neural para formar septos e cápsulas. Durante o terceiro mês, linfócitos e células dendríticas infiltram no timo, e por volta da 12^a semana, cada lóbulo tímico apresenta 0,5 a 2 mm de diâmetro e possui um córtex e uma medula bem definidos. Acredita-se que os **corpúsculos de Hassal** na medula, semelhantes a uma espiral, surjam a partir de células ectodérmicas do terceiro sulco faríngeo. Os corpúsculos de Hassal produzem sinais necessários para o desenvolvimento de células T reguladoras. Acredita-se que o **retículo epitelial**, organizado frouxamente, seja de origem endodérmica.

O timo é altamente ativo durante o período peri-natal e continua a crescer durante toda a infância, alcançando a sua dimensão máxima na puberdade. Após a puberdade, a glândula involui rapidamente e é representada apenas por insignificante vestígio fibrogorduroso no adulto.

Os rudimentos das **glândulas paratireoides inferiores (paratireoides III)** formam-se na porção dorsal da terceira bolsa, e os rudimentos das **glândulas paratireoides superiores (paratireoides IV)** formam-se na quarta bolsa, no início da 5^a semana. Elas se soltam da parede da faringe e migram inferior e medialmente, chegando ao seu destino por volta da 7^a semana. As glândulas paratireoides inferiores situam-se no lado dorsal da extremidade inferior do lóbulo da tireoide, enquanto as glândulas paratireoides superiores estão em uma posição ligeiramente superior às glândulas paratireoides inferiores. Desta maneira, as paratireoides superiores surgem mais inferiormente na faringe do que as paratireoides inferiores, e as duas glândulas mudam de posição durante sua descida; seus nomes refletem suas posições relativas finais.

Durante a 5^a semana, uma invaginação menor forma-se próximo à região caudal de cada quarta bolsa faríngea. Este par de invaginações foi descrito por muitos embriologistas como a **quinta bolsa faríngea**. Quase que imediatamente após seu aparecimento, estas invaginações tornam-se povoadas por células que formam os rudimentos do par de **corpos ultimobranquiais**. Estes rudimentos imediatamente soltam-se da parede faríngea e migram medial e caudalmente para se implantar na parede dorsal da glândula tireoide, onde eles se tornam dispersos dentro da tireoide. Os corpos ultimobranquiais formam as **células-C produtoras de calcitonina (células parafoliculares)** da tireoide.

Assim como acontece com a glândula tireoide, defeitos na migração da glândula paratireoide e timo podem ocorrer, com fragmentos ectópicos deixados ao longo do percurso migratório. Quando a anormalidade é assimétrica, o defeito quase sempre ocorre no lado esquerdo do pescoço.

Desenvolvimento das glândulas salivares

Três pares de glândulas salivares maiores se desenvolvem em humanos: as **glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais** (Fig. 17-33). Pequenas glândulas salivares também são encontradas no interior das bochechas, lábios, língua, palato duro e assoalho da boca. As glândulas salivares produzem secreções serosas (aguadas) ou mucosas (viscosas) necessárias para a lubrificação, digestão e paladar. Estas secreções constituem a saliva; elas contêm água, eletrólitos, muco, enzimas e compostos antibacterianos. A saliva é importante para a saúde oral, e defeitos na formação das glândulas salivares e subsequente produção de saliva podem resultar em doença periodontal, cárries dentárias, úlceras e problemas com a deglutição, bem como **xerostomia**: boca seca. A diminuição na função da glândula salivar ocorre como uma consequência natural da idade.

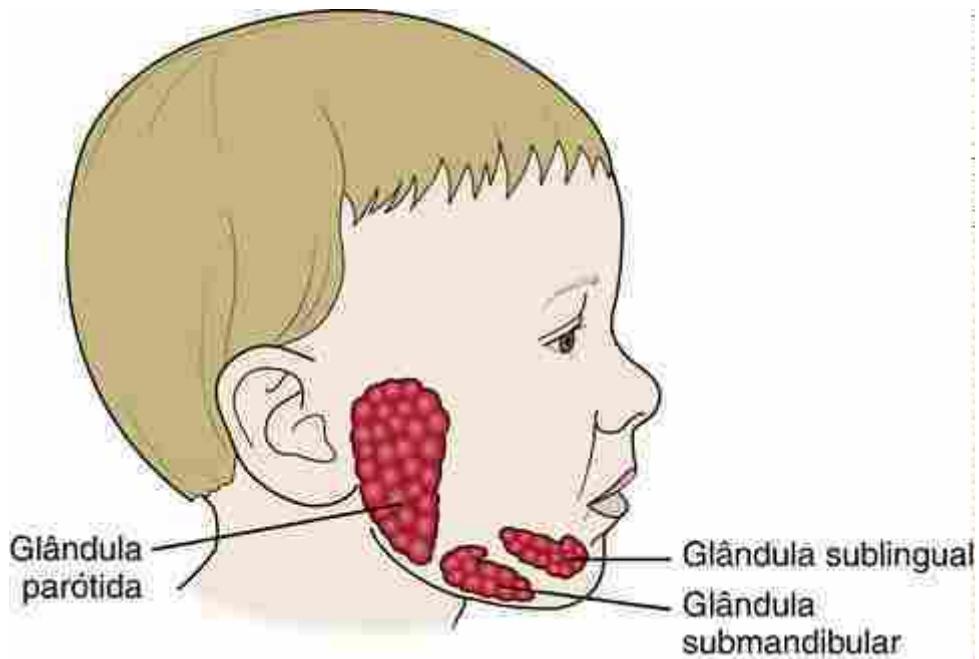


FIGURA 17-33 Localizações das glândulas salivares.

A glândula parótida desenvolve-se a partir de uma invaginação do ectoderma semelhante a um sulco que se forma na dobra entre as saliências maxilar e a mandibular durante a 6^a semana. Este sulco diferencia-se em um ducto tubular que afunda no mesênquima subjacente em direção à orelha. A invaginação deste sulco mantém uma abertura ventral no ângulo da boca primitiva. Como as porções das bochechas das saliências maxilares e mandibulares fundem-se, esta abertura é transferida para a superfície interna da bochecha. O fundo cego do tubo diferencia-se para formar a glândula parótida, enquanto a haste do tubo torna-se o **ducto da parótida** ou **ducto de Stensen**. Invaginações semelhantes do endoderma no assoalho da cavidade oral e no sulco paralingual em ambos os lados da língua dão origem às glândulas salivares submandibular e sublingual, respectivamente.

Como em outros órgãos derivados do epitélio, o desenvolvimento das glândulas salivares envolve uma série de estágios: pré-botão, botão, pseudoglandular, canalicular e botão terminal. Agrupamentos especializados de células denominados **ácinos**, que produzem a saliva, são formados durante o estágio de botão terminal. O desenvolvimento e a ramificação das glândulas salivares são dependentes de interações epitélio-mesênquima. Portanto, não é de se estranhar que algumas síndromes, como a **síndrome lacrimo-aurículo-dento-digital (LADD)** autossômica dominante (o resultado de uma mutação no FGF10), englobe tanto as glândulas salivares quanto outros tecidos dependentes de interações epitélio-mesênquima para seu desenvolvimento (*i.e.*, glândulas lacrimais, membro distal, dentes e orelhas).

Na Clínica

Causas das anomalias craniofaciais

Estimou-se que vários tipos de **anomalias craniofaciais** — incluindo malformações do processo frontonasal, defeitos por fendas, malformações da calota craniana e anomalias de derivados dos arcos faríngeos — representam cerca de um terço de todos os defeitos congênitos. A maioria das anomalias craniofaciais apresenta uma etiologia multifatorial, embora alguns tipos, uma clara base genética pode ser demonstrada, como, por exemplo, na **síndrome de Treacher Collins** (discutida na próxima seção deste “Na Clínica” intitulada “Síndromes Craniofaciais”), que é herdada de uma forma autossômica dominante. Uma série de teratógenos também é conhecida por causar malformações craniofaciais. Provavelmente o teratógeno craniofacial mais significativo clinicamente é o **álcool**. Medicamentos como a **hidantoina** anticonvulsivante e a **isotretinoína** como antiacne oral (Fig. 17-34) podem também causar anomalias craniofaciais em humanos, como pode o **tolueno**, **tabagismo**, **radiação ionizante** e a **hipertermia**. Finalmente, muitas anormalidades craniofaciais estão associadas às anormalidades cardíacas que são, em parte, explicadas pela migração de células da crista neural craniana através do quarto e sexto arcos faríngeos para formar o septo aorticopulmonar e a necessidade de células da crista neural craniana na remodelação dos arcos aórticos. O campo cardíaco secundário, que contribui para a via de saída e outras regiões do coração, também surgem do mesoderma craniano (Cap. 12). Estudos recentes ilustraram um papel comum do endoderma no desenvolvimento da face e nos arcos aórticos (Cap. 13 e quadro “No Laboratório

de Pesquisa” intitulado “Base de Desenvolvimento da Síndrome de DiGeorge”).

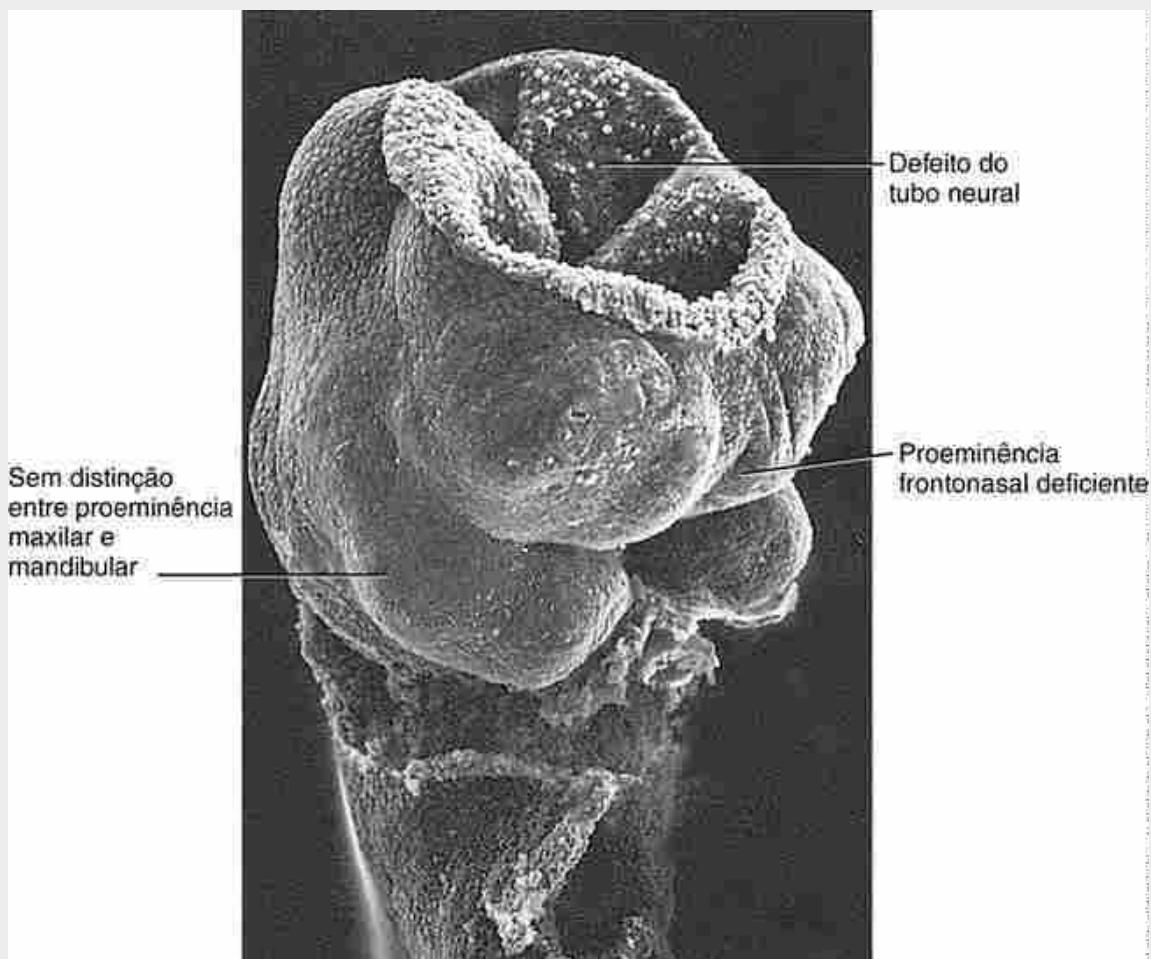


FIGURA 17-34 Embrião de rato tratado com o teratógeno isotretinoína (um análogo da vitamina A) apresentando um defeito no tubo neural e anormalidades no primeiro arco faríngeo e na proeminência frontonasal. A isotretinoína foi relacionada com malformações do crânio, face, sistema nervoso central, pulmões, sistema cardiovascular e membros de bebês humanos nascidos de mães que ingeriram o medicamento durante o 1º trimestre da gravidez.

Síndromes craniofaciais

Não é de surpreender que erros no desenvolvimento nos numerosos arcos faríngeos e nos elementos das bolsas que contribuem para cabeça e face dos seres humanos possam causar várias malformações. Depois da fenda labial e fenda palatina, as malformações faciais mais comuns são os defeitos causados pelo subdesenvolvimento do primeiro e do segundo arcos. Uma **fenda facial lateral** é um exemplo: a fusão incompleta das proeminências do maxilar e da mandíbula na região da bochecha resulta em uma fenda que se estende desde o canto da boca para, ocasionalmente, ir tão longe quanto o trago da aurícula.

A fenda lateral pode ocorrer como parte de um grupo de deformidades mais extenso coletivamente conhecido como **microssomia hemifacial** (microssomia vem da palavra grega para “corpo pequeno”). Nesta condição a fenda lateral da face geralmente não é grande, mas a porção posterior da mandíbula, a articulação temporomandibular, os músculos da mastigação e a orelha externa e média podem, todas, estar subdesenvolvidas. Como o nome indica, apenas um lado da face é afetado. Isso é atribuído à lesão vascular em um lado da face conforme a remodelação dos arcos faríngeos ocorre da 6^a à 8^a semana. A **síndrome de Goldenhar** é um membro particularmente grave deste grupo, incluindo defeitos nos olhos (esclerodermia e coloboma das pálpebras) e coluna vertebral. Todo este grupo de distúrbios é também denominado **espetro oculoauriculovertebral (OAVS)**.

Outro grupo de síndromes é classificado como **disostose mandibulofacial** e envolve o subdesenvolvimento generalizado do primeiro arco faríngeo, resultando em defeitos nos olhos, orelha, face média, palato e mandíbula. A **síndrome de Treacher Collins** autossômica dominante é um membro deste grupo. A síndrome de Treacher Collins afeta aproximadamente 1 em 50.000 indivíduos, e 60% dos casos surgem como novas mutações. O gene para a síndrome de Treacher Collins, TOCF1, foi identificado. Ele codifica uma fosfoproteína nucleolar

denominada Treacle (ver quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Bases do Desenvolvimento da Síndrome de Treacher Collins” para detalhes adicionais).

Além disso, os defeitos craniofaciais podem se estender para os derivados dos arcos faríngeos e englobar anormalidades do pescoço, coração, timo, tireoide e paratireoide. O complexo de malformações congênitas conhecidas como **síndrome de DiGeorge** faz parte deste grupo e é caracterizado por uma tríade de malformações: (1) defeitos craniofaciais menores, incluindo **micrognatia** (mandíbula pequena), implantação baixa das orelhas, anormalidades auriculares, fenda palatina e hipertelorismo (Fig. 11-1); (2) agenesia total ou parcial dos derivados do terceiro e do quarto arcos faríngeos (o timo, a tireoide e paratireoide); e (3) anomalias cardiovasculares, incluindo tronco arterial persistente e arco aórtico interrompido. A síndrome de DiGeorge é observada na **síndrome de deleção 22q11.2**, que compreende mais de 35 genes e é a mais comum deleção cromossômica.

No Laboratório de Pesquisa

Base de desenvolvimento da síndrome de treacher collins

A **síndrome de Treacher Collins** é consequência de uma mutação no TCOF1, que codifica a proteína **TREACLE**. A inativação genética da Treacle em camundongo mostrou que esta síndrome é devida a um defeito no desenvolvimento das células da crista neural que dão origem ao primeiro arco faríngeo. Como para outras mutações de genes, o antecedente genético pode afetar a penetrância fenotípica da síndrome. A Treacle é expressa nas dobras neurais conforme as células da crista neural estão se formando e migrando, e posteriormente no mesénquima derivado da crista neural do primeiro e do segundo arcos faríngeos. Análises de ratos mutantes com Treacle mostraram aumento da apoptose e diminuição da proliferação de precursores e progênie da crista neural. Não foram observados defeitos migratórios da crista neural. A proteína Treacle é necessária para a síntese de RNAs ribossomais e, portanto, para a síntese de proteína na rápida proliferação neuroepitelial e de células da crista neural. Além disso, a Treacle pode regular microtúbulos dinâmicos. Estudos de microarranjos mostraram que o supressor do tumor, p53, é regulado positivamente como parte da resposta ao estresse celular para a redução nos níveis de Treacle. Mais ainda, a inibição farmacológica de p53 resgata os defeitos observados em mutantes de Treacle. Embora isso seja encorajador e mostra uma potencial estratégia terapêutica para a síndrome de Treacher Collins, esta abordagem não deve ser utilizada clinicamente, como a maioria dos casos que surgem por mutação espontânea e nos defeitos que surgem antes de 3 semanas, quando o estado genético de um embrião poderia não estar determinado. O p53 é também um supressor de tumor, aumentando graves preocupações sobre as consequências da inibição de sua função.

As mutações em TCOF1 respondem por 80% a 90% dos pacientes com síndrome de Treacher Collins. Entretanto, recentemente, mutações em dois genes adicionais, POLR1D e POLR1C, que também controlam a transcrição do RNA ribossomal, foram identificados. Portanto, a síndrome de Treacher Collins pode ser classificada como uma **ribosomopatia**.

Base do desenvolvimento da síndrome de digeorge

A **síndrome de DiGeorge** ou **síndrome de deleção 22q11.2** ocorre em aproximadamente 1/4.000 nascidos vivos e é predominantemente um distúrbio do endoderma e do mesoderma, que secundariamente afeta o desenvolvimento das células da crista neural. De fato, a síndrome é uma fenocópia pela perda de células da crista neural e, originalmente, acreditou-se que a síndrome de deleção 22q11.2 fosse intrínseca às células da crista neural. Entretanto, estudos genéticos que caracterizam a função de cada gene que é suprimido na fundamental região cromossômica 22q11.2 não suportam esta visão original. Esses estudos mostraram que TBX1, um fator de transcrição T-box, é o componente principal nesta síndrome. O Tbx1 é expresso no endoderma e no mesoderma da faringe, incluindo o campo cardíaco secundário, mas não nas células da crista neural. Esses estudos também revelaram um papel crucial do endoderma na padronização dos arcos faríngeos.

A deleção de heterozigotos de Tbx1 em rato recapitula as principais características da síndrome de DiGeorge: remodelação de defeitos do arco no quarto arco aórtico, hipoplasia da paratireoide e tireoide e anormalidades comportamentais. A deleção homozigótica de Tbx1 em rato recapitula todas as características do espectro de DiGeorge dos defeitos cardíacos e cranianos. Em mutantes Tbx1, o desenvolvimento dos arcos faríngeos é afetado com um gradiente de gravidade craniocaudal: o primeiro arco faríngeo é ligeiramente hipoplásico, e do terceiro ao sexto arcos faríngeos não se formam. Estudos de deleção cronometrados identificam quando a função de Tbx1 é necessária para o desenvolvimento de diferentes derivados cranianos e cardíacos. Por exemplo, as anormalidades do arco aórtico são devido às exigências de Tbx1 durante a formação do quarto arco faríngeo, enquanto o desenvolvimento do timo requer a função do Tbx1 durante a formação da terceira bolsa faríngea e na morfogênese do timo mais tarde. Estudos nos quais o gene Tbx1 foi inativado condicionalmente no mesoderma ou no

endoderma mostram que o Tbx1 é necessário em ambos os tecidos. O Tbx1 regula a proliferação celular, e a perda de função de Tbx1 resulta em diminuição de sinalização de Fgf junto com o aumento de Bmp e a sinalização de ácido retinoico. O ácido retinoico (AR) diminui a expressão de Tbx1. Como discutido anteriormente, o AR é um potente teratógeno que induz as malformações craniofaciais sobrepostas com aquelas observadas em pacientes com DiGeorge, e a regulação negativa da função de Tbx1 poderia ser um mecanismo de patogênese induzida por AR.

Estudos recentes mostraram que em adição ao Tbx1, outros genes contidos dentro da deleção 22q11.2 estão envolvidos na síndrome de DiGeorge. Um desses genes é o CRKL, que codifica uma proteína adaptadora necessária para sinalização de Fgf. Quando uma cópia de Tbx1 e uma cópia de Crkl são eliminadas em rato, o fenótipo resultante engloba aquele observado na face e nos derivados do arco faríngeo de pacientes com síndrome de deleção 22q11.2. Isso demonstra que a síndrome de deleção 22q11.2 é uma **síndrome de gene contíguo** (*i.e.*, requer deleção de genes múltiplos e contíguos para manifestar o fenótipo).

Desenvolvimento dos dentes

Os dentes são constituídos por três tipos de tecidos duros: **esmalte, dentina e cimento**. O esmalte é a substância mais dura do corpo, com um conteúdo de baixa proteína e alto em minerais altamente organizados e hermeticamente embalados de cristais de hidroxiapatita de cálcio. A dentina é mais dura do que o osso e o cimento, porém mais macia do que o esmalte. A dentina forma a maior parte do dente, sendo a coroa coberta pelo esmalte e a raiz pelo cimento. A dentina consiste em cristais de hidroxiapatita, colágeno tipo I e sialofosfoproteína dentinária, que é clivada em três produtos de proteína: glicoproteína dentinária, sialoproteína dentinária e fosfoproteína dentinária. Os dentes apresentam três origens de tecidos: (1) o ectoderma, que dá origem aos ameloblastos que formam o esmalte; (2) células da crista neural dão origem aos odontoblastos e aos cementoblastos que formam a dentina e o cimento, respectivamente, assim como todo o tecido conjuntivo dos dentes; e (3) mesoderma, que contribui para a formação das células endoteliais dos vasos sanguíneos em desenvolvimento.

No 6º mês de gestação, uma crista em forma de U da epiderme chamada **lâmina dentária** forma-se nas mandíbulas superior e inferior (Figs. 17-35A e 17-36A, E). Na 7ª semana, 10 centros de proliferação de células epidérmicas desenvolvem-se a intervalos em cada lâmina dentária e crescem para baixo dentro do mesênquima subjacente. A condensação do mesênquima, derivado de células da crista neural, forma-se sob e ao redor de cada um desses 20 centros em crescimento. A estrutura composta que consiste na invaginação da lâmina dentária e condensação mesenquimal subjacente é denominada **broto dentário** (Figs. 17-35A e 17-36B, F; ver também Cap. 7).

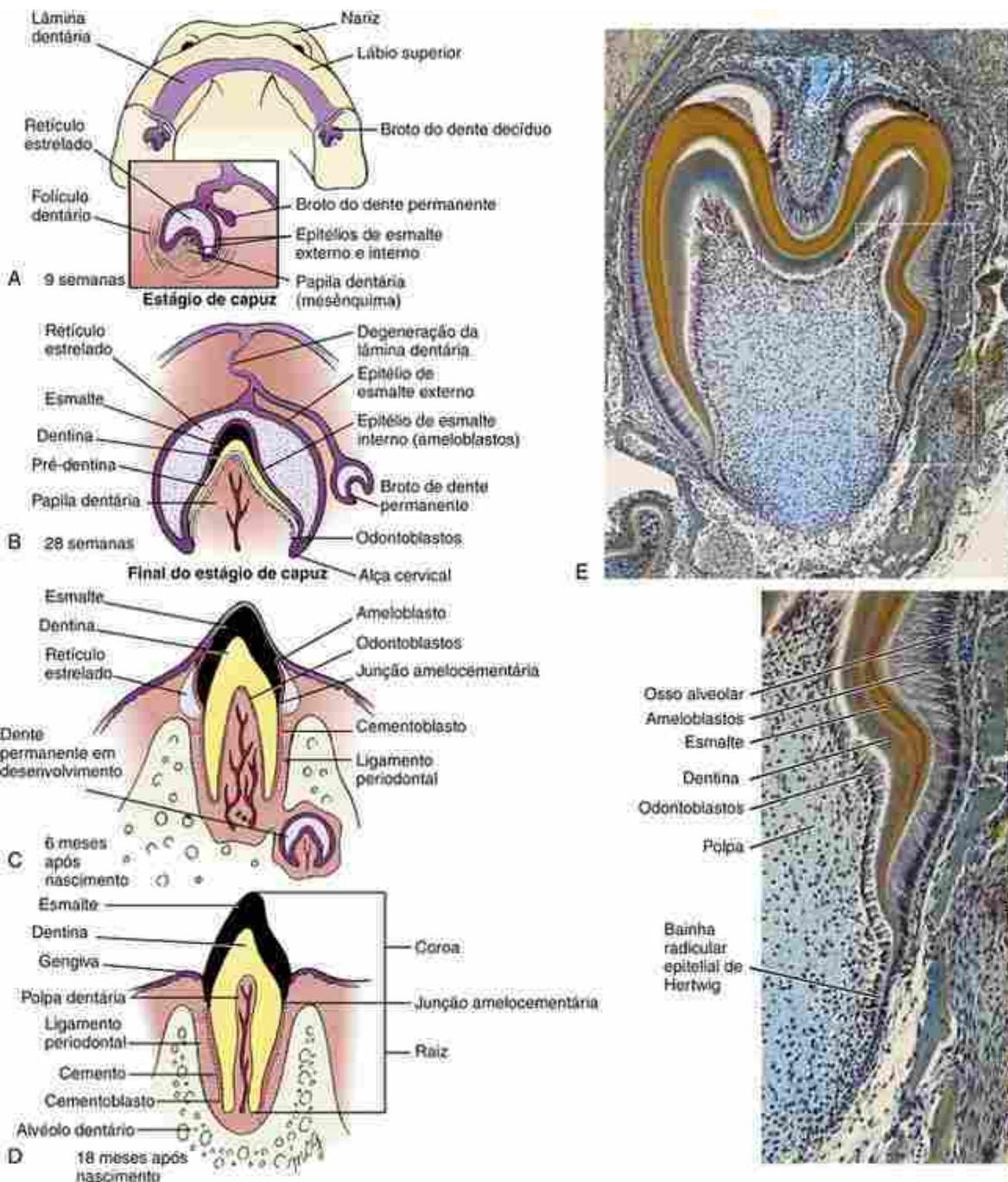


FIGURA 17-35 Desenvolvimento e erupção da dentição primária. *A-D*, Desenho dos estágios sequenciais. A lâmina dentária ectodérmica origina o órgão do esmalte, que secreta o esmalte do dente, enquanto as células da crista neural inicialmente formam a papila dentária diferenciada em odontoblastos, que secretam dentina. *E*, Corte histológico e alargamento (área enquadradna na micrografia de menor aumento) através de um dente incluso completamente desenvolvido, mostrando as diferentes camadas de tecido.

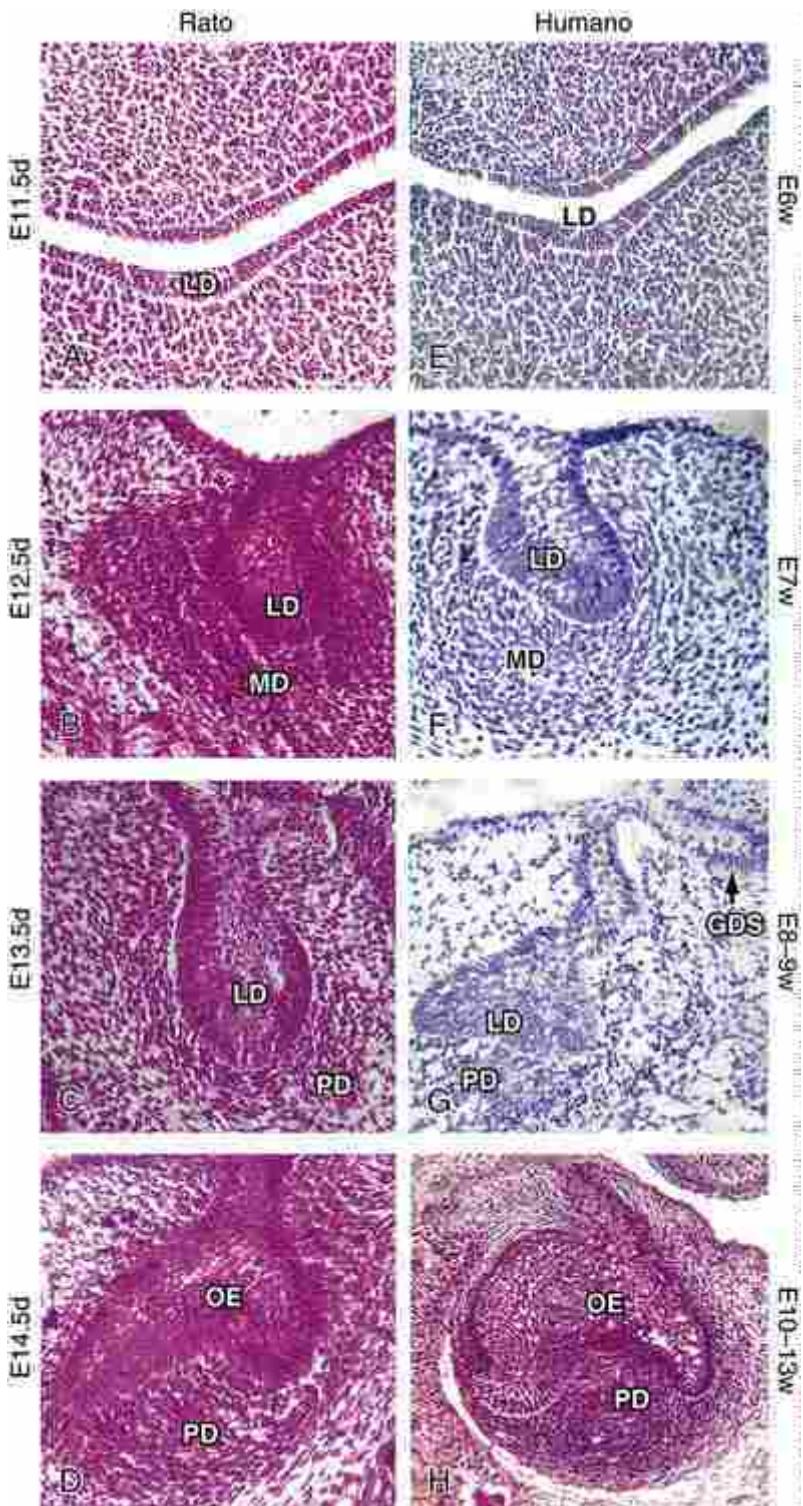


FIGURA 17-36 Estágios iniciais do desenvolvimento do dente molar. *A-D*, Desenvolvimento no embrião de rato a partir do dia 11,5 até 14,5. *E-H*, Desenvolvimento em embrião humano a partir da 6^a semana até a 10^a à 13^a. Em ambos, rato e humano, o desenvolvimento do dente começa com a formação da lâmina dentária (LD; painéis *A, E*); que se expande para formar o broto do dente, que consiste de uma lâmina dentária espessa e dobrada, e mesênquima dentário subjacente (MD; painéis *B, F*); a invaginação da lâmina dentária pelo crescimento do mesênquima dentário condensado chamado de papila dentária (PD) no estágio de capuz (*C, G*), com formação do germe dentário secundário (GDS); e desenvolvimento do órgão do esmalte (OE; painéis *D, H*) no estádio de sino.

Durante o nono mês, influências instrutivas da epiderme causam a condensação mesenquimal para se coalescer abaixo da invaginação da lâmina dentária, formando uma **papila dentária** mesenquimal em forma de colina (Figs. 17-35A e 17-36C, G). Este estágio do desenvolvimento do dente é denominado **estágio do capuz**, pois a lâmina dentária investe no topo da papila como um capuz. No estágio do capuz, a lâmina dentária diferencia-se para formar o **órgão do esmalte**, que irá produzir a **camada de esmalte** do dente. Em primeiro lugar, a lâmina dentária torna-se uma estrutura

de três camadas, que consiste em um **epitélio interno de esmalte** que recobre a papila dentária; uma camada central, o **retículo estrelado**, composta de células em forma de estrela dispersas em uma matriz extracelular; e um **epitélio externo de esmalte** (Fig. 17-35A). O mesênquima em torno da papila e de seu capuz de lâmina dental condensa-se para formar um compartimento denominado **folículo dentário**. Por volta da 14^a semana, a papila dentária é delimitada pela lâmina dental e constitui o núcleo do dente em desenvolvimento. Esse processo é denominado **estágio do sino** do dente em desenvolvimento, pois a lâmina dental parece um sino que descansa sobre a papila dentária (Fig. 17-36D, H e 17-35B).

Durante do estágio do sino, as cúspides começam a se formar e o tamanho da coroa do dente aumenta. As células mais externas da papila dentária, adjacentes ao epitélio interno do esmalte, organizam-se dentro de uma camada distinta. No final do estágio do sino, essas células diferenciam-se em **odontoblastos**, que irão produzir a **dentina** dos dentes (Fig. 17-35B, E).

A produção de dentina começa por volta do 3^º mês no útero, quando os odontoblastos começam a secretar uma matriz não mineralizada de dentina, denominada **pré-dentina**, que mais tarde progressivamente se calcifica para formar a **dentina**. A produção de pré-dentina é induzida por sinais do epitélio interno do esmalte e se inicia no ápice do dente e se move para baixo em direção à margem coronal (Fig. 17-35B). Como os odontoblastos migram para baixo, deixam processos celulares longos (**processos odontoblásticos**) que se estendem através da espessura da dentina atrás dela (Fig. 17-35E). O mesênquima interno da papila dentária torna-se a polpa dental (Fig. 17-35E). Os odontoblastos persistem após a erupção dos dentes e a dentina forma-se ao longo da vida, reduzindo a cavidade da polpa. Essa dentina é conhecida como dentina secundária. A dentina terciária é produzida em resposta a certos estímulos, como danos ao dente, e pode ser produzida por odontoblastos ou células pulparas progenitoras (*i.e.*, células não odontoblásticas).

Assim que a primeira pré-dentina é formada, as células do epitélio interno são induzidas a se diferenciar em **ameloblastos** produtores de esmalte, que começam a secretar uma fina camada de prismas de esmalte entre eles e a dentina subjacente (Fig. 17-35B,C). Os ameloblastos, em seguida, migram coronalmente conforme eles continuam a secretar esmalte, formando uma projeção rodeada de esmalte que pode ser observada histologicamente, denominada processo de Tomes. Uma vez que o esmalte tenha sido formado, ocorre um período de maturação durante o qual o conteúdo mineral do esmalte aumenta significativamente. Os ameloblastos morrem após a formação do esmalte estar completa. Portanto, o esmalte, ao contrário do osso e da dentina, não pode ser remodelado e não é formado depois da erupção do dente. As coroas de todos os dentes primários estão parcialmente mineralizadas ao nascimento e completamente mineralizadas por volta dos 12 meses de idade. A formação da coroa na dentição secundária, com a exceção dos terceiros molares, começa entre os 3 meses e os 3 anos de idade e é completada por volta dos 8 anos de idade.

A rede de vasos sanguíneos em desenvolvimento para o dente entra pela papila dentária a partir do estágio de sino, e os nervos chegam muito mais tarde, no final do estágio de sino (Fig. 17-35B).

As raízes dos dentes primários começam a se formar no final do estágio de sino após a diferenciação dos odontoblastos na região cervical do germe do dente, durante o período final fetal e o início da vida pós-natal. Na junção do epitélio interno e externo do esmalte, a **alça cervical**, as células proliferam e se alongam formando uma camada dupla da **bainha epitelial da raiz de Hertwig** (Fig. 17-35B, E). O mesênquima interno próximo à bainha epitelial diferencia-se em odontoblastos, que produzem a dentina. Cada raiz contém um estreito canal da polpa dental, através do qual os nervos e os vasos sanguíneos entram no dente (Fig. 17-35C, D).

As raízes dos dentes são delimitadas por extensões de mesênquima do folículo dentário. As células internas do folículo diferenciam-se em **cementoblastos**, que secretam uma camada de **cimento** para cobrir a dentina da raiz. A bainha epitelial da raiz rompe-se para formar os **restos celulares de Malassez**, permitindo a mistura de odontoblastos e cementoblastos e a formação de uma união forte entre o cimento e a dentina. No colo da raiz do dente, o cimento encontra-se com o esmalte na **junção amelocementária** (Fig. 17-35C,D). As células mais externas do folículo dentário participam da formação do osso durante a ossificação das mandíbulas e também formam o **ligamento periodontal**, que mantém o dente em seu soquete ósseo ou **alvéolo**. O cimento, ligamento periodontal, osso alveolar e gengiva são estruturas de suporte dos dentes, conhecidas como periodonto. A formação da raiz é geralmente completada 2 a 3 anos após a erupção. Um corte histológico de um dente totalmente formado, mas não erupcionado, é mostrado na Figura 17-35E.

Os 20 brotos de dentes iniciais diretamente dão origem aos **dentes primários (decíduos ou de leite)**, consistindo, em cada meia maxila, em dois incisivos, um canino e dois molares. Entretanto, no início do estágio de capuz, a lâmina dental superficial para cada um desses brotos produz um pequeno divertículo que se estende para a base do broto de dente primário e é conhecido como **lâmina sucessional** (Fig. 17-35A, 17-36G). Isso produz o broto do dente sucessional **secundário (permanente)**, que irá substituir o primeiro dente (Figs. 17-35B, C e 17-36G). Esses dentes secundários desenvolvem-se para o estágio de sino e interrompem seu desenvolvimento até os 6 anos de idade. Em seguida, eles começam a se desenvolver secundariamente, destruindo a raiz do dente primário nesse processo.

Os brotos dos molares permanentes, que não apresentam decíduo precursor, surgem durante a vida pós-natal a partir de uma extensão em forma de lápis da lámina dentária que escava as regiões posteriores das mandíbulas atrás dos brotos dentários mais posteriores. A dentição humana completa consiste em 32 dentes, incluindo três molares, mas os terceiros molares (dentes do siso) muitas vezes não conseguem se desenvolver ou entrar em erupção.

Os dentes primários começam a erupcionar por volta dos 6 meses após o nascimento. Os dentes mandibulares geralmente erupcionam mais cedo do que os dentes maxilares correspondentes. A dentição primária está geralmente completa com 2,5 anos. Entre, aproximadamente, 6 e 8 anos, os dentes primários começam a cair e são substituídos pelos dentes permanentes.

No Laboratório de Pesquisa

Indução do dente

Experimentos nos quais os componentes dentários epiteliais e mesenquimais foram cultivados, com e sem cada um deles, mostraram que o desenvolvimento do dente necessita de ambos os componentes. Inicialmente, o sinal instrutivo está presente no epitélio, e se o epitélio odontogênico inicial for recombinado com mesenquima não odontogênico, o dente irá se desenvolver. Crucialmente, o mesenquima não odontogênico deve ser derivado de células da crista neural, pois os dentes não se formarão quando o epitélio odontogênico for recombinado com mesenquima derivado do tronco. Mais tarde, durante o desenvolvimento do dente, o mesenquima derivado da crista neural torna-se instrutivo, isto é, ele pode especificar o desenvolvimento do dente em epitélio não odontogênico ou simples. Essa “transferência” da capacidade indutora está correlacionada com uma interrupção na expressão de Bmp4 do epitélio para o mesenquima subjacente.

O desenvolvimento odontogênico começa com a especificação do campo odontogênico marcado pela expressão Pax9. Isso é alcançado pelas interações antagônicas entre a sinalização Fgf8 e Bmp4 no epitélio oral: Fgf8 promove a expressão Pax9, enquanto Bmp2/4 a inibe. A lámina dentária também expressa a transcrição dos fatores Pitx2 e p63, que são necessários para o desenvolvimento inicial dos dentes (ver o quadro “Na Clínica” intitulado “Anomalias Dentárias” e o Cap. 7). O desenvolvimento posterior requer múltiplos fatores, incluindo Shh, Bmps, Fgfs, Wnts e alvos a jusante como o Msx1. A perda desses sinais resulta na parada do desenvolvimento do dente no estágio de broto ou antes. Shh, que é expresso no epitélio odontogênico, é mitogênico, da mesma maneira que nos folículos pilosos (Cap. 7). Acredita-se que os nós de esmalte — estruturas transitórias não proliferativas no órgão do esmalte que expressam várias moléculas de sinalização (Shh; Bmp2, 4, 7; Fgf4, 9) — atuem como centros de sinalização, promovendo a proliferação e o dobramento do epitélio adjacente (Fig. 17-37A). Assim, eles especificam o número de cúspides que se formarão no dente. O nó de esmalte primário forma-se no centro do epitélio interno do esmalte durante o fim do estágio de botão e o início do estágio de capuz. Os nós de esmalte são removidos posteriormente por apoptose. A formação e morfogênese de nó de esmalte aberrante, por exemplo, após a perda de sinalização Eda ou perda de ectodin antagonista de Bmp, está associada às alterações no número e morfologia das cúspides (Fig. 17-37B, C; ver também Fig. 7-10 no Cap. 7).

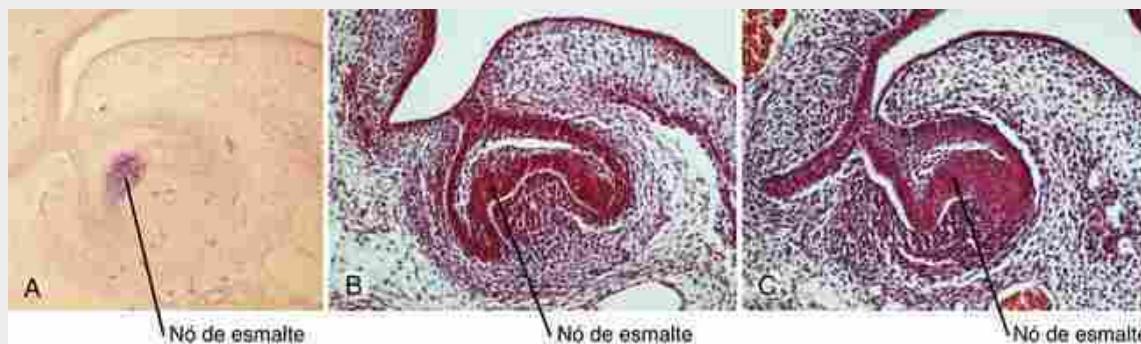


FIGURA 17-37 Desenvolvimento dos nós de esmalte. A, A expressão de Shh no nó de esmalte do dente em desenvolvimento do broto do dente no estágio de sino. B, C, Desenvolvimento do nó de esmalte no broto de dente em tipo selvagem (B) e de um mutante plissado (parte da via Eda/Edar) (C). No mutante plissado, o nó de esmalte e o broto do dente apresentam formato anormal.

Acredita-se que a padronização dos diferentes tipos de dentes ocorra pela expressão diferencial dos genes homeobox no mesenquima craniano: por exemplo, foi proposto que o gene homeobox Barx1 e membros da família Dlx especifiquem molares, enquanto a expressão inicial da expressão Msx1/2 especifique incisivos. Ainda não

existem evidências definitivas para essas propostas, embora a transformação de estruturas esqueléticas após a perda de Dlx 5/6 no desenvolvimento da face (Fig. 17-20) a torne provável.

Na Clínica

Anomalias dentárias

As malformações nos dentes podem originar-se de defeitos de padronização ou de anormalidades de diferenciação. Por exemplo, a presença de um único incisivo superior na extremidade moderada do espectro da holoprosencefalia é devido à falta de especificidade (*i.e.*, padrão) da linha média embrionária. Em contraste, o desenvolvimento defeituoso do esmalte ou da dentina, como ocorre na **amelogênese imperfeita** (p. ex., mutações DLX3) e na **dentinogênese imperfeita** (p. ex., mutações na SIALOFOSFOPROTEÍNA DA DENTINA), envolve diferenciação defeituosa. Para um dentista exigente, as anormalidades dentárias podem ser a primeira indicação de uma síndrome mais generalizada. Por exemplo, a primeira indicação de uma variante de **polipose adenomatosa familiar**, a **síndrome de Gardner**, pode ser a formação de dentes extras e osteomas na mandíbula, que pode ocorrer antes da formação de pólipos colorretais que predispõe o indivíduo ao câncer de colo. No distúrbio ósseo, a **forma adulta de hipofosfatasia**, a perda prematura dos dentes primários ocorre antes da idade de 4 anos, como resultado de uma deficiência no cemento celular e acelular. Essa síndrome, também caracterizada pelo distúrbio ósseo e calcificação dos ligamentos, é causada por mutações na fosfatase alcalina, que normalmente hidrolisa o pirofosfato. Níveis excessivos de pirofosfato inibem a deposição de cemento.

A produção de esmalte ocorre em duas fases discretas, uma fase secretora e uma fase de mineralização. Os defeitos em qualquer desses processos resultam em **amelogênese imperfeita** (AI), que pode ser classificada em três tipos (Fig. 17-38A). AI hipoplásica é caracterizada por esmalte duro que é deficiente em quantidade: ele pode ser fino, com sulcos ou com fossetas. Isso é devido a um defeito na fase secretora e pode resultar de mutações na **ENAMELINA**, um componente do esmalte inicial. A AI hipocalcificada ocorre devido a um defeito na mineralização, enquanto a AI por hipomaturação é resultado de um defeito na remoção da matriz orgânica e/ou maturação dos cristais. A AI por hipomaturação pode ser causada por mutações em enzimas (**ENAMELISINA**, também conhecida como MMP20, e **CALICREÍNA**, também conhecida como KLK4) que clivam as proteínas do esmalte para remover os componentes orgânicos do esmalte. Na AI hipocalcificada ou por hipomaturação, o esmalte é de espessura normal, mas mais macio. Os defeitos de esmalte podem também ser causados pela **deficiência de vitamina A** ou doenças como o sarampo, ou o esmalte pode ser descolorado após exposição a antibióticos, como **tetraciclinas**, ou fatores ambientais, como o **flúor**.



FIGURA 17-38 Distúrbios herdados de desenvolvimento dentário. *A, B*, Formação de tecido duro: *A*, Amelogênese imperfeita na dentição mista. *B*, Dentinogênese imperfeita na dentição primária. *C, D*, Número de dentes: *C*, Agenesia dos dentes incisivos laterais permanentes superiores (*). *D*, Dente incisivo inferior permanente supranumerário (seta). *E, F*, Tamanho do dente: *E*, Microodontia do dente incisivo lateral superior permanente (seta). *F*, Megadontia do dente incisivo central superior permanente (seta). *G, H*, Forma do dente: *G*, Talon cúspide afetando dente incisivo central superior permanente (seta); *H*, dentes incisivo central e lateral superior permanentes fusionados (seta).

A **dentinogênese imperfeita (DGI)** pode ser causada por mutações no COLÁGENO TIPO I ou por SIALOFOSFOPROTEÍNA DA DENTINA (Fig. 17-38B). As mutações de colágeno tipo I podem também causar osteogênese imperfeita (Cap. 8). A DGI muitas vezes está associada às fraturas de esmalte, pois a dentina não é dura o suficiente para suportar o esmalte.

Alternativamente, podem ocorrer muito poucos dentes (**hipodontia**; ou **oligodontia**, quando mais de seis dentes estão ausentes; Fig. 17-38C). **Anodontia** é falta completa da dentição primária e/ou secundária. A hipodontia é

ligeiramente mais prevalente em mulheres do que em homens, afeta até 20% da população e geralmente afeta a dentição secundária. Quando os dentes primários são afetados, a dentição secundária irá sempre ser afetada, uma vez que surge da extensão lingual dos dentes primários. Os segundos pré-molares superiores e inferiores e os incisivos laterais superiores são os dentes mais frequentemente afetados (Fig. 17-38C). As consequências da falta de dentes incluem má oclusão, causada pelo posicionamento inadequado dos dentes, depleção do osso alveolar em torno do dente faltante e movimento dos dentes adjacentes.

A hipodontia não sindrômica pode ser o resultado de mutações no fator de transcrição PAX9 ou MSX1. As mutações MSX1 geralmente afetam os pré-molares e os terceiros molares da dentição secundária, enquanto as mutações PAX9 tipicamente afetam os molares. Estes defeitos refletem presumivelmente uma exigência para estes genes na formação do broto (ver anteriormente o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Indução do Dente”).

As síndromes que incluem ausência congênita de dentes incluem a síndrome de Down, HPE e displasias ectodérmicas (p.e., mutações EDA/EDAR, p63; Cap. 7). As mutações PITX2 (síndrome de Axenfeld-Rieger) afetam tanto a dentição decídua quanto a permanente. Em ratos mutantes Pitx2, uma diminuição de expressão Fgf8 e uma expansão da expressão Bmp4 resulta em um menor campo dental. Mutações AXIN2 (**síndrome de oligodontia-câncer colorretal**) podem resultar em perda de 8 a 27 dentes permanentes. Axin2 é um componente da via de sinalização Wnt, e esta mutação pode refletir a perda de sinalização Wnt, que é essencial para o desenvolvimento do dente.

A **hiperdontia** na dentição primária ocorre em 0,2% a 0,9% da população (Fig. 17-38D). Para a dentição secundária, este valor aumenta para 1% a 4%. A frequência de hiperodontia é ligeiramente maior em homens. Os dentes supranumerários podem ser classificados de diversas maneiras: **dentes complementares**, que apresentam morfologia normal, dentes **cônicos**, que apresentam uma forma em cavilha, dentes **tuberculados**, que são dentes multicuspídos com uma forma de barril grande, e **odontomas**, que são massas de tecidos dentários distintos ou desorganizados. O dente supranumerário mais comum é o *mesiodens*, que se forma no palato primário entre os incisivos centrais superiores. Os dentes supranumerários podem não ter consequências, mas eles podem afetar o desenvolvimento de dentes permanentes adjacentes, causando atraso ou erupção retida, deslocamento ou danos, tais como reabsorção radicular e lesões periodontais.

Acredita-se que alguns dentes supranumerários podem surgir pelo excesso de proliferação e/ou pela sobrevivência da lámina dentária. Em modelos de ratos, a sinalização Wnt mostrou promover o brotamento de dentes do epitélio oral e de germes de dentes primários. Isso pode explicar os dentes supranumerários, que são observados após mutação em APC, um regulador negativo da via Wnt/-catenina, na **síndrome de polipose adenomatosa familiar**. Os dentes supranumerários podem surgir como resultado da fenda labial. Durante o desenvolvimento, os placoides dentários no processo nasal medial e no processo maxilar fundem-se para formar um único progenitor do incisivo lateral decíduo. Falhas desses placoides em se fundir como um resultado de fenda podem resultar em desenvolvimento de dois laterais incisivos. Acredita-se que os dentes supranumerários que ocorrem na **displasia cleidocraniana** representam uma terceira dentição, pois seu desenvolvimento é atrasado em relação à dentição permanente. Em camundongo, a perda de Runx2, o gene que é mutado na displasia cleidocraniana (Cap. 8), resulta em uma grande extensão lingual dos dentes no estágio de capuz e em uma regulação positiva de Shh. Supõe-se que a perda de Runx2 prolonga a expressão Shh e, consequentemente, a proliferação da lámina dentária, promovendo a formação de dentes sucessionais.

O tamanho e a forma do dente também podem ser afetados. Os dentes podem ser muito pequenos (**microdontia**; Fig. 17-38E) ou muito grandes (**megadontia**; Fig. 17-38F). Alterações de forma (Fig. 17-38G) podem refletir formação anormal do nó do esmalte (ver anteriormente o quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Indução do Dente”). Também podem ocorrer fusões entre dentes diferentes (Fig. 17-38H).

Finalmente, **nichos de células-tronco** adultas foram encontrados na polpa dentária de dentes decíduos e permanentes, levantando a possibilidade de que elas podem ser utilizadas para regenerar dentes e para o reparo de outros tecidos.

Embriologia na Prática

Fechamento Prematuro

Um casal leva ao médico seu filho recém-nascido por causa da forma irregular de sua cabeça. Eles notaram, há algum tempo, que em vez de uma cabeça redonda, seu filho apresentava uma cabeça mais alongada, com abaulamento nas regiões anterior e posterior (Fig. 17-39A). Eles acessaram a Web, pesquisando por conta própria, e aprenderam que o tratamento com um “capacete” poderia corrigir a forma irregular da cabeça, desde que fosse

realizado com antecedência suficiente.



FIGURA 17-39 Criança com craniossinostose. A, Foto pré-operatória aos 3 meses de idade. B, Foto pós-operatória após 6 semanas.

Após examinar seu filho, o médico afirma que ele está preocupado com um problema mais grave com os ossos do crânio, denominado **craniossinostose**, e recomenda que a criança seja vista por um neurocirurgião. Além da forma incomum da cabeça, a que se refere como **escafocefalia**, ele ressalta a “moleira” menor do que o habitual e as bordas levantadas no topo da cabeça de seu filho. Ele lhes assegura que a circunferência da cabeça de seu filho é normal, indicando que o crescimento do encéfalo ocorre de forma adequada.

Neste caso, a escafocefalia (que significa cabeça em forma de barco) é causada pela fusão prematura da sutura sagital, um defeito que pode ocorrer por fatores biomecânicos ou genéticos. Isto limita a capacidade do crânio crescer *em largura*, crescendo *em comprimento*. A fusão prematura da sutura sagital é a craniossinostose mais comum, que é responsável por mais da metade dos casos. É mais comum em meninos, com incidência de 0,2 a 1 por 1.000 nascimentos.

Embora raramente resulte em aumento de pressão no encéfalo, isso normalmente ocorre apenas com a sinostose de múltiplas suturas. Para a maioria das crianças com craniossinostose sagital, a correção cirúrgica é feita por razões cosméticas e psicossociais. Os melhores resultados cosméticos são alcançados quando a reconstrução da calota craniana é realizada entre 3 e 6 meses de idade.

O casal levou seu filho a dois neurocirurgiões separadamente (que apresentaram ambas as opções de tratamento, aberto e endoscópico) antes de seu filho ser submetido a uma remodelação da calota craniana aberta através de uma incisão em zigue-zague com excelentes resultados (Fig. 17-39B).

Leituras sugeridas

- Bailleul-Forestier, I., Berdal, A., Vinckier, F., et al. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 2: syndromes with significant dental involvement. *Eur J Med Genet.* 2008; 51:383–408.
- Bailleul-Forestier, I., Molla, M., Verloes, A., Berdal, A. The genetic basis of inherited anomalies of the teeth. Part 1: clinical and molecular aspects of non-syndromic dental disorders. *Eur J Med Genet.* 2008; 51:273–291.
- Cobourne, M. T., Sharpe, P. T. Making up the numbers: the molecular control of mammalian dental formula. *Semin Cell Dev Biol.* 2010; 21:314–324.
- Dixon, M. J., Marazita, M. L., Beaty, T. H., Murray, J. C. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011; 12:167–178.
- Fagman, H., Nilsson, M. Morphogenesis of the thyroid gland. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 323:35–54.
- Goldberg, M., Kulkarni, A. B., Young, M., Boskey, A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed).* 2011; 3:711–735.
- Grevellec, A., Tucker, A. S. The pharyngeal pouches and clefts: development, evolution, structure and derivatives. *Semin Cell Dev Biol.* 2010; 21:325–332.
- Harunaga, J., Hsu, J. C., Yamada, K. M. Dynamics of salivary gland morphogenesis. *J Dent Res.* 2011; 90:1070–1077.
- Johnson, D., Wilkie, A. O. Craniosynostosis. *Eur J Hum Genet.* 2011; 19:369–376.
- Levi, B., Wan, D. C., Wong, V. W., et al. Cranial suture biology: from pathways to patient care. *J Craniofac Surg.* 2012; 23:13–19.

- Melville, H., Wang, Y., Taub, P. J., Jabs, E. W. Genetic basis of potential therapeutic strategies for craniosynostosis. *Am J Med Genet A*. 2010; 152A:3007–3015.
- Minoux, M., Rijli, F. M. Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development. *Development*. 2010; 137:2605–2621.
- Passos-Bueno, M. R., Ornelas, C. C., Fanganiello, R. D. Syndromes of the first and second pharyngeal arches: a review. *Am J Med Genet A*. 2009; 149A:1853–1859.
- Roessler, E., Muenke, M. The molecular genetics of holoprosencephaly. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2010; 154C:52–61.
- Sambasivan, R., Kuratani, S., Tajbakhsh, S. An eye on the head: the development and evolution of craniofacial muscles. *Development*. 2011; 138:2401–2415.
- Simmer, J. P., Papagerakis, P., Smith, C. E., et al. Regulation of dental enamel shape and hardness. *J Dent Res*. 2010; 89:1024–1038.
- Trainor, P. A. Craniofacial birth defects: the role of neural crest cells in the etiology and pathogenesis of Treacher Collins syndrome and the potential for prevention. *Am J Med Genet A*. 2010; 152A:2984–2994.
- Tzahor, E. Heart and craniofacial muscle development: a new developmental theme of distinct myogenic fields. *Dev Biol*. 2009; 327:273–279.

Desenvolvimento das Orelhas

Resumo

A orelha é uma estrutura composta com múltiplas origens embrionárias. As orelhas externa e média se originam a partir do primeiro e segundo pares de arcos faríngeos, e dos sulcos faríngeos, membranas faríngeas e bolsas faríngeas intervenientes. A orelha interna, em contraste, se desenvolve a partir de um placoide ótico de derivação ectodérmica que aparece a ambos os lados do tubo neural à altura da porção caudal do futuro rombencéfalo. Ao final da 3^a semana, esse **placoide ótico** se invagina e em seguida se fecha para formar uma **vesícula ótica (otocisto)** em meio ao mesenquima da cabeça. A vesícula óptica diferencia-se rapidamente em três subdivisões: um delicado **ducto endolinfático**, a parte **superior** expandida e uma parte **inferior** afilada. Da 4^a até a 7^a semana, a parte superior se diferencia para formar os três **ductos semicirculares** e o **utrículo**. A parte inferior se alonga e enovela para formar distalmente o **ducto coclear** e proximalmente o **sáculo**. Todos esses derivados da vesícula ótica coletivamente constituem o **labirinto membranoso**. O placoide ótico também dá origem aos gânglios sensitivos do **nervo vestibulococlear** (ou **estato acústico**) (VIII nervo craniano). Além disso, células da crista neural contribuem para a formação do nervo vestibulococlear e de suas células gliais, bem como melanócitos, os quais invadem o ducto coclear. Da 9^a à 23^a semana, a condensação mesenquimal que circunda o labirinto membranoso, denominada **cápsula ótica**, inicialmente se condrafinha, e, em seguida, se ossifica para formar um **labirinto ósseo** dentro da parte petrosa do osso temporal.

A primeira bolsa faríngea se alonga para formar o **recesso tubotimpânico**, o qual se diferencia na **tuba auditiva (de Eustáquio)** e contribui para a formação da cavidade timpânica da orelha média. Três ossículos auditivos, o **martelo**, a **bigorna** e o **estribo**, desenvolvem-se no mesenquima adjacente à cavidade timpânica. O martelo e a bigorna são formados a partir do mesenquima do primeiro arco faríngeo, ao passo que o estribo é um derivado do segundo arco. No último mês de gestação, o mesenquima em torno dos ossículos regrediu e a cavidade timpânica se expande para envolver os ossículos.

A **aurícula** (ou **pavilhão auricular**) da orelha externa se desenvolve a partir de seis **tubérculos auriculares**, os quais aparecem durante a 6^a semana nas bordas laterais do primeiro e segundo arcos faríngeos. O primeiro sulco (ou fenda) faríngeo se alonga para formar o primórdio do **meato acústico externo**. O ectoderma que reveste o meato subsequentemente prolifera para formar um **tampão meatal** que preenche completamente a porção interna do meato. O meato definitivo é formado pela recanalização desse tampão durante a 26^a semana. A membrana timpânica deriva da membrana faríngea que separa a primeira bolsa faríngea do primeiro sulco faríngeo. Ela desenvolve-se como uma estrutura com três camadas, constituída por uma camada externa de ectoderma, uma camada intermediária de mesoderma derivado a partir das **células da crista neural**, e uma camada interna de endoderma. A membrana timpânica definitiva é formada durante a recanalização do meato acústico externo.

Caso Clínico

Um menino de 2 anos de idade com **surdez intensa** é admitido no serviço de pediatria com febre e vômitos. A análise da urina mostrou leucócitos e bactérias. Ele foi diagnosticado com pielonefrite (infecção do trato urinário com envolvimento renal) e iniciou a terapia com antibióticos intravenosos.

A perda auditiva do menino foi detectada por um programa local de triagem auditiva neonatal do Departamento de Saúde e verificada com uma resposta auditiva provocada do tronco encefálico (RAPTC) sob sedação. Sua surdez foi considerada tanto **de condução** (causada por anomalias da orelha externa ou média) quanto **neurosensorial** (causada por defeitos da cóclea ou do VIII nervo craniano). Ele vinha usando aparelhos auditivos desde os 4 meses de idade.

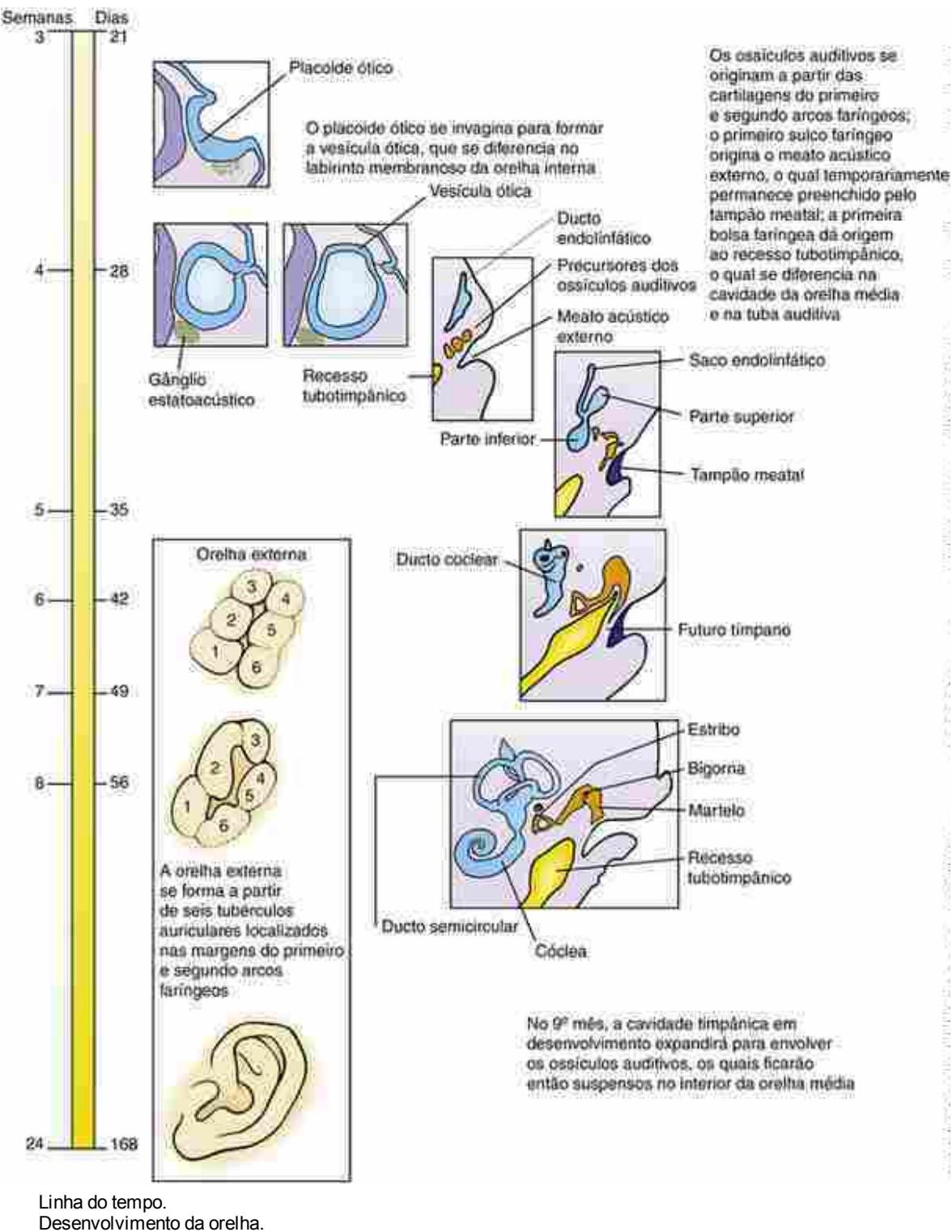
Um ultrassom renal feito à admissão mostrou rins pequenos e displásicos, além de hidronefrose (dilatação do ureter e da pelve renal) no lado direito. Mais tarde, naquela noite, enquanto pesquisava o diagnóstico diferencial da surdez e das anormalidades nos rins, o residente de plantão encontrou a descrição da síndrome **brânquio-**

otorrenal (BOR). Intrigado com essa possibilidade, o residente retorna ao leito do paciente e descobre que o menino tem orelhas em formato de taça, fossetas pré-auriculares e pequenos cistos sobre o músculo esternocleidomastóideo ([Fig. 18-1A](#)). Esses cistos são posteriormente considerados cistos faríngeos (ou branquiais) (resquícios persistentes do aparelho faríngeo, como descrito no [Cap. 17](#)). Durante sua permanência no hospital, o paciente faz uma tomografia computadorizada (TC) de corte fino do osso temporal que mostra malformações dos ossículos da orelha média e uma cóclea hipoplásica.



FIGURA 18-1 O papel do gene Eya1 no desenvolvimento embrionário. *A*, Menino com síndrome brânquio-otorrenal (mutação no gene EYA1). Observe as orelhas em forma de taça e os cistos branquiais (*seta*). Fossetas e apêndices pré-auriculares (não mostrados neste caso) por vezes acompanham a síndrome. *B*, *Drosophila* adulta selvagem (acima) e mutante para EYA1 (abaixo), mostrando a cabeça em vistas lateral (à esquerda) e frontal (à direita). Observe a completa ausência dos olhos no mutante (grandes estruturas laranja-avermelhadas no tipo selvagem de *Drosophila*).

Conforme suspeitado pelo residente, a combinação de anomalias dos arcos faríngeos (brânquias), óticas (das orelhas) e renais observadas no paciente sugerem o diagnóstico de síndrome BOR. Também conhecida como síndrome de Melnick-Frasier, a síndrome BOR é mais frequentemente causada por mutações no gene homólogo para ausência de olhos 1 (EYA1, *eyes absent homolog 1*). Como o termo sugere, as mutações no gene homólogo de *Drosophila* deste gene (Eya) afetam os olhos (Fig. 18-1B). Os seres humanos com mutações no EYA1 raramente têm anormalidades dos olhos, provavelmente por causa da redundância funcional de múltiplos genes EYA (quatro homólogos de EYA estão presentes nos seres humanos) durante o desenvolvimento dos olhos.



A orelha consiste em três componentes individuais

A orelha pode ser dividida em três partes: a orelha externa, a orelha média e a orelha interna, e cada uma delas tem origem em tecidos distintos. A orelha externa é formada pelo **pavilhão auricular** (ou aurícula) e pelo **meato acústico externo** (canal da orelha). A orelha média contém os ossículos auditivos – o **martelo**, a **bigorna** e o **estribo** – dispostos em uma cadeia na **cavidade timpânica**. A orelha externa e a orelha média captam e transportam as ondas sonoras para a orelha interna. A orelha interna consiste na **cóclea** e no **aparelho vestibular**. Os três **ductos semicirculares**, o **utrículo** e o **sáculo** compreendem o aparelho vestibular. A cóclea percebe as ondas sonoras, enquanto o aparelho vestibular

percebe a orientação, o movimento e a gravidade, e é necessária para o equilíbrio. Os derivados da orelha interna são conhecidos coletivamente como **labirinto membranoso**. Inervada pelo **nervo vestibuloclear** (VIII nervo craniano), a orelha interna recebe contribuições a partir de células da crista neural na forma de melanócitos e células de Schwann.

Desenvolvimento da orelha interna

Todos os derivados da orelha interna se originam do ectoderma. Ao final da 3^a semana, um espessamento do ectoderma superficial denominado **placoide ótico** ou **disco ótico** aparece próximo ao rombencéfalo ([Fig. 18-2A, B](#)). Durante a 3^a e a 4^a semanas, o placoide ótico gradualmente se invagina para formar inicialmente uma **fosseta ótica**, e em seguida uma **vesícula ótica** ou **otocisto**, oca e fechada ([Fig. 18-2C-G](#)), a qual está brevemente ligada à superfície por um pedúnculo de ectoderma ([Fig. 18-2E, F](#)). Neurônios jovens se destacam da região ventral do otocisto para formar o **gânglio estatoacústico** (ou **vestibuloclear**) ([Fig. 18-2C](#)).

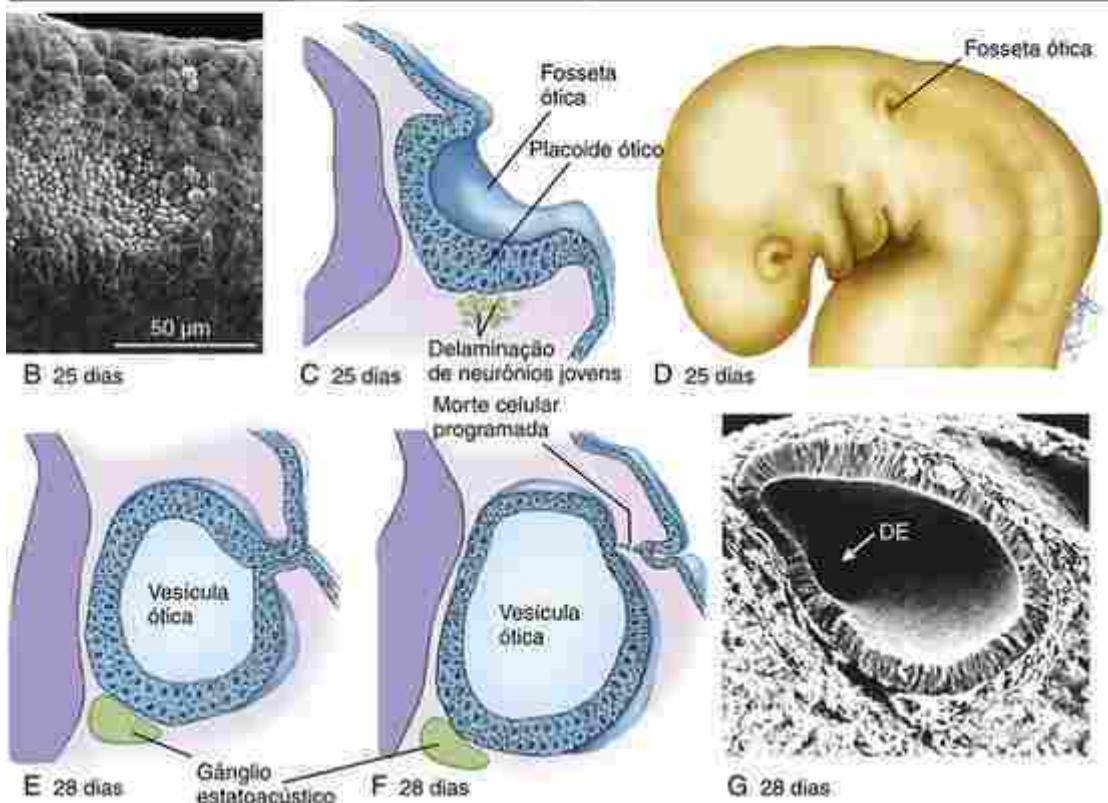
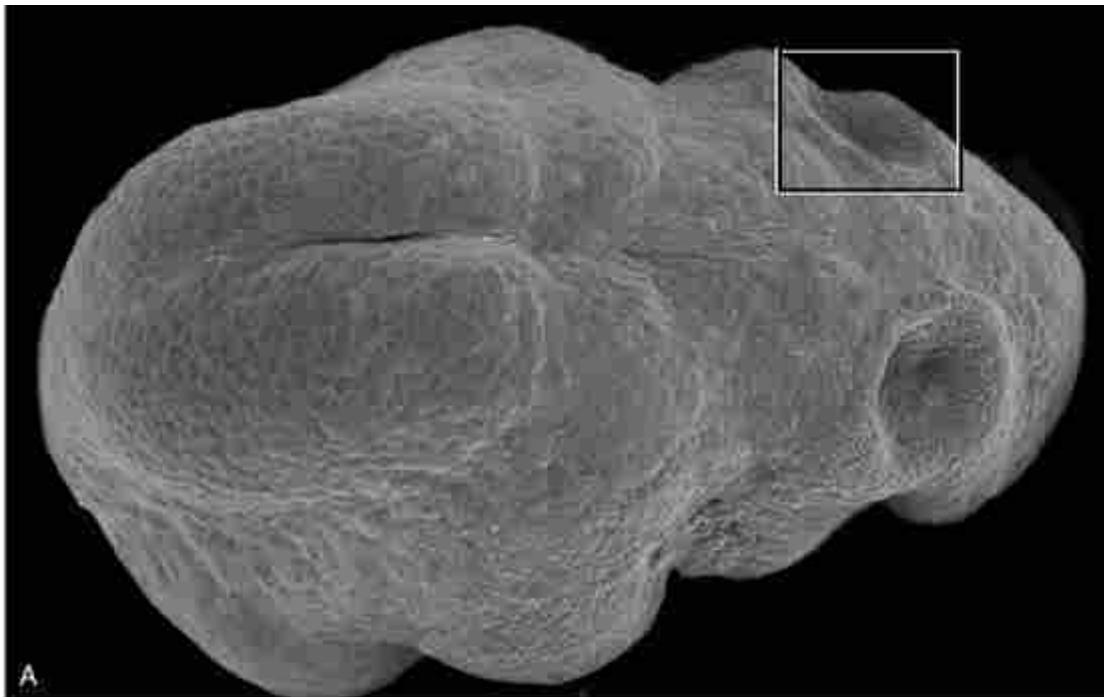


FIGURA 18-2 Formação da vesícula ótica. **A**, Cabeça de um embrião mostrando as fossetas óticas adjacentes ao rombencéfalo. O quadro mostra a fosseta ótica e a orientação da imagem na parte **B**. **B**, O placoide ótico aparece na superfície do ectoderma ao final da 3^a semana. **C, D**, Por volta do 25º dia, o placoide se invagina para formar a fosseta ótica. **E-G**, Ao final da 4^a semana, a invaginação continuada forma a vesícula ótica, a qual rapidamente se separa da superfície do ectoderma. DE, ducto endolinfático.

Por volta do 28º dia, a região dorsomedial da vesícula ótica comece a se alongar, formando um **apêndice endolinfático** (Figs. 18-2G e 18-3 A). Logo em seguida, o resto da vesícula ótica diferencia-se em uma **parte superior** expandida e uma **parte inferior** inicialmente afilada (Fig. 18-3B, C). O apêndice endolinfático se alonga durante a semana seguinte, e a sua porção distal expande-se para formar um **saco endolinfático**, o qual está ligado à parte superior por um delgado **ducto endolinfático** (Fig. 18-3C).

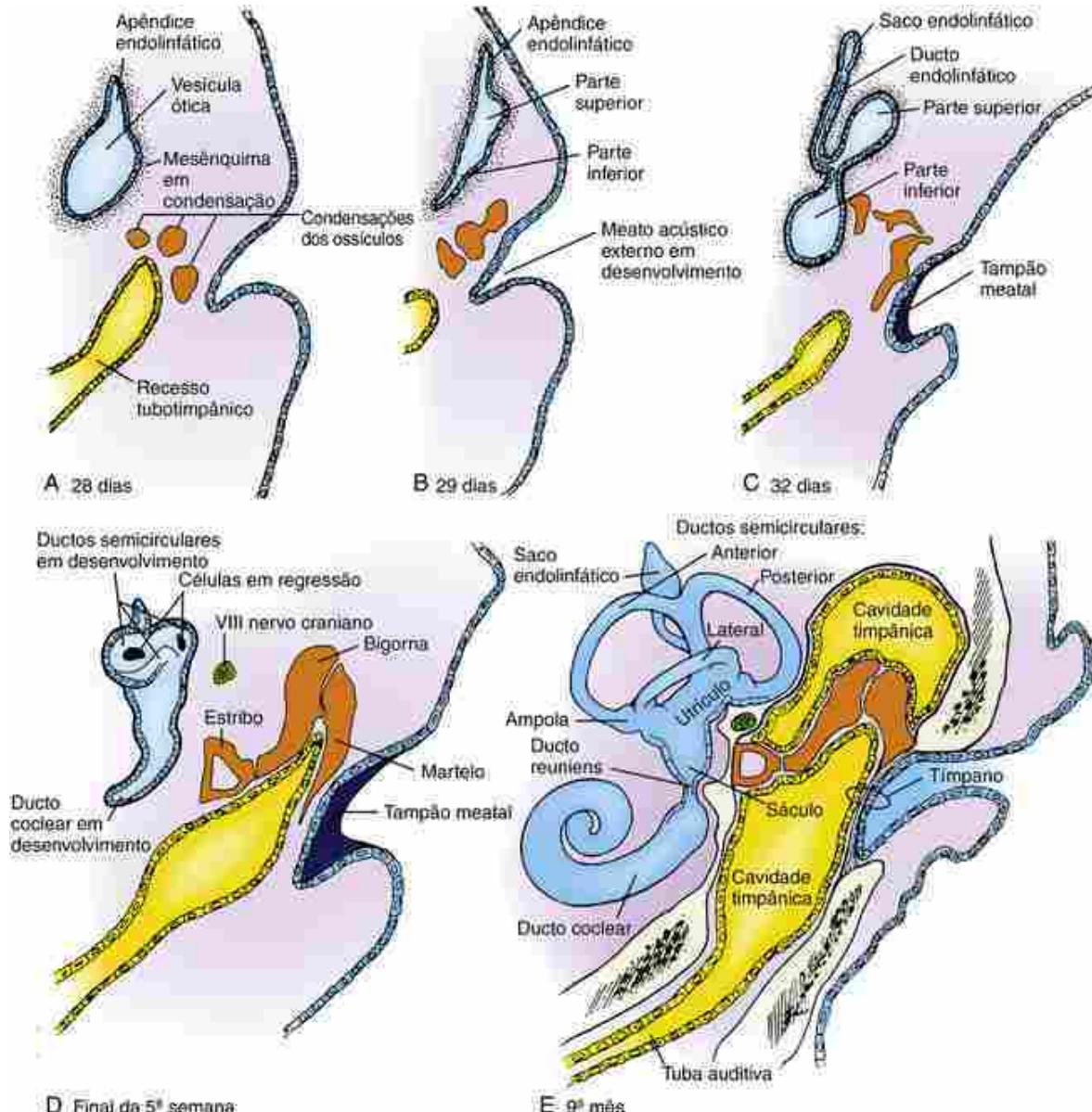


FIGURA 18-3 Desenvolvimento da orelha. Os componentes da orelha interna, orelha média e orelha externa se formam em coordenação a partir de várias estruturas embrionárias. A vesícula ótica dá origem ao labirinto membranoso da orelha interna e aos gânglios do VIII nervo craniano. A, B, A extremidade superior da vesícula ótica forma um apêndice endolinfático, e o corpo da vesícula em seguida se diferencia nas regiões da parte superior e da parte inferior. C-E, O apêndice endolinfático se alonga para formar o saco e ducto endolinfáticos; a parte superior dá origem aos três ductos semicirculares e ao utrículo; e a parte inferior dá origem ao sáculo e se enovelar para formar o ducto coclear. Simultaneamente, os três ossículos auditivos se originam a partir de condensações mesenquimais formadas pelos primeiro e segundo arcos faríngeos, a primeira bolsa faríngea se alarga para formar o recesso tubotimpânico (forma a futura tuba auditiva e contribui para a cavidade da orelha média), e o primeiro sulco faríngeo (o futuro meato acústico externo) é preenchido com um tampão meatal transitório de células ectodérmicas. Finalmente, no 9º mês, a cavidade tubotimpânica expande-se para envolver os ossículos auditivos, contribuindo para a cavidade da orelha média funcional (a região mais superior desta cavidade foi recentemente demonstrada como sendo derivada a partir de células da crista neural). O tímpano definitivo é derivado da primeira membrana faríngea e é, desta forma, composto pelo ectoderma do primeiro sulco faríngeo e pelo endoderma da primeira bolsa faríngea, além de células da crista neural (ectoderma – mesoderma derivado do ectoderma da crista neural) que se infiltram no espaço entre o ectoderma do primeiro sulco faríngeo e o endoderma da primeira bolsa faríngea. Consequentemente, o tímpano definitivo é uma estrutura de três camadas derivadas a partir de dois folhetos germinativos.

Durante a 5^a semana, a extremidade ventral da parte inferior começa a se alongar e se enovelar, formando o **ducto coclear**, que é o primórdio da cóclea (Fig. 18-3D, E). A parte inferior também dá origem ao sáculo, o qual está conectado à cóclea por um estreito canal denominado **ducto reuniens**. Durante a 7^a semana, células do ducto coclear se diferenciam para formar o **órgão espiral de Corti** (a estrutura que contém as **células pilosas** sensoriais responsáveis pela transdução das vibrações sonoras em impulsos elétricos; Fig. 18-5B). As células pilosas sensoriais nas diferentes

regiões da cóclea são ativadas por diferentes frequências de ondas sonoras.

Começando no final da 5^a semana, discos achatados em dupla camada crescem dorsal e lateralmente a partir da parte superior (Fig. 18-3D). No centro dos discos, as paredes epiteliais se encontram, e nessas regiões o epitélio regride, formando os primórdios dos ductos semicirculares. Os ductos semicirculares são orientados perpendicularmente uns aos outros e consistem nos **ductos semicirculares anterior, posterior e lateral** (Fig. 18-3D,E). Uma pequena expansão denominada **ampola**, a qual abriga as células sensoriais, forma-se em uma extremidade de cada ducto semicircular (Fig. 18-3 E; ver também Fig. 18-5A, B).

A morfogênese da orelha interna do camundongo se assemelha à da orelha interna humana. A [Figura 18-4](#) mostra a morfogênese da orelha interna do camundongo ao longo de um período de 7 dias da embriogênese, usando um procedimento de injeção no qual a cavidade do otocisto é preenchida com um corante opaco e a cabeça do embrião é clarificada. Esta abordagem fornece uma vista mais tridimensional da orelha interna em desenvolvimento. Uma vez que o embrião pode ser virado e fotografado em várias orientações, as relações dos três ductos semicirculares podem ser facilmente compreendidas (Fig. 18-5A).

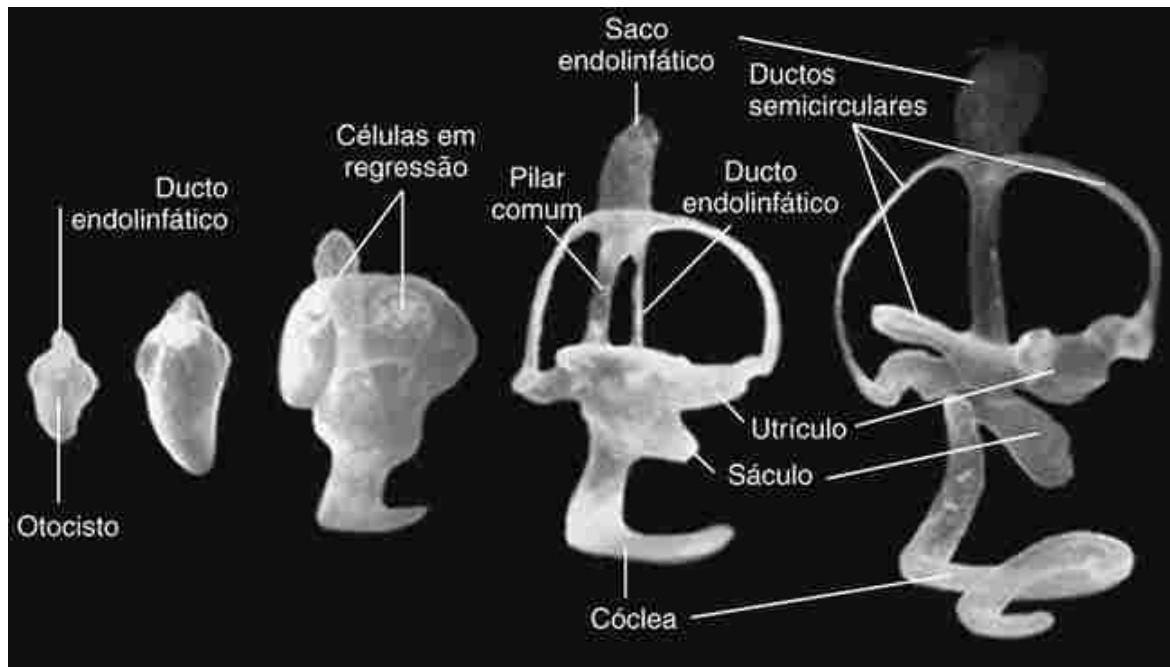


FIGURA 18-4 Morfogênese da orelha interna do camundongo durante um período de 7 dias na embriogênese, revelada pelo preenchimento da cavidade do otocisto em desenvolvimento com um corante opaco.

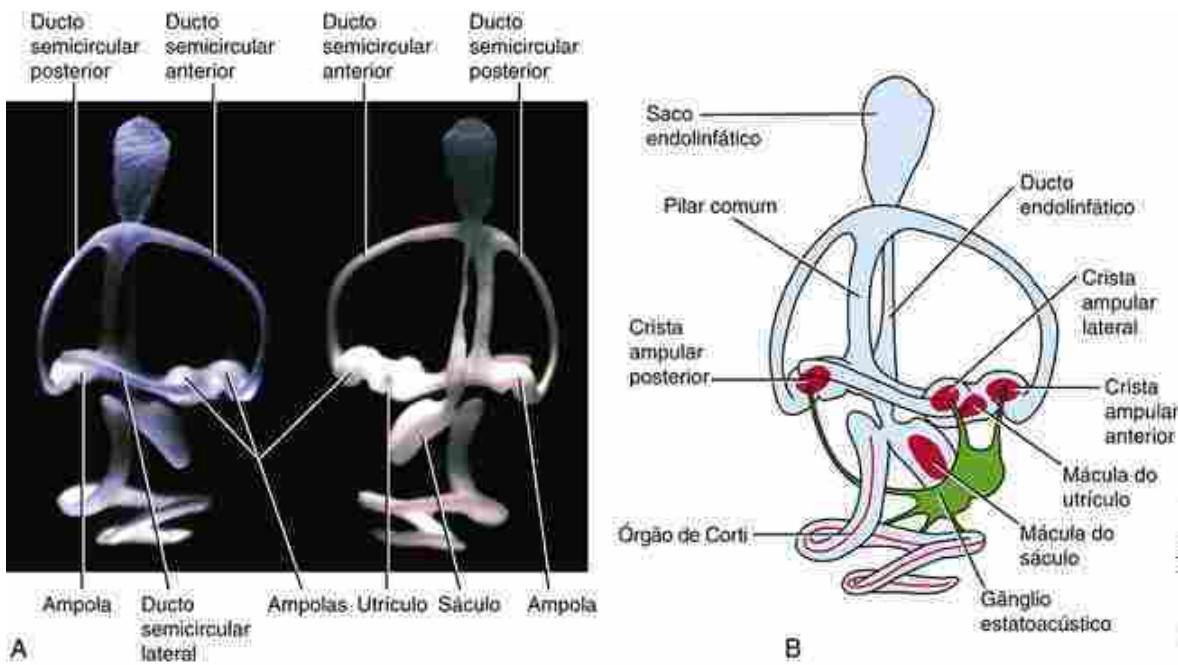


FIGURA 18-5 Morfologia da orelha interna. A, Otocistos preenchidos com corante mostrados em vista lateral (à esquerda) e medial (à direita). B, Diagrama que ilustra as seis regiões pré-sensoriais (em vermelho) na orelha interna em desenvolvimento.

No Laboratório de Pesquisa

Desenvolvimento dos placoides

Os placoides (ótico, epibranquial, trigeminal, olfatório, adeno-hipofisário e da lente; [Cap. 4, Fig. 4-21](#)) surgem a partir de um domínio em formato de ferradura circunacente à região anterior da placa neural, denominada região pré-placoidal ([Fig. 3-11D](#)). A região pré-placoidal é inicialmente multipotente, é competente para formar todos os derivados placoidais e é caracterizada pela expressão das famílias de fatores de transcrição Six e Eya (especificamente, Six1, Six4, Eya1 e Eya2) em todo o domínio pré-placoidal. Este domínio, juntamente com células progenitoras derivadas da crista neural, é estabelecido pela sinalização por FGF e níveis intermediários de sinalização por BMPs (baixos níveis de BMPs especificam a placa neural, e altos níveis, o ectoderma superficial; ver [Cap. 4](#) para abordagem adicional). A região pré-placoidal torna-se progressivamente regionalizada para formar os precursores para os placoides distintos. Por exemplo, após a formação da região pré-placoidal, os presumíveis placoides olfatório e da lente são inicialmente caracterizados pela expressão de Pax6, ao passo que os presumíveis placoides ótico e epibranquial expressam Pax2. Mais tarde, Pax6 é expresso especificamente na lente em desenvolvimento, enquanto o placoide olfatório em desenvolvimento suspende a expressão de Pax6 e é, agora, distinguido pela expressão de Dlx5. A sinalização diferencial e combinatória de Shh, FGF, BMPs e Wnts a partir dos tecidos circunjacentes restringe gradualmente a competência para o desenvolvimento da região pré-placoidal. Esses fatores atuam para promover ou inibir o desenvolvimento de placoides específicos. A sinalização por FGF a partir do mesoderma, endoderma e da crista neural anterior (a junção em formato de U na região cranial entre o ectoderma da placa neural e o ectoderma não neural, ou de superfície) é inicialmente necessária para o desenvolvimento dos placoides olfatório, trigeminal, ótico e epibranquial, mas é inibitório para a indução à formação da lente. Sinais (TGF- β) a partir de células da crista neural também inibem o desenvolvimento da lente; daí, a lente se desenvolve apenas no ectoderma em contato com o cálice óptico, onde células da crista neural estão excluídas. A ablação de células da crista neural em pintos e anfíbios resulta no desenvolvimento ectópico da lente. A via canônica da sinalização Wnt a partir do rombencéfalo também é necessária para a indução ótica, enquanto a sinalização sustentada de FGF, juntamente com BMPs a partir das bolsas faríngeas, é necessária para a formação dos placoides epibranquiais. Shh derivado do mesoderma pré-cordal (o [Cap. 17](#) aborda outros papéis da sinalização por Shh no mesoderma da cabeça) é necessário para o desenvolvimento do placoide adeno-hipofisário. Na ausência de sinalização por Shh, o placoide adeno-hipofisário falha em se desenvolver e o placoide da lente se expande.

Indução e padronização dos primórdios da orelha interna

O placoide ótico é induzido pela sinalização por FGF a partir do mesoderma, juntamente com sinais como Wnts e FGFs derivados do rombencéfalo. A superexpressão de FGFs é suficiente para induzir a formação de vesículas óticas ectópicas em embriões de galinha, ao passo que no camundongo duplo mutante para FGF3/FGF10 o placoide ótico não se forma. O FGF8 (expresso pelo endoderma no embrião de galinha e pelos três folhetos germinativos no camundongo) induz a expressão de outros FGFs no mesoderma. O placoide epibranchial surge adjacente ao placoide ótico e, como afirmado anteriormente, também requer a sinalização de Wnt e FGF. O destino ótico *versus* epibranchial é determinado pela duração e nível de exposição aos sinais por FGF e Wnt.

Uma vez formado o placoide, ele se invagina para formar a vesícula ótica ou otocisto, o qual deve agora se tornar específico em suas diferentes regiões (ou seja, as estruturas vestibulares e a cóclea). A região ventral da vesícula ótica forma a cóclea e o sáculo, ao passo que a região dorsal da vesícula ótica forma o restante das estruturas vestibulares. Isso é conseguido por meio da expressão diferencial de genes homeobox. Por exemplo, o gene Pax2 é expresso na região ventral do otocisto e é essencial para o desenvolvimento da cóclea (Figs. 18-6 e 18-7). Em contraste, os genes homeobox Dlx5 e 6 são expressos na região dorsal do otocisto e são necessários para o desenvolvimento do aparelho vestibular (Figs. 18-6 e 18-7). A perda da função de alguns genes homeobox (p. ex., Otx1) leva a defeitos mais limitados, como a perda do ducto lateral (Fig. 18-7).

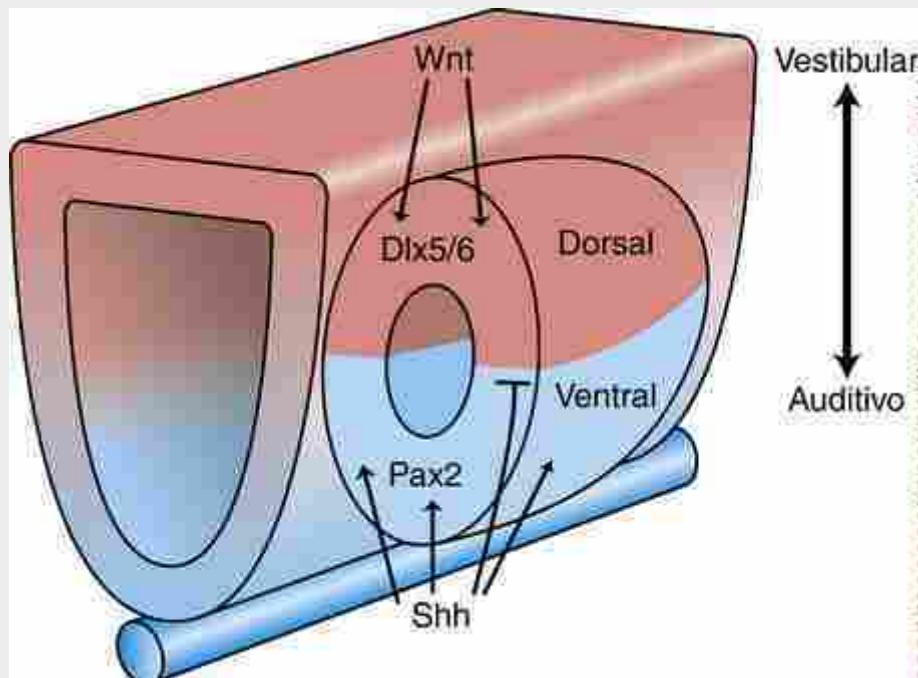


FIGURA 18-6 Sinais provenientes do rombencéfalo e da notocorda especificam a expressão de genes homeobox nas regiões dorsal e ventral da vesícula ótica. A parte dorsal do rombencéfalo secreta Wnt e a notocorda e a placa do assoalho secretam Shh.

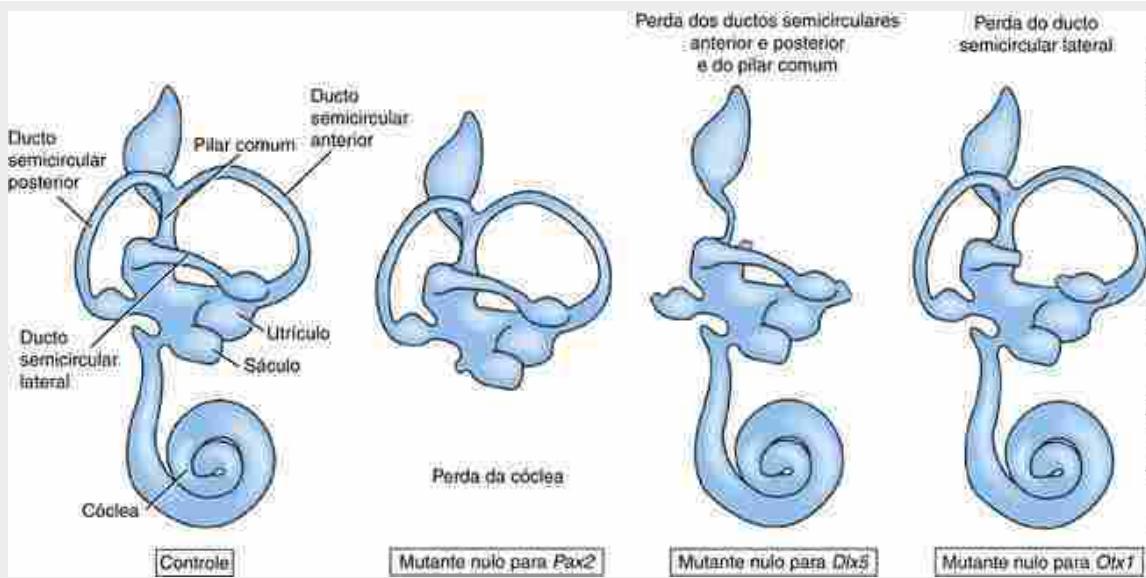


FIGURA 18-7 O desenvolvimento das estruturas vestibulares e da cóclea é diferencialmente controlado por genes homeobox, conforme revelado pela utilização de camundongos *knockout*.

Manipulações experimentais nas quais o otocisto (ou estruturas adjacentes) tenha sofrido uma rotação em diferentes fases de desenvolvimento mostraram que o eixo craniocaudal é especificado primeiro, seguido do eixo dorsoventral. Essas análises, juntamente com a análise de camundongos *knockout*, também têm demonstrado que os sinais do rombencéfalo e da notocorda controlam a expressão de genes homeobox. A sinalização por Shh proveniente da notocorda e da placa do assoalho do tubo neural controla a expressão de Pax2, enquanto a sinalização por Wnt derivada da região dorsal do tubo neural controla a expressão de Dlx5 e 6 (Fig 18-6.). Na ausência de Shh, o ducto coclear e o sáculo não são formados. Enfatizando novamente a importância dos sinais derivados do rombencéfalo, a inativação dupla dos genes Hoxa1 e Hoxb1, a qual resulta na perda do rombômero 5, afeta o desenvolvimento e morfogênese de todo a orelha interna.

As células pilosas da orelha interna, mecanotransdutores especializados, se originam em seis regiões pró-sensoriais na vesícula ótica em desenvolvimento (Fig. 18-5B). Na cóclea, a região pró-sensorial forma o **órgão de Corti**. No sáculo eutrículo, ela forma as **máculas**, e, nos ductos semicirculares, ela forma as **cristas ampulares**. As máculas são responsáveis pela detecção da gravidade e da aceleração linear. As cristas ampulares detectam a aceleração angular. Todas essas regiões sensoriais são inervadas pelo **gânglio estatoacústico do nervo vestibulococlear** (VIII nervo craniano). As estruturas vestibulares são inervadas pelo **ramo vestibular**, enquanto a cóclea é inervada pelo **ramo espiral (coclear)**. Estes últimos ramos fazem sinapses nos núcleos auditivos, os quais se desenvolvem na placa alar do tronco cerebral (o desenvolvimento do tronco cerebral está descrito no Cap. 9).

Dois tipos de células pilosas estão presentes no órgão de Corti, as **células pilosas externas** e as **células pilosas internas**, as quais diferem em suas propriedades fisiológicas e morfológicas. São observadas apenas uma fileira de células pilosas internas e três fileiras de células pilosas externas (Fig. 18-8). Cerca de 95% das fibras nervosas sensitivas da cóclea inervam as células pilosas internas, as quais são, por conseguinte, os principais transdutores de sinais para o cérebro. Em contraste, as células pilosas externas recebem cerca de 80% do estímulo aferente motor da cóclea. As células pilosas alteram seu comprimento com rapidez excepcional em resposta ao som (um processo conhecido como **eletromotilidade**); isso amplifica as ondas sonoras, aumentando a sensibilidade. Essa capacidade tem sido atribuída a uma proteína de membrana exclusiva denominada prestina, e, na verdade, a surdez não sindrômica em seres humanos pode ser resultado de mutações no gene responsável pela codificação da prestina, o gene PRESTIN.

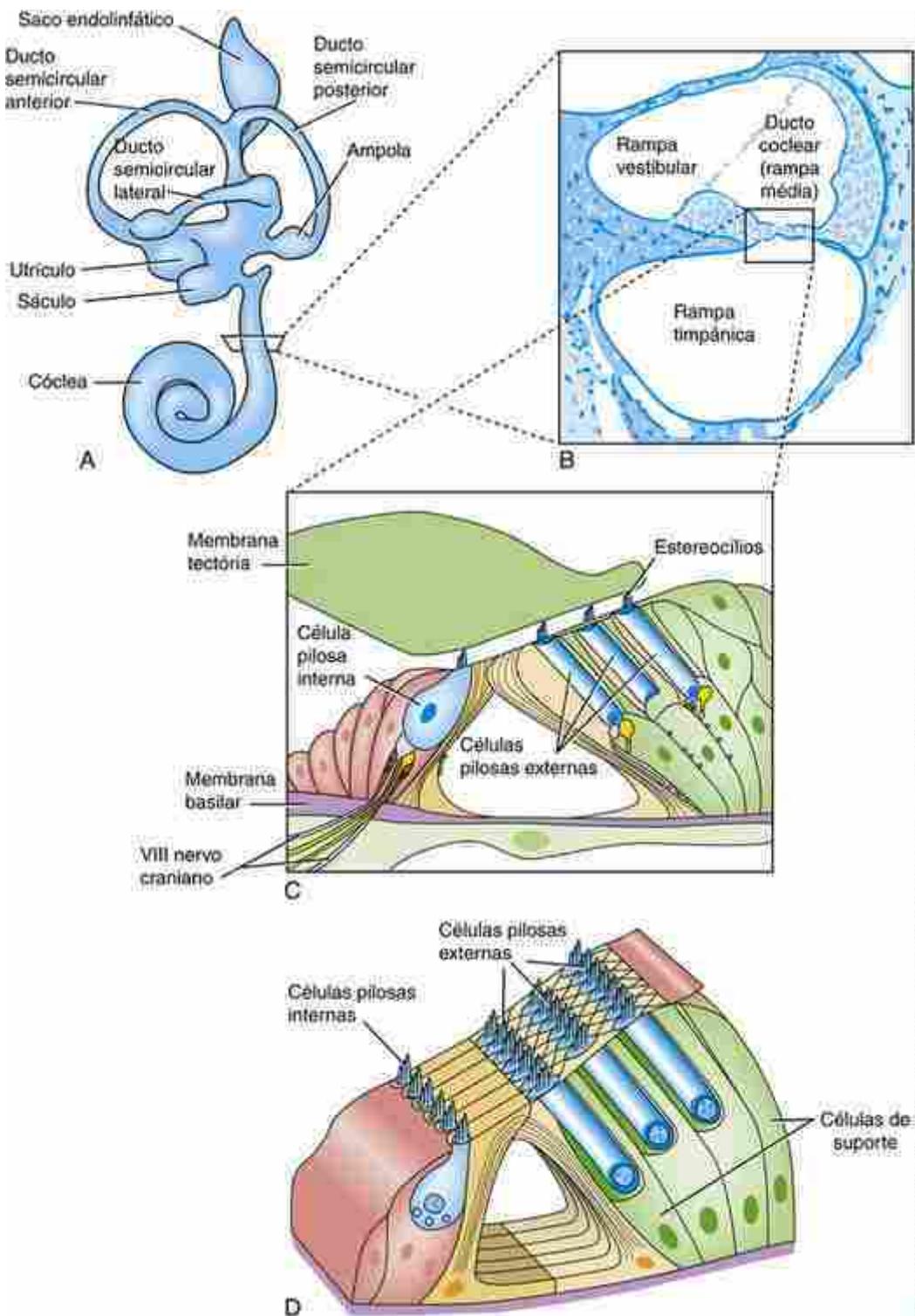


FIGURA 18-8 Desenvolvimento do órgão de Corti. *A*, O labirinto membranoso. *B*, Corte transversal através da cóclea (demarcado em *A*). *C*, Detalhes do órgão de Corti (demarcado em *B*). *D*, A membrana tectorial foi removida para mostrar uma vista mais tridimensional do órgão de Corti.

No órgão de Corti, os **estereocílios** (longos microvilos especializados) das células pilosas se projetam em uma matriz gelatinosa acelular denominada **membrana tectorial**, a qual é necessária para a função das células pilosas (Fig. 18-8C). A membrana tectorial é constituída por diferentes tipos de colágeno (dos tipos II, V, IX, e XI) e proteínas não colagenosas específicas da orelha, como a α - e a β -tectorina. Em ambas as máculas e cristas ampulares, as células pilosas também são sobrepostas (ou seja, recobertas) por uma matriz acelular; estas são as chamadas **membranas otoconiais** nas máculas e as **cúpulas** nas cristas ampulares. As células pilosas são banhadas pela endolinfa. Na cóclea, a endolinfa tem uma alta concentração de K^+ , que é necessária para a função das células pilosas. Os órgãos sensoriais vestibulares estão funcionais ao nascimento, mas o órgão de Corti não se torna totalmente diferenciado e, portanto, não está totalmente funcional até o nascimento.

Começando na 9^a semana de desenvolvimento, o mesênquima circunjacente ao labirinto membranoso se condrafinha para formar uma peça cartilaginosa denominada **cápsula ótica**. Experimentos com transplantes têm mostrado que a vesícula ótica induz a condrogênese neste mesênquima, e que o formato da vesícula controla a morfogênese da cápsula. Durante o 3º até o 5º mês, a camada de cartilagem imediatamente circunjacente ao labirinto membranoso sofre vacuolização para formar uma cavidade chamada de **espaço perilinfático**. O espaço perilinfático é preenchido com um líquido denominado **perilinfa**, que se comunica com o líquido cerebroespinal, através do **ducto perilinfático**. Ao redor da cóclea, esses espaços são conhecidos como **rampa vestibular** e **rampa timpânica**; pelo fato de estar posicionada entre a rampa vestibular e a rampa timpânica, a cavidade do ducto coclear é também conhecida como a **rampa média** (Fig. 18-8B). A cápsula ótica se ossifica entre 16 e 23 semanas de desenvolvimento para formar a **porção petrosa** do **osso temporal** (Fig. 18-9; abordado no Cap. 17; Fig. 17-3.). A ossificação continua e mais tarde dá origem à **porção mastoide** do osso temporal. O invólucro ósseo que abriga o labirinto membranoso e a perilinfa é denominado **labirinto ósseo**.

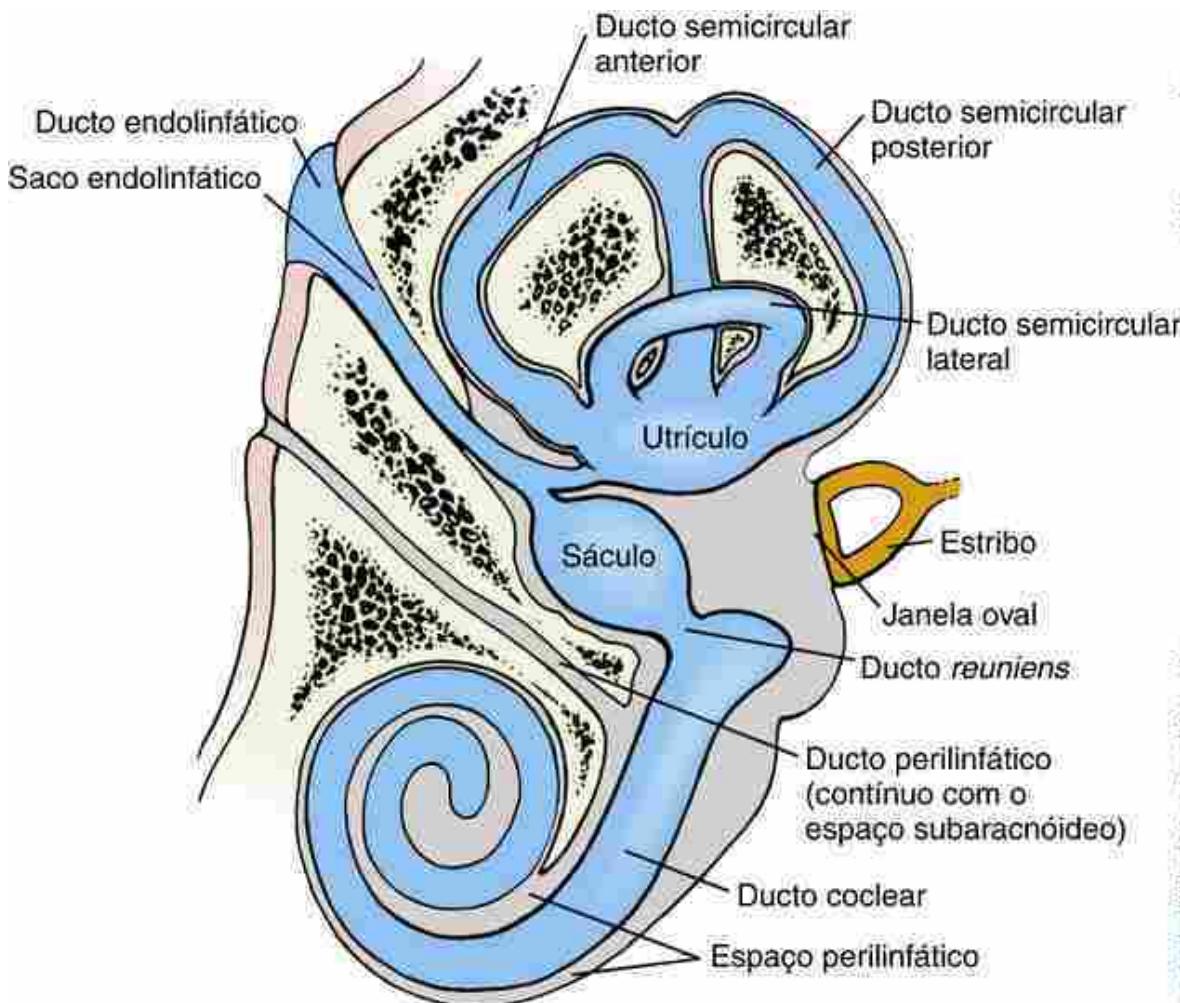


FIGURA 18-9 O labirinto membranoso definitivo encontra-se suspenso no espaço perilinfático preenchido com líquido (perilinfa) dentro do labirinto ósseo da parte petrosa do osso temporal. O espaço perilinfático está associado ao espaço subaracnóideo pelo ducto perilinfático. O próprio labirinto membranoso é preenchido com endolinfa.

No Laboratório de Pesquisa

Formação das células sensoriais

As regiões pró-sensoriais que contêm as presumíveis células pilosas expressam vários fatores, incluindo BMP4, Sox2, Islet1, Ids1, 2 e 3 – inibidores de genes de diferenciação – jagged 1, e FGF10. Os fatores de transcrição Sox2 e jagged 1 são essenciais para o desenvolvimento da região pró-sensorial, enquanto os Ids inibem a diferenciação de células pilosas por meio de ligação a proteínas hélice-alça-hélice básicas (proteínas HAHb, ou bHLH [*basic helix-*

*loop-helix proteins]; as proteínas bHLH são abordadas no Cap. 5 no contexto da sinalização da via notch, no Cap. 10 no contexto da diferenciação de neurônios, e no Cap. 14 no contexto do desenvolvimento do intestino) e impedindo-as de se ligar ao DNA. A região pró-sensorial contém precursores bipotenciais que darão origem às células pilosas ou às células de suporte que as circundam. O gene pró-neural Atoh (também conhecido como Math1), um fator de transcrição bHLH, é essencial para o desenvolvimento das células pilosas, enquanto Hes1 e 5 (*hairy and enhancer of split transcription factors*, cabeludo e potenciador do fator de transcrição separação) são necessários para o desenvolvimento de células de suporte. Consequentemente, em camundongos mutantes para Atoh células pilosas não se desenvolvem, enquanto em camundongos mutantes para Hes1 ou 5 observa-se um excesso de células pilosas. Além disso, a superexpressão de Atoh1 pode induzir a formação de células pilosas ectópicas. A especificação de uma célula pilosa *versus* uma célula de suporte a partir de um precursor comum é conseguida através de **inibição lateral** (ver 0 para mais detalhes). A presumível célula pilosa expressa os ligantes de notch – jagged 2 e delta 1 –, os quais ativam a sinalização por notch em células adjacentes (presumíveis células de suporte). A ativação por notch resulta na liberação do fragmento intracelular de notch, N^{ICD}, o qual entra no núcleo para induzir a expressão de Hes1 e 5 (Figs. 18-1 e 18-10). As proteínas Hes inibem a atividade de Atoh, evitando assim a diferenciação de células pilosas e permitindo que as células se desenvolvam como células de suporte. Consequentemente, após a perda da sinalização por notch (p. ex., como resultado da perda do receptor notch ou dos ligantes que ativam o receptor), são observadas células pilosas em excesso. Isto é notavelmente ilustrado no peixe-zebra mutante *bomba mind*, o qual apresenta um defeito na sinalização por notch. Nesse mutante, todas as células pró-sensoriais se diferenciam como células pilosas e células de suporte estão totalmente ausentes.*

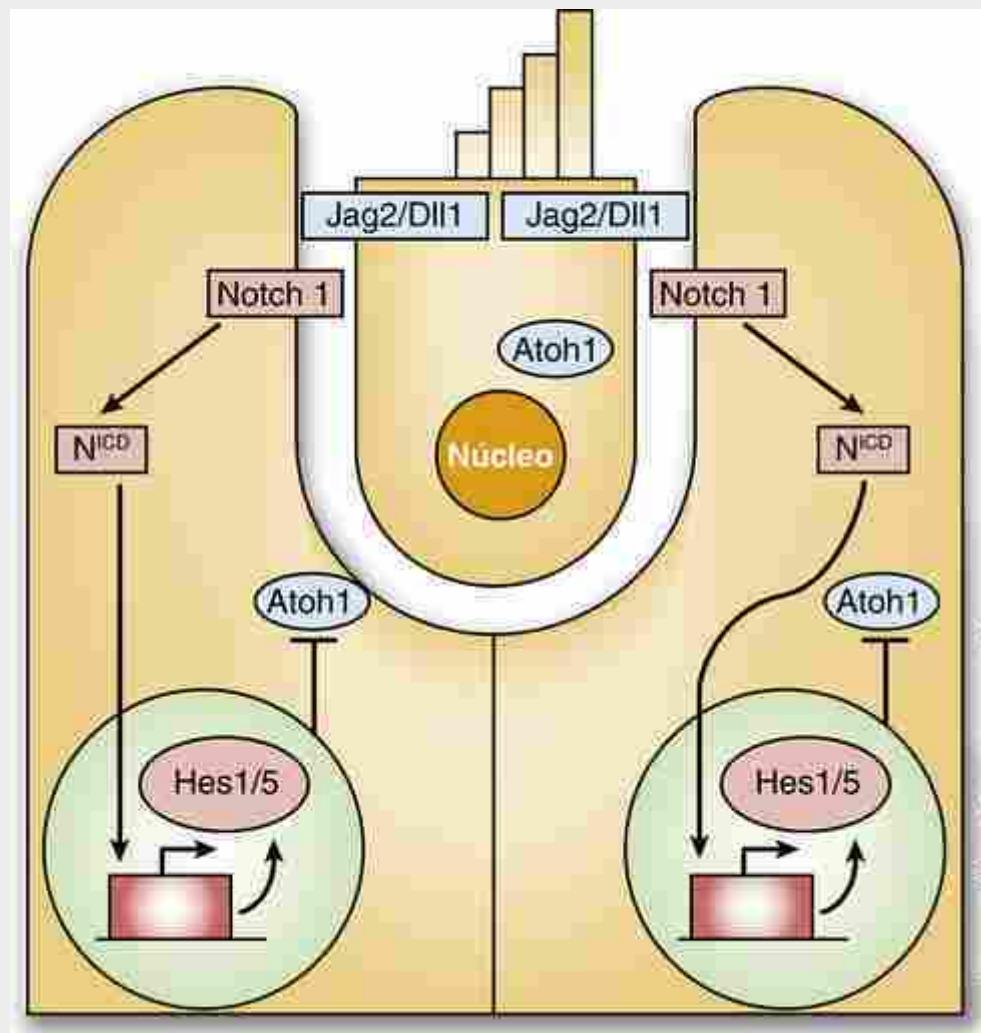


FIGURA 18-10 A especificação das células pilosas (no alto, ao centro) e das células de suporte (abaixo e lateralmente) é determinada pela inibição lateral envolvendo sinalização por notch.

Os microvilos especializados denominados **estereocílios** se desenvolvem em cada célula pilosa. Os estereocílios têm em seu eixo densos feixes paralelos de filamentos de actina e são os sensores mecânicos das células pilosas. Em

cada célula pilosa há 50 a 200 estereocílios interligados. Eles estão dispostos em um arranjo em “escada” em uma borda da célula, com estereocílios em fileiras adjacentes da “escada” interligados por delicadas **conexões filamentosas** fibrosas (Fig. 18-11A). Na cóclea, todos os estereocílios nas diferentes células pilosas estão orientados na mesma direção. O padrão ordenado e repetitivo de formação dos estereocílios é essencial para a audição e é alcançado por meio da **via de sinalização da polarização das células planas (PCP)**. Como descrito no [Capítulo 5](#), em *Drosophila* a via de sinalização PCP é mediada pelos receptores frizzled e determina a orientação alinhada das cerdas sensoriais no tórax, pelos nas asas e omatídeos no olho em desenvolvimento. Tal orientação de estruturas é também observada em vertebrados – por exemplo, para assegurar que todos os cílios no trato respiratório ou na tuba uterina batam na mesma orientação. No entanto, o mais impressionante e intrincado exemplo em vertebrados é a orientação precisamente controlada dos estereocílios das células pilosas da orelha interna. Muitos componentes da via PCP em *Drosophila* têm sido conservados em vertebrados. Consequentemente, os estereocílios são desorientados quando componentes da via PCP, como as proteínas transmembranares van Gogh-like 2 (Vangl2) ou flamingo (Celsr1), são mutadas em camundongos (Fig. 18-11B, C). Do mesmo modo, a dupla inativação de genes dos receptores frizzled 3 e 6 resulta em defeitos da polaridade das células pilosas.

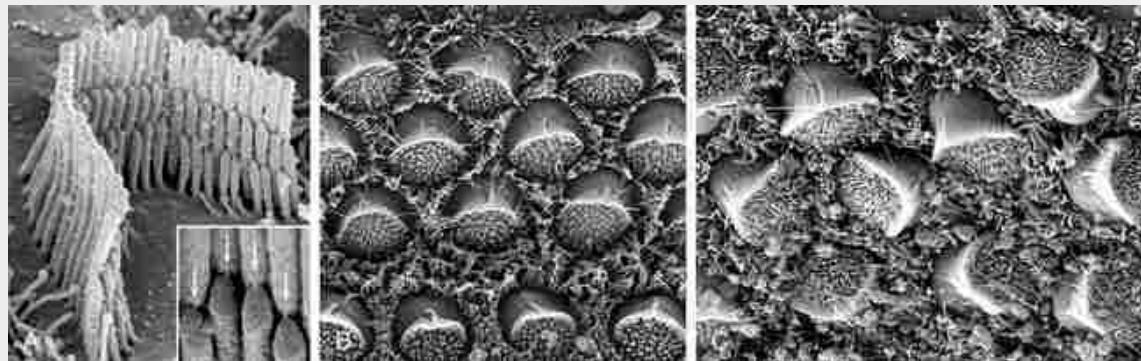


FIGURA 18-11 Células pilosas da orelha interna. *A*, A estrutura em “escada” dos estereocílios nas células pilosas da orelha interna. O encarte mostra as conexões de extremidades (setas) que interconectam os estereocílios em fileiras adjacentes da “escada” e agem como mecanotransdutores. *B*, *C*, A orientação das células pilosas é determinada pela via da polaridade planar, conforme mostrado por randomização de células pilosas em ratos mutantes para o gene *Celsr1* (*C*), em comparação com camundongos de tipo selvagem (*B*).

Na Clínica

Tipos de surdez

A **surdez** total ou parcial ocorre em mais de 1 a cada 1.000 nascidos vivos e coloca uma carga significativa sobre os programas de cuidados de saúde e educação especial. A prevalência de indivíduos que têm perda de audição ou que são **surdos** sobe para 1 em 500 na idade adulta. A **surdez de condução** é o resultado de malformações na orelha externa e/ou média, enquanto a **surdez neurosensorial** pode surgir de defeitos na orelha interna, no **nervo vestibulococlear** (VIII nervo craniano) ou em regiões auditivas do cérebro. Cerca de metade de todas as perdas auditivas tem causas genéticas, e a outra metade é atribuída a fatores ambientais. Estes últimos incluem infecções virais intrauterinas (p. ex., **citomegalovírus**, **rubéola**) e a exposição neonatal a **antibióticos aminoglicosídeos** (p. ex., **gentamicina**, **tobramicina**). A exposição pós-natal a ruídos altos também pode resultar em perda auditiva.

A perda de audição e a surdez decorrentes de causas genéticas podem ser **não sindrômicas**, isto é, ocorrer como um defeito isolado, ou **sindrômicas**, isto é, ocorrer em conjunto com outras anomalias. Até o momento, mais de 150 *loci* cromossômicos têm sido associados à perda auditiva não sindrômica, e mutações de genes foram identificadas em mais de 50 deles. As mutações foram encontradas em uma variedade de genes, incluindo os que codificam fatores de transcrição, canais iônicos, proteínas de membrana, componentes de actina do citoesqueleto e transportadores, e microRNAs. Embora a surdez sindrômica seja menos comum (constituindo cerca de 10% a 15% de todos os casos), mais de 300 síndromes genéticas foram descritas, e nelas a surdez ocorre como um achado componente. Se causada por fatores hereditários ou ambientais, a surdez pode estar presente ao nascimento ou logo em seguida (surdez **congênita** ou **pré-lingual**, como na **síndrome de Usher do tipo I**), ou pode ser associada a surdez dependente da idade ou progressiva (**pós-lingual**, como no caso de mutações em fatores de transcrição e POU4F3 e EYA4). A surdez pré-lingual está associada a distúrbios maiores no desenvolvimento de comunicação.

Além disso, a surdez ocorre naturalmente com o envelhecimento – uma condição denominada **presbiacusia**.

Malformações da orelha interna: surdez neurossensorial

A surdez neurossensorial e a disfunção do equilíbrio podem resultar de várias malformações estruturais ou do mau funcionamento de estruturas da orelha interna, incluindo a cóclea e o sistema vestibular. Essas **displasias vestibulococleares** variam desde a completa ausência do labirinto membranoso (**aplasia labiríntica**) até a ausência parcial ou subdesenvolvimento de estruturas específicas da orelha interna, como a cóclea (**hipoplasia coclear**). Além de malformações anatômicas de componentes da orelha interna, a surdez pode resultar de displasias mais sutis que afetam apenas um único tipo celular (p. ex., alteração na organização dos estereocílios em indivíduos com mutações na caderina 23, também conhecida como otocaderina). Vários defeitos da orelha interna são discutidos a seguir.

Um exemplo de uma síndrome caracterizada por displasias vestibulococleares é a **síndrome CHARGE** (coloboma do olho, defeitos cardíacos [*heart defects*], atresia de coanas, retardado de crescimento e desenvolvimento [*retarded growth and development*], anomalias genitais e urinárias, e anomalias da orelha e surdez [*ear anomalies and hearing loss*]), frequentemente causada por mutações na proteína CHD7 (proteína cromodomínio-helicase de ligação ao DNA; abordada no [Cap. 12](#)). Os defeitos da orelha interna comumente variam de aplasia labiríntica (por vezes chamada **aplasia de Michel**) até a redução do número de giros cocleares (menos de 2,5 voltas; apresentar 2,5 a 3 voltas é considerado normal em humanos) e/ou defeitos de ductos semicirculares (muitas vezes referidos coletivamente como **displasia de Mondini**). A surdez na síndrome CHARGE também pode resultar de defeitos do desenvolvimento da orelha média, e as anormalidades da orelha externa são características fundamentais da síndrome.

Uma displasia da orelha interna que aumenta o canal ósseo que conduz o ducto endolinfático (ou seja, o aqueduto vestibular; [Fig. 18-12](#)) é uma causa comum de surdez neurossensorial e anomalias vestibulares. Um **aqueduto vestibular grande** (AVG; também chamado aqueduto vestibular aumentado, ou AVA) pode ser diagnosticado radiograficamente (*i.e.*, por uma TC de corte fino) e está associado à **síndrome de Pendred**. O gene responsável codifica uma proteína denominada **PENDRINA**, um transportador de íons cloreto e iodeto.

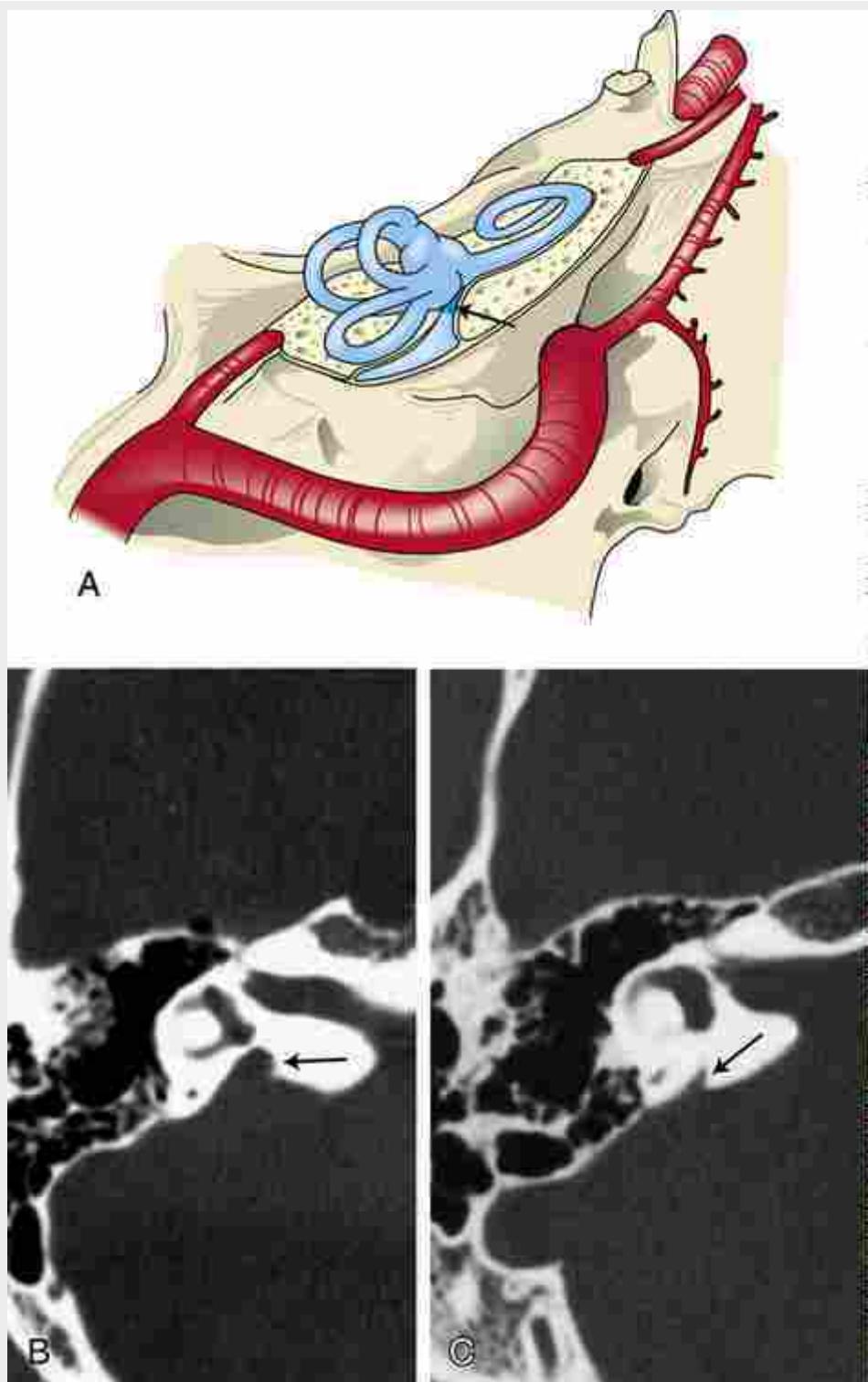
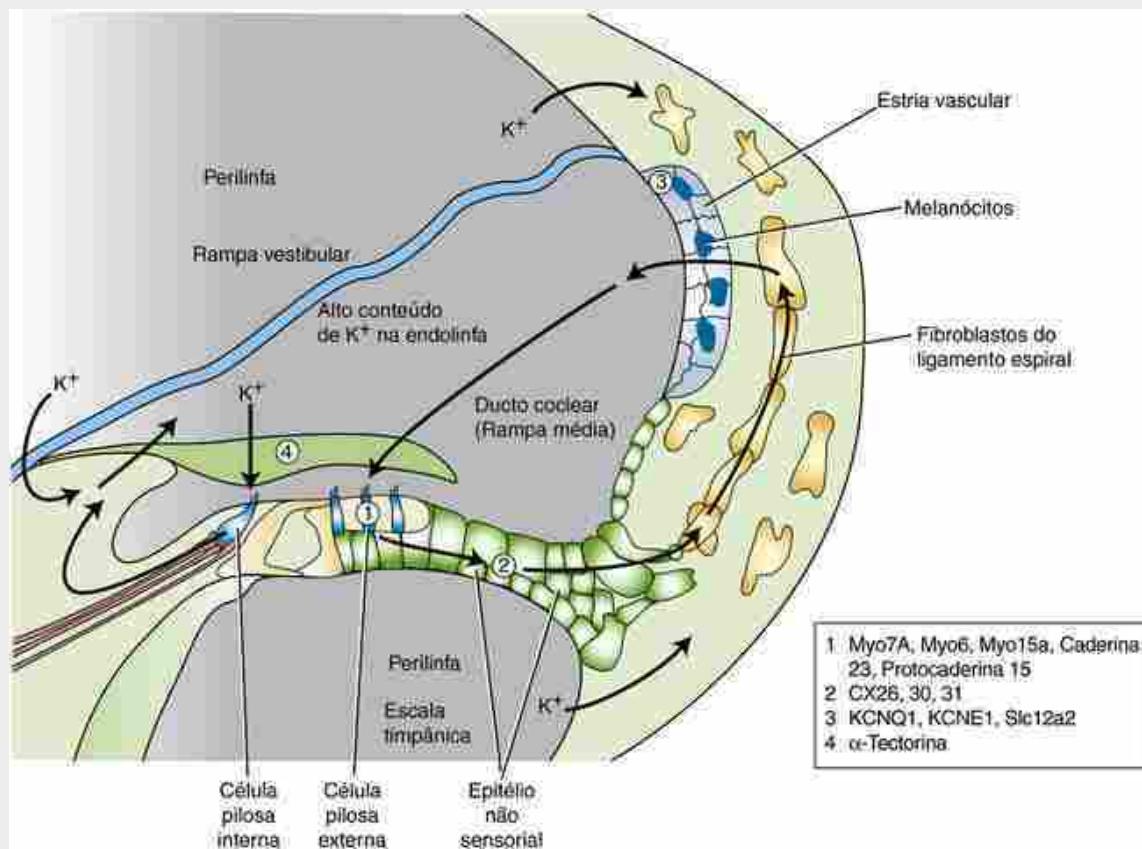


FIGURA 18-12 Aqueduto vestibular aumentado. A, Anatomia normal da orelha interna mostrando o ducto endolinfático (seta) que conecta o saco endolinfático ao vestíbulo, passando pelo aqueduto vestibular ósseo. B, Aqueduto vestibular aumentado (seta) mostrado por tomografia computadorizada axial do osso temporal. C, O calibre normal do aqueduto ósseo (seta) é inferior a 1,5 mm. O osso aparece como um sinal branco.

As **células pilosas** desempenham um papel essencial tanto na audição quanto no equilíbrio. Muitos genes afetam o desenvolvimento e a função das células pilosas e, quando mutados, resultam em perda de audição e disfunção vestibular. Eles incluem genes que codificam componentes do citoesqueleto dos **estereocílios** (p. ex., ACTIN [actina], DIAPHANOUS 1, ESPIN [espina], HARMONIN [harmonina], SANS, WHIRLIN [whirlina]), motores intracelulares que controlam a polimerização de actina (p. ex., MYO6, MYO7a, MYO15a), e componentes da adesão celular (p. ex., CADHERIN [caderina] 23, PROTOCADHERIN [protocaderina] 15; [Fig. 18-13](#)). De modo alternativo, o gene pode ser necessário para a sobrevivência das células pilosas (p. ex., POU3F4).



A sensibilidade dos estereocílios a mutações gênicas é ilustrada pela **síndrome de Usher tipo 1**, uma doença autossômica recessiva caracterizada por **surdez neurosensorial** e **retinite pigmentosa**. Esta síndrome pode ser causada por mutações em um dos vários genes listados no parágrafo anterior (ou seja, MYO7a, HARMONIN, CADHERIN 23, SANS, PROTOCADHERIN 15). As proteínas caderina 23 (gene CADHERIN 23), harmonina (gene HARMONIN), whirlina (gene WHIRLIN) e protocaderina (gene PROTOCADHERIN 15) formam um complexo nas conexões de extremidades dos estereocílios (Fig. 18-11A), os quais contêm os canais de mecanotransdução. A proteína MYO7a transporta a protocaderina 23 e a harmonina para as conexões de extremidades. As análises de camundongos com mutações relevantes, as quais também são todas caracterizadas pela surdez, mostraram que os estereocílios se apresentam desorganizados e não têm o padrão normal em “escada”. A função auditiva das células pilosas também requer o contato dos estereocílios com a **membrana tectoria** sobrejacente. A mutação na α -tectorina, um componente importante desta membrana (Fig. 18-13), resulta em uma doença auditiva não sindrómica autossômica dominante, e a análise de camundongos com mutações na α -tectorina demonstrou que a membrana tectoria não está aderida às células pilosas sensoriais.

A sinalização através de **canais de íons** em células pilosas e a manutenção da integridade das células pilosas exigem elevados níveis de K^+ no líquido endolinfático. Isso é conseguido por meio da reciclagem de K^+ que entra nas células pilosas ativadas através das junções comunicantes (ou do tipo *gap*) para a **estria vascular**. A partir deste local, o K^+ é transportado de volta para a linfa pelas proteínas canais KCNQ1 e KCNE1 (Fig. 18-13). Defeitos na reciclagem de K^+ podem resultar em surdez. Por exemplo, as mutações em várias **proteínas conexinas** (CX26, CX30, CX31), as quais são componentes das **junções do tipo gap**, foram identificadas em muitos pacientes com surdez. De fato, mutações no gene que codifica CX26, o qual é expresso no epitélio não sensorial entre o órgão de Corti e a estria vascular (Fig. 18-13), são responsáveis por cerca de 20% a 30% dos casos de surdez pré-lingual não sindrómica, fazendo desta a causa mais comumente conhecida de surdez congênita hereditária. A mutação em KCNQ1 pode causar a **síndrome de Jervell e Lange-Nielsen**, caracterizada por surdez neurosensorial pré-lingual e arritmia cardíaca (**síndrome do intervalo QT longo**, também descrita no Cap. 12); esta última pode resultar em morte súbita.

A **neuropatia auditiva** é classificada como um defeito na função do nervo auditivo e pode ser devida a mutações nos genes VGLUT3, OTOFERLIN, PEJVAKIN, e DIAPHANOUS3. O VGLUT3 é expresso nas células pilosas internas e exerce uma função na produção de glutamato acondicionado em vesículas sinápticas, enquanto o OTOFERLIN é necessário para a produção de vesículas sinápticas e da fusão das vesículas sinápticas nas sinapses

em fita.

Finalmente, diversas síndromes de surdez são o resultado de mutações que afetam a função das **mitocôndrias** e podem ser causadas por mutações no DNA mitocondrial (o qual, por ser todo herdado das mitocôndrias de nossas mães, é **herdado maternalmente**). Tal doença é causada por mutações no gene MTRNR1, que codifica o RNA ribossomal 12S mitocondrial e provoca surdez neurosensorial de início tardio. No entanto, a surdez em indivíduos portadores de mutações em MTRNR1 pode ser subitamente precipitada pelo tratamento com **antibióticos aminoglicosídeos** devido à sensibilidade aumentada que a mutação confere aos efeitos **ototóxicos** dessas drogas.

Desenvolvimento da orelha média

Conforme discutido no [Capítulo 17](#), a primeira bolsa faríngea se alonga para formar o **recesso tubotimpânico**, o qual subsequentemente se diferencia para formar a maior parte da **cavidade timpânica** expandida da orelha média e toda a delicada **tuba auditiva (de Eustáquio)**, a qual conecta a cavidade do tímpano à faringe. Os precursores cartilaginosos dos três ossículos auditivos se condensam no mesênquima próximo à cavidade timpânica ([Fig. 18-3](#)). O **martelo** e a **bigorna** se originam do primeiro arco faríngeo, enquanto o **estribo** se origina do segundo arco faríngeo. Os ossículos em desenvolvimento permanecem inclusos no mesênquima adjacente à cavidade timpânica até o 8º mês de gestação. Durante o 9º mês de desenvolvimento, o mesênquima em torno dos ossículos auditivos é removido e a cavidade timpânica se expande para envolvê-los ([Fig. 18-3E](#)). Mesentérios endodérmicos transitórios suspendem os ossículos na cavidade até que seus ligamentos de suporte definitivos se desenvolvam.

Dois músculos estão associados aos ossículos – o **tensor do tímpano** e o **estapédio** –, ambos formados na 9ª semana a partir do mesoderma do primeiro e do segundo arcos faríngeos, respectivamente. Refletindo sua origem de desenvolvimento, o músculo tensor do tímpano é inervado pelo **nervo trigêmeo** (V nervo craniano), enquanto o músculo **estapédio** é inervado pelo **nervo facial** (VII nervo craniano).

Enquanto isso, a membrana faríngea que separa a cavidade timpânica do meato acústico externo (derivada do primeiro sulco faríngeo) se desenvolve na **membrana timpânica ou tímpano** ([Fig. 18-3E](#)). A membrana timpânica é composta de um revestimento externo de ectoderma, um revestimento interno de endoderma e uma camada intermediária denominada **estrato fibroso**. A camada intermediária é derivada de **células da crista neural** infiltradas.

Durante o 9º mês, os ossículos auditivos suspensos assumem as suas relações funcionais entre si e com as estruturas associadas das orelhas externa, média e interna. A extremidade ventral do martelo se fixa ao tímpano, e a placa basal do estribo se fixa à **janela oval**, uma pequena abertura no labirinto ósseo ([Figs. 18-3E](#) e [18-9](#)). As vibrações sonoras são transmitidas do tímpano para a janela oval pela cadeia articulada de ossículos, e da janela oval para a cóclea pelo fluido que preenche o espaço perilynftático. A cóclea transduz essas vibrações em impulsos nervosos. Os ossículos não são totalmente livres para vibrar/mover em resposta aos sons até 2 meses após o nascimento.

Durante o 9º mês, a cavidade timpânica se expande para o interior da parte mastoide do osso temporal para formar o **antro mastóideo**. As **células aéreas mastóideas** na porção mastoide do osso temporal não se formam até cerca de 2 anos de idade, quando a ação do músculo esternocleidomastóideo sobre a porção mastoide do osso temporal induz a formação do processo mastoide.

Desenvolvimento da orelha externa

A orelha externa consiste no **meato acústico externo** em formato de funil e na **aurícula** (ou **pavilhão auricular**). O precursor do meato acústico externo se desenvolve por meio de uma invaginação do primeiro sulco faríngeo durante a 6ª semana e requer a formação do anel timpânico. O revestimento ectodérmico da porção profunda deste tubo subsequentemente prolifera, produzindo um eixo sólido de tecido denominado **tampão meatal**, o qual preenche completamente a extremidade medial do meato acústico externo na 26ª semana ([Fig. 18-3C, D](#)). A canalização deste tampão se inicia quase imediatamente e produz os dois terços mediais do meato definitivo ([Fig. 18-3E](#)). A orelha externa é separada da orelha média pela **membrana timpânica** (ver a seção anterior sobre o desenvolvimento da orelha média). A membrana timpânica definitiva é formada durante a recanalização do meato acústico externo.

A aurícula se desenvolve a partir de **seis tubérculos auriculares**, que surgem durante a 5ª semana no primeiro e no segundo arcos faríngeos ([Fig. 18-14](#)). Da região ventral para a dorsal, os tubérculos no primeiro arco faríngeo são denominados **trago, hélice e cimba da concha** (ou 1 a 3, respectivamente), e os tubérculos no segundo arco são chamados de **antitrago, anti-hélice e concha** (ou 4 a 6, respectivamente). Esses termos indicam quais os tubérculos que finalmente formam cada parte do pavilhão auricular. Durante a 7ª semana, os tubérculos auriculares começam a aumentar de tamanho, se diferenciar e se fundir para produzir a forma definitiva da aurícula. À medida que a face se desenvolve, o pavilhão auricular é gradualmente translocado de sua localização original baixa ao lado do pescoço para um local mais lateral e cranial ([Cap. 17](#)).

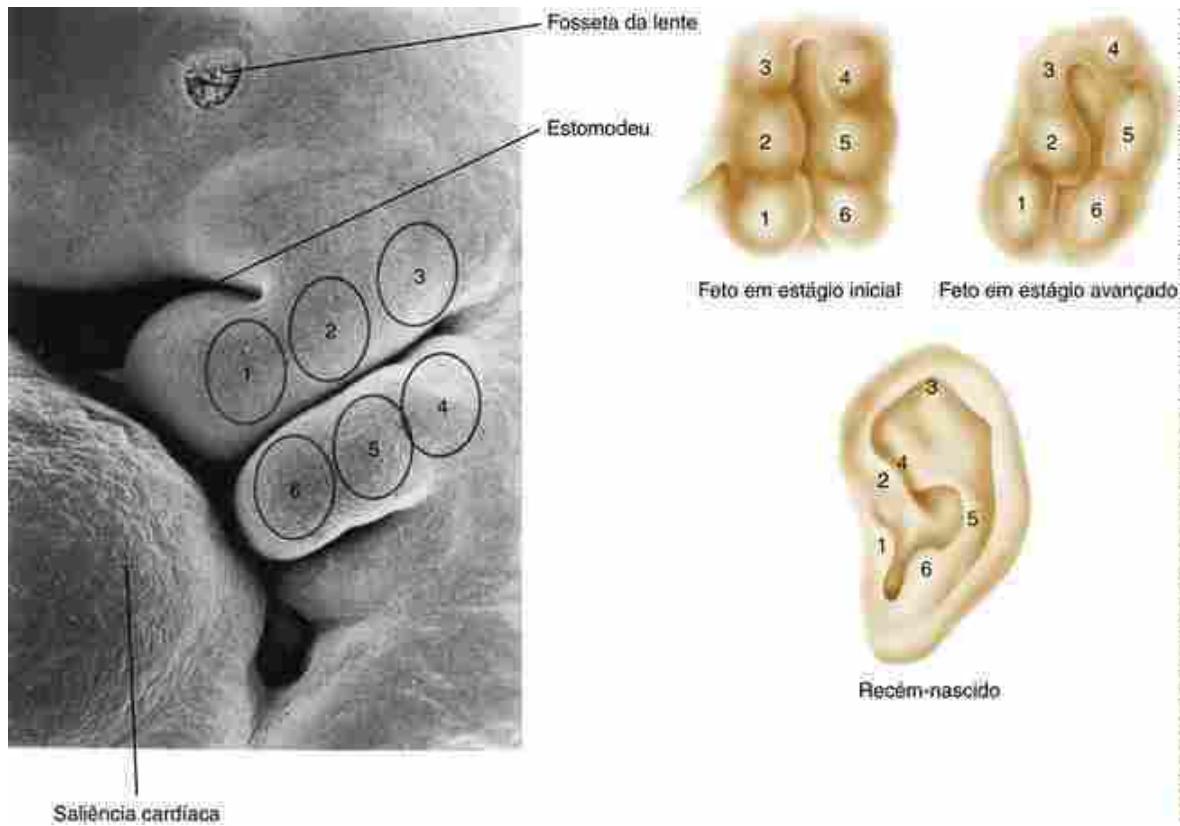


FIGURA 18-14 Diferenciação da aurícula. A aurícula se desenvolve a partir de seis tubérculos auriculares, os quais surgem nas superfícies justapostas do primeiro e segundo arcos faríngeos.

Na Clínica

Surdez de condução

Conforme mencionado anteriormente neste capítulo, a surdez pode ser neurosensorial ou de condução. A **surdez de condução** é causada por anomalias estruturais da orelha média ou externa que impedem a condução dos sons para a orelha interna. Além de ter um impacto potencial sobre a audição, as malformações das orelhas externa e média têm importantes implicações clínicas. Esses defeitos são comuns como um todo e podem ter um impacto estético significativo sobre os pacientes. Além disso, eles podem ser indicativos de uma síndrome mais generalizada.

Malformações das orelhas externa e média

Os defeitos da orelha externa (*i.e.*, o **pavilhão auricular** ou **aurícula**) resultam da morfogênese e crescimento anormais de um ou mais tubérculos auriculares derivados do primeiro e segundo arcos faríngeos. O crescimento suprimido de todos os tubérculos resulta em **microtia** (um pavilhão auricular pequeno; Fig. 18-15A, B) ou **anotia** (ausência de pavilhão auricular; Fig. 18-15C). O supercrescimento dos tubérculos resulta em **macrotia** (pavilhão auricular grande). Tubérculos acessórios também podem se formar, produzindo **apêndices pré-auriculares** ectópicos, os quais podem ou não ser acompanhados por **fossetas pré-auriculares** (Fig. 18-15D). Defeitos do meato acústico externo incluem **atresia** e **estenose**.



FIGURA 18-15 Anomalias da orelha externa. A, B, Microtia, leve e moderadamente grave, respectivamente. C, Anotia. D, Fossetas pré-auriculares (setas) e apêndice pré-auricular. E, Orelha externa de um menino com síndrome BOR. A seta superior indica uma fosseta pré-auricular e a seta inferior indica uma fístula cervical. F, Menina com microsomia hemifacial apresentando apêndices pré-auriculares.

As malformações significativas da orelha externa devem levantar suspeitas sobre possíveis anormalias em outras partes do corpo. De 20% a 40% das crianças com microtia/anotia terão defeitos adicionais que podem sugerir uma síndrome. Por exemplo, a microtia ocorre em vários distúrbios de um único gene, incluindo as síndromes **brânquio-otorrenal (BOR)** (Fig. 18-15E, também descrita no Cap. 15), **CHARGE** (também descrita nos Caps. 4 e 12) e **de Treacher Collins** (também abordada no Cap. 17), bem como na **trissomia do cromossoma 21** (também abordada nos Caps. 1, 5, 9, 12 e 17) e **do cromossoma 18** (também descrita nos Caps. 8 e 9). A microtia pode ocorrer após a exposição pré-natal ao **álcool** ou **isotretinoína**. A microtia e os apêndices pré-auriculares (e, mais raramente as fossetas) ocorrem no **espectro óculo-aurículo-vertebral (EOAV)** (Fig. 18-15F; também abordado no Cap. 17). A macrotia pode ocorrer na **síndrome do X frágil**, que é a causa mais comum de retardamento mental no sexo masculino. Esta síndrome é causada por expansões repetidas de trinucleotídeos no gene FMR1 (**FRAGILE X MENTAL RETARDATION 1**). A atresia ou estenose do meato acústico externo podem sugerir a eliminação do braço longo do cromossoma 18.

Os defeitos da orelha média resultam da formação ou ossificação anormais dos ossículos da orelha média – martelo, bigorna e estribo –, derivados das células da crista neural que povoam o primeiro e o segundo arcos faríngeos. O crescimento suprimido dessas células da crista neural resulta em **hipoplasia ou aplasia e fixação dos ossículos**. Estes defeitos ocorrem em associação com displasias do esqueleto, tais como **acondroplasia** (mutação do FGFR3; abordada nos 8) e **osteogênese imperfeita** (múltiplas mutações em genes de colágenos) ou em várias síndromes, como **BOR**, **Treacher Collins** e **EOAV** (Fig. 18-15).

Embriologia na Prática

Notícias frescas

Alguns anos se passaram desde que um menino nasceu sem a orelha direita, na verdade, com microtia de grau 3; ele tem um pilar de cartilagem de pouca profundidade, coberta pela pele, e sem nenhum meato acústico externo no lado direito. Seus pais se reuniram com vários cirurgiões plásticos para rever o momento e o processo de reconstrução cirúrgica.

Eles são apresentados a múltiplas opções que diferem ligeiramente no momento e no número de cirurgias. A

típica abordagem cirúrgica de vários estágios envolve a remoção de uma quantidade significativa de cartilagem a partir do gradil costal, moldá-la e implantá-la juntamente com enxertos de pele para criar um pavilhão auricular. Geralmente o processo começa por volta dos 6 anos de idade, quando a circunferência do tórax é suficientemente grande para permitir a remoção de cartilagem suficiente. Técnicas alternativas utilizam armações artificiais que não crescem com a criança.

O casal viu com apreensão fotografias de orelhas de outros pacientes conforme eles passavam pelo processo e, mais tarde, discutiram suas preocupações sobre a cirurgia da parede torácica e os resultados globais. Enquanto pesavam os prós e os contras dessas várias abordagens cirúrgicas tradicionais, o casal é informado sobre uma nova tecnologia, ainda em desenvolvimento, que poderia facilitar drasticamente a reparação cirúrgica do seu filho e, potencialmente, melhorar os resultados em longo prazo.

O casal vê uma história *on-line* que descreve como os cientistas conseguiram criar uma orelha humana realista usando a impressão 3D com materiais biológicos. Combinada com células cultivadas a partir do receptor que crescem e substituem a armação, esta técnica poderia afastar a necessidade de coletar cartilagem, resultando em uma orelha com aparência mais natural e melhor funcionamento.

Algum grau de microtia ocorre em até uma em cada 250 crianças. Esta afeta mais comumente a orelha direita e é mais frequente no sexo masculino. O defeito pode ser isolado ou parte de uma condição mais ampla, tal como o espectro óculo-aurículo-vertebral (EOAV), e pode ser genético ou pode resultar de condições externas tais como o diabetes materno.

Com as estimativas para início dos testes em humanos utilizando esta nova técnica para começar nos próximos 3 a 5 anos, o casal adotou uma postura de “esperar para ver” nas decisões sobre o tipo e o momento da reconstrução cirúrgica.

Leituras sugeridas

- Chapman, S. C. Can you hear me now? Understanding vertebrate middle ear development. *Front Biosci.* 2011; 16:1675–1692.
- Driver, E. C., Kelley, M. W. Specification of cell fate in the mammalian cochlea. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2009; 87:212–221.
- Dror, A. A., Avraham, K. B. Hearing impairment: a panoply of genes and functions. *Neuron.* 2010; 68:293–308.
- Groves, A. K., Fekete, D. M. Shaping sound in space: the regulation of inner ear patterning. *Development.* 2012; 139:245–257.
- Kelly, M. C., Chen, P. Development of form and function in the mammalian cochlea. *Curr Opin Neurobiol.* 2009; 19:395–401.
- Ladher, R. K., O'Neill, P., Begbie, J. From shared lineage to distinct functions: the development of the inner ear and epibranchial placodes. *Development.* 2010; 137:1777–1785.
- Ogino, H., Ochi, H., Reza, H. M., Yasuda, K. Transcription factors involved in lens development from the preplacodal ectoderm. *Dev Biol.* 2012; 363:333–347.
- Okano, T., Kelley, M. W. Stem cell therapy for the inner ear: recent advances and future directions. *Trends Amplif.* 2012; 16:4–18.
- Schwander, M., Kachar, B., Muller, U. Review series: the cell biology of hearing. *J Cell Biol.* 2010; 190:9–20.

Desenvolvimento dos Olhos

Resumo

O desenvolvimento dos olhos tem início a partir da 4^a semana, sob a forma de um par de sulcos laterais, os **sulcos ópticos**, os quais evaginam do sulco neural do cérebro para formar as **vesículas ópticas**. Logo que a extremidade distal da vesícula óptica atinge a superfície ectodérmica, esta invagina, transformando a vesícula óptica em um **cálice óptico** em forma de taça que está ligado ao prosencéfalo por um pedúculo óptico mais estreito e escavado. A superfície ectodérmica adjacente se espessa simultaneamente para formar o **placoide do cristalino**, o qual se invagina e comprime-se para fora para tornar-se uma côncava **vesícula do cristalino**. Células posteriores da vesícula do cristalino formam as longas e finas **fibras primárias do cristalino** orientadas anteroposteriormente. As células anteriores originam um epitélio simples que recobre a face do cristalino e dão origem às **fibras secundárias do cristalino**, que formam a maior parte do cristalino maduro.

A parede interna do cálice óptico dá origem à **retina neural**, enquanto a parede externa origina o delgado **epitélio pigmentado** que contém melanina. A diferenciação da retina neural ocorre entre a 6^a semana e o 8^o mês. Seis tipos de células neuronais e um tipo de célula glial (Müller) são produzidos na retina neural, que é proliferativa, formando três camadas na retina madura: a **camada de células ganglionares**; a **camada nuclear interna**, que contém as células amácrinas, horizontais, de Müller e bipolares; e uma **camada nuclear externa**, que contém os bastonetes e cones fotorreceptores. Os axônios da retina neural crescem através do pedúculo óptico para o cérebro, convertendo o pedúculo óptico em **nervo óptico**.

O sangue é fornecido para o cristalino e a retina em desenvolvimento por um ramo terminal da artéria oftalmica, a **artéria hialóidea**, a qual penetra na vesícula óptica através de um sulco denominado **fissura óptica**. A porção da artéria que atravessa o corpo vítreo para alcançar o cristalino degenera durante a vida fetal como cristalino maduro; o restante da artéria torna-se a artéria central da retina.

Conforme a vesícula óptica se forma, ela é envolvida por uma bainha de mesênquima derivada de células da crista neural e do mesoderma da cabeça. Esta bainha se diferencia para formar as duas coberturas do cálice óptico: a delgada camada vascular (interna) **coróidea** e a **esclera** fibrosa (externa). O mesênquima que recobre o cristalino em desenvolvimento divide-se em duas camadas para englobar um novo espaço denominado **câmara anterior**. A parede interna da câmara anterior, que recobre o cristalino, é chamada **membrana pupilar** e é uma estrutura vascular transitória. As camadas profundas desta parede sofrem vacuolização para criar um novo espaço, a **câmara posterior**, entre o cristalino e o restante da fina membrana pupilar. No início da vida fetal, a membrana pupilar se decompõe completamente para formar a **pupila**. A borda do cálice óptico se diferencia para formar a **íris** e o **corpo ciliar**. O mesoderma adjacente ao cálice óptico se diferencia na 5^a e na 6^a semanas para formar os **músculos oculares extrínsecos**. Os componentes do tecido conjuntivo dos músculos oculares extrínsecos são derivados das células da crista neural. As pálpebras surgem como dobras da superfície do ectoderma e são fusionadas a partir da 8^a semana até aproximadamente o 5º mês de desenvolvimento embrionário.

Caso Clínico

Um menino que nasceu com **anoftalmia** bilateral (ausência dos olhos) é examinado aos 10 meses de idade por um endocrinologista. Ele foi encaminhado por seu médico particular por apresentar pênis subdesenvolvido (micropênis), testículos que não desceram para a bolsa escrotal (criptorquidia) e crescimento linear deficiente. Embora seu peso tenha acompanhado o 50º percentil, sua altura atrasou do 50º percentil, no passado, para o 10º percentil atualmente. Esses achados, associados à anoftalmia, com anormalidades hipofisárias, justificavam o encaminhamento. Um questionário sobre o histórico familiar não descobriu nenhum parente com defeitos congênitos, e ambos os pais encontram-se em bom estado de saúde.

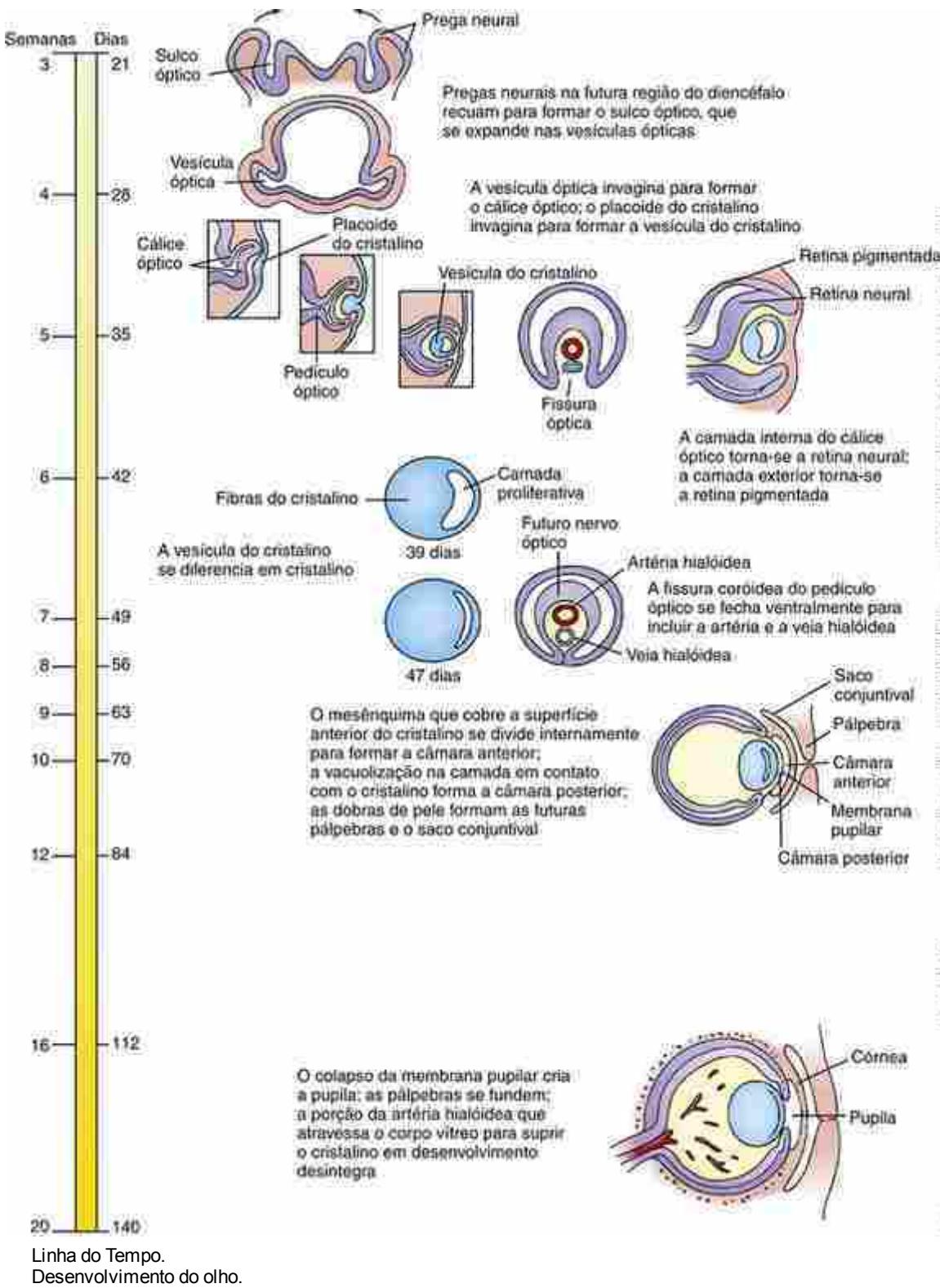
Embora o menino tivesse imagens cerebrais, no período neonatal, que demonstravam uma glândula pituitária normal, testes revelaram deficiência de vários hormônios hipofisários (**hipopituitarismo**). O hipogonadismo

hipogonadotrófico, devido à redução na liberação de LH e FSH explica a genitália pequena, e seus pais são informados de que o tratamento de reposição de testosterona será necessário aos 12 anos de idade, para iniciar a puberdade. Sua baixa estatura é explicada pela liberação reduzida do hormônio de crescimento, que pode ser tratada no futuro com a reposição do hormônio de crescimento. O resto da função endócrina está normal, mas a família é avisada de que outras deficiências hormonais podem ser desenvolvidas, e visitas regulares de acompanhamento com um endocrinologista estão planejadas.

A família faz então uma pergunta, já feita a outros médicos, mas ainda sem uma resposta conclusiva: "Será que isso vai acontecer novamente na nossa próxima gravidez?". Para ajudar a família a definir o risco de recorrência e de abordar a necessidade de outras avaliações clínicas, é discutido o teste genético.

O quadro clínico dá suporte ao rastreamento do gene SOX2, um fator de transcrição box (relacionado ao SRY) de um grupo de alta mobilidade (HMG) importante para o desenvolvimento do eixo hipotalâmico-hipofisário, bem como dos olhos. As mutações humanas de SOX2 estão associadas à anoftalmia bilateral ou microftalmia grave em associação com deficiências endócrinas da pituitária. Anormalidades variáveis adicionais incluem retardos no desenvolvimento, dificuldades de aprendizagem, atresia de esôfago, perda auditiva neurosensorial e anormalidades genitais.

Este paciente sofre de uma mutação *non sense* SOX2 *de novo* que resulta em uma proteína truncada com domínio de transativação incompleto e atividade transativadora comprometida. As mutações *de novo* SOX2 são as causas mais comumente identificadas de anoftalmia/microftalmia bilateral sindrômica e têm baixo risco de recorrência em futuras gestações.



Os olhos têm origem em diversas camadas de tecido embrionário

O olho se desenvolve a partir de várias camadas de tecidos embrionários. O ectoderma dá origem ao cristalino e a parte da córnea. O neuroectoderma forma o epitélio pigmentado e a retina neural, o corpo ciliar não neural e as estruturas da íris, incluindo os músculos lisos. Células da crista neural contribuem para o estroma da córnea, os músculos ciliares, e a camada coroidea vascular em conjunto com a esclera fibrosa. O mesoderma contribui para a córnea e forma os angioblastos da camada coroidea.

Desenvolvimento do cálice óptico e cristalino

A primeira evidência morfológica do olho é a formação do **sulco óptico** na região do futuro diencéfalo do sulco neural prosencéfálico (prosencéfalo) no 22º dia (Fig. 19-1A, B). No momento em que o neuroporo craniano se fecha, no 24º dia, o **pedículo óptico** é evidente (Fig. 19-1C-E), e os primórdios ópticos já se transformaram em evaginações laterais do tubo neural, denominadas **vesículas ópticas** (Fig. 19-1D,E). As paredes das vesículas ópticas são contínuas com o neuroepitélio do futuro encéfalo, e a cavidade ou **ventrículo** no interior da vesícula óptica é contínua ao canal neural. Conforme a vesícula óptica se forma, torna-se envolvida por uma camada de mesênquima derivada de células da crista neural e do mesoderma da cabeça. Estudos de mapeamento de destino em aves e camundongos revelaram que este mesênquima origina muitos tecidos oculares, como a esclera, músculos oculares, o tecido conjuntivo e a cartilagem, em conjunto com as células endoteliais vasculares. O mesênquima extraocular inicia sua formação no 24º dia e envolve completamente a vesícula óptica por volta do 26º dia. No 24º dia, a porção distal da vesícula óptica entra em contato com a superfície do ectoderma de revestimento. Nesse momento, o cálice óptico torna-se padronizado ao longo de seus eixos planares (ver a seguir e no quadro “No Laboratório de Pesquisa” do Cap. 9 intitulado “Padrões de informação posicional da placa neural e do tubo neural”).

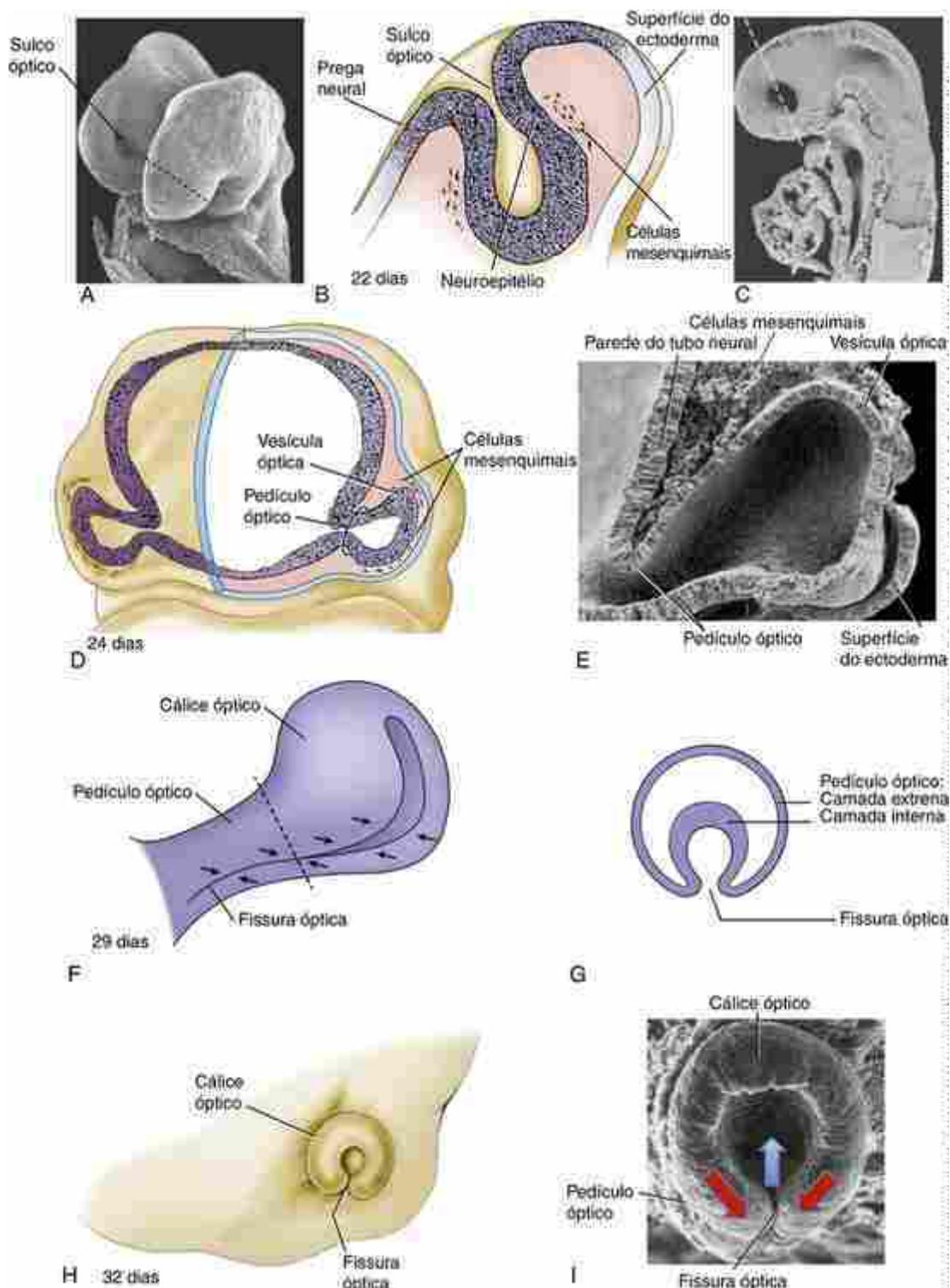


FIGURA 19-1 Formação do sulco, vesícula e cálice óptico. **A, B**, Formação do sulco óptico no prosencéfalo em formação durante a neurulação. A linha tracejada em **A** (eletromicrografia de varredura da região do neuroporo anterior de um embrião de camundongo) indica o nível da secção mostrada em **B**. **C-E**, Formação das vesículas ópticas. A linha tracejada em **C** (eletromicrografia de varredura de uma secção sagital mediana através da cabeça de um embrião de camundongo após o fechamento do neuroporo anterior) indica o nível da secção mostrada em **D**; o ectoderma (bronzeado, com superfície de corte mostrada em azul claro) foi removido no lado direito do desenho (lado esquerdo do embrião). A eletromicrografia de varredura em **E** amplifica as informações exibidas no lado direito do desenho em **D**. No 24º dia, as vesículas ópticas acomodam-se ao lado da superfície do ectoderma. **F, G**, Desenho de um cálice óptico e pedúculo óptico com a fissura óptica invaginada aos 29 dias e uma secção através do pedúculo óptico (na altura indicada pela linha tracejada em **F**). As setas indicam os locais de fusão. **H, I**, Vista terminal do cálice óptico durante a 5ª semana em um desenho e em uma eletromicrografia de varredura (a superfície do ectoderma e o mesênquima associado da cabeça foram removidos na preparação da eletromicrografia). As setas (**F, I**) indicam as direções do movimento.

Por volta do 28º dia a extremidade distal da vesícula óptica invagina, convertendo a vesícula óptica em um **cálice**

óptico em forma de taça (Fig. 19-1F-I). Simultaneamente, a parte ventral do pedículo óptico invagina, e o dorso do cálice óptico se dobra em torno da invaginação para formar a **fissura óptica** (*coroidal/coróidea*). Os vasos sanguíneos mais tarde entram no cálice óptico através da fissura óptica (Fig. 19-2), e, após isso, os dois lábios da fissura se fundem (Fig. 19-2C). Após o fechamento da fissura, o epitélio ciliar primitivo secreta fluido aquoso, estabelecendo a pressão intraocular.

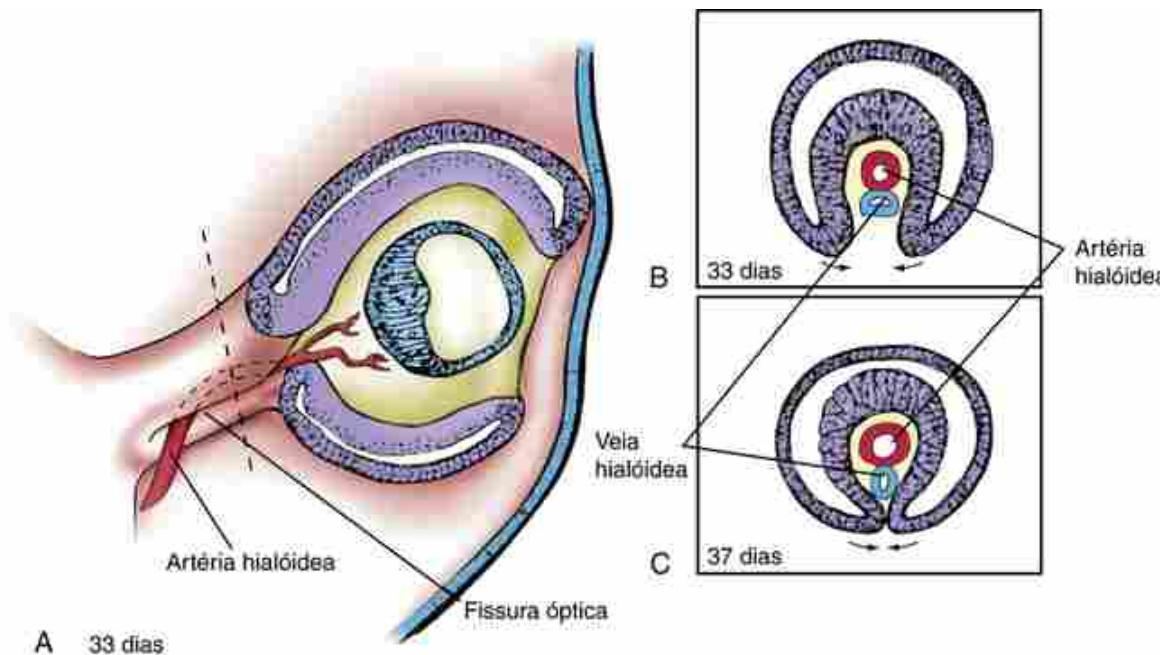


FIGURA 19-2 Vascularização do cristalino e da retina. A, Conforme a vesícula do cristalino se descola da superfície do ectoderma, torna-se vascularizada pelos vasos hialóideos, que ganham acesso ao cristalino através da fissura óptica. B, C, Durante a 7^a semana, as bordas da fissura óptica se fusionam, fechando a artéria e a veia hialóideas no canal hialóideo. Quando o cristalino amadurece, os vasos que o servem degeneram e a artéria e veia hialóideas tornam-se a artéria central e a veia da retina (Fig. 19-7D). A linha tracejada em A indica o nível das secções mostradas em B e C.

No Laboratório de Pesquisa

Formação do campo ocular

O desenvolvimento dos olhos tem início com a formação de um único campo ocular na placa neural craniana (*i. e.*, o futuro prosencéfalo durante a gastrulação e neurulação). O fator de transcrição Otx2 é necessário para o desenvolvimento do prosencéfalo. Na fase de placa neural, o morfogene *sonic hedgehog* (Shh) é secretado pela placa pré-cordal subjacente e é essencial para a separação do campo ocular, inicialmente único, em dois primórdios ópticos individuais; a falha da sinalização Shh resulta na persistência de um campo ocular único e na formação tanto da **holoprosencefalia** (abordada no Cap. 17 no quadro “Na Clínica” intitulado “Holoprosencefalia”) quanto da **ciclopia** (olho único, olho na linha média). Além disso, vários fatores de transcrição, que regulam o desenvolvimento normal dos olhos, são especificamente expressos no campo ocular e são necessários para a especificação do campo visual. Os fatores de transcrição do campo ocular incluem Tbx3, Pax6, Six3, Six6 (também conhecido como Optx2), Rx/Rax e Lhx2. Sua perda resulta em falhas do desenvolvimento do olho. Por exemplo, o gene homeobox Rx/Rax é expresso no campo ocular em camundongos e em seres humanos. Quando suprimido em camundongos, leva ao impedimento do desenvolvimento do olho na fase da placa neural. Isso resulta em **anoftalmia** (ausência do olho) ou **microftalmia** (olho pequeno). Além disso, a expressão ectópica de fatores de transcrição individuais do campo ocular como Pax6, Six3, ou Six6, os quais são expressos nos olhos em desenvolvimento de organismos-modelo tão diversos quanto a *Drosophila* e o camundongo, resulta na formação de olhos ectópicos. Esses e outros achados dão suporte à ideia de que a padronização progressiva da placa neural, e, posteriormente, do campo ocular é regulada por um sistema de retroalimentação de fatores de transcrição do campo ocular.

Assim que a vesícula óptica entra em contato com a superfície do ectoderma, o ectoderma justaposto (à frente da vesícula) se espessa para formar a **placa do cristalino** (Fig. 19-3C). Pouco tempo depois, a placa do cristalino invagina-se para originar uma **depressão do cristalino** (Fig. 19-3A, B, E). Por volta do 33º dia, a placa separa-se da superfície do ectoderma, tornando-se a **vesícula do cristalino** (oca), circundada por uma lâmina basal (cápsula do cristalino). As células mesenquimais derivadas do mesoderma migram para o **espaço lentirretinal** localizado entre a vesícula do cristalino e a parede interna do cálice óptico em expansão, e secretam uma matriz gelatinosa denominada **corpo vítreo primário** (Fig. 19-3E, F). Começando no 33º dia, as células da parede posterior (profunda) da vesícula do cristalino diferenciam-se para formar as longas e anteroposteriormente orientadas **fibras primárias do cristalino**, que expressam proteínas denominadas cristalinas (α , β e γ), necessárias para a transparência do cristalino (Fig. 19-4). O alongamento dessas células transforma a vesícula do cristalino no arredondado **corpo do cristalino**, obliterando a cavidade da vesícula do cristalino por volta da 7ª semana. As células epiteliais anteriores do cristalino, mais próximas à córnea, permanecem proliferativas ao longo da vida. Elas migram perifericamente ao equador do cristalino, dando origem às futuras fibras secundárias do cristalino fetal, e às fibras corticais do cristalino adulto (arco do cristalino). As fibras secundárias do cristalino começam a ser formadas no 3º mês.

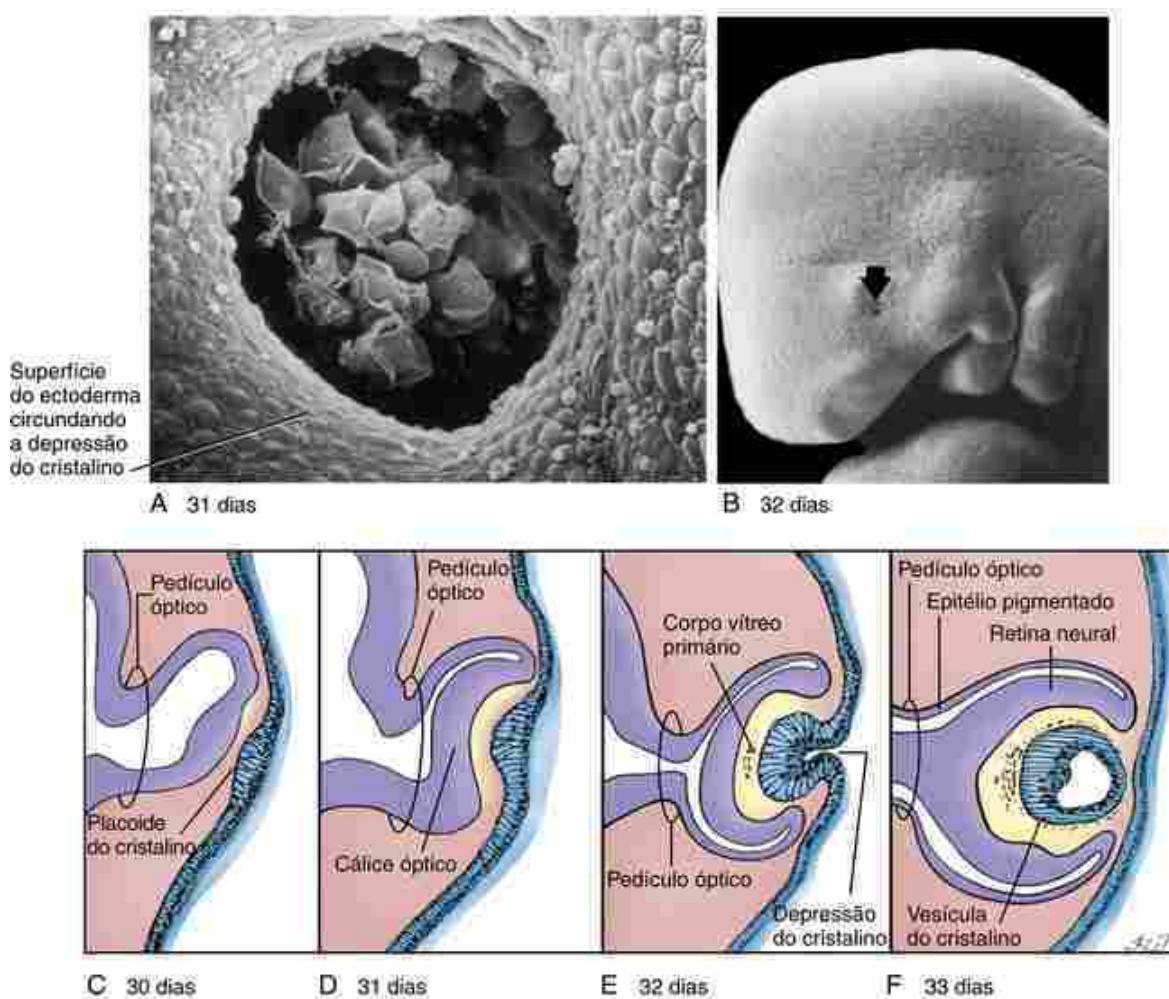


FIGURA 19-3 Formação do placoide e da vesícula do cristalino. O contato com o cálice óptico é necessário para a manutenção e desenvolvimento do placoide do cristalino, embora outras influências sejam mais importantes na sua indução. A-F, Durante a 5ª semana, o placoide do cristalino começa a invaginar para formar a depressão do cristalino (seta em B, tanto A quanto B mostram eletromicrografia de varredura). O placoide do cristalino sofrendo invaginação eventualmente comprime-se para fora do ectoderma da superfície para formar uma vesícula do cristalino fechada no cálice óptico (E, F).

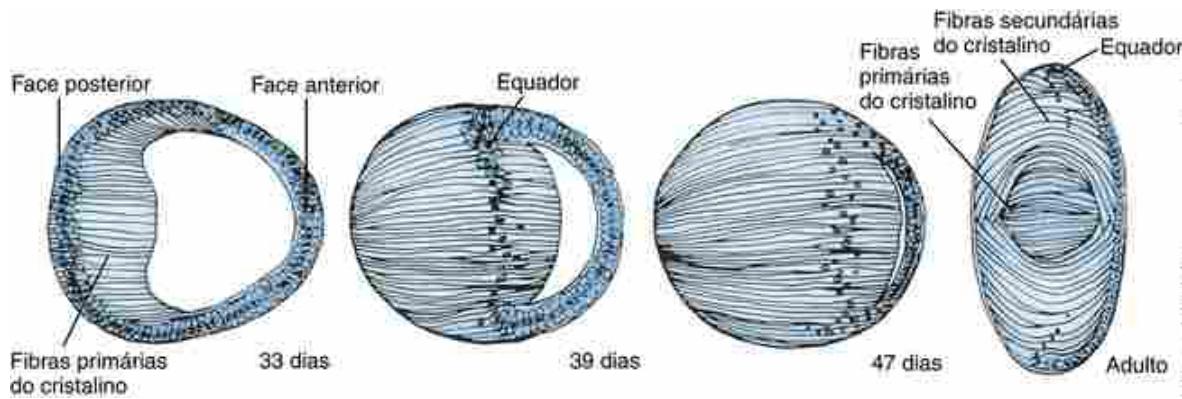


FIGURA 19-4 Diferenciação do cristalino. O cristalino se desenvolve rapidamente da 5^a à 7^a semana conforme as células de sua parede posterior se alongam e diferenciam para formar as fibras primárias do cristalino. As fibras secundárias do cristalino começam a se formar no 3º mês.

No Laboratório de Pesquisa

Formação e morfogênese do cristalino

Após a indução do cristalino (consulte o quadro “No Laboratório de Pesquisa” do Cap. 18, intitulado “Desenvolvimento dos Placoides”), o cálice óptico influencia o crescimento, a diferenciação e a manutenção do cristalino em desenvolvimento. Se a porção do cálice óptico em contato com o ectoderma for removida, o cristalino eventualmente degenerará. Estudos utilizando camundongos com mutações têm demonstrado que vários genes são necessários para a indução e manutenção do placoide do cristalino, incluindo Pax6, Bmp4, e Bmp7. Por meio da mutagênese condicional, o Pax6 foi especificamente suprimido do ectoderma do cristalino, resultando na ausência de todas as estruturas do cristalino e falha na invaginação adequada da vesícula óptica. Este último resultado mostra que os sinais a partir do cristalino são necessários para a morfogênese adequada da vesícula óptica. Isso também foi demonstrado por experimentos nos quais o ectoderma do cristalino foi removido.

Várias famílias diferentes de fatores de crescimento e fatores de transcrição regulam a diferenciação das fibras do cristalino. Estes incluem, respectivamente, Fgfs, Tgf β s, e Wnts, e Maf e Prox-1. Por exemplo, uma vez que a vesícula do cristalino tenha sido formada, o Fgf no humor aquoso (produzido pela retina) induz as células na região posterior do cristalino a se diferenciar. Níveis mais baixos de sinalização Fgf do humor vítreo, e sinalização notch, mantêm a proliferação no epitélio anterior do cristalino. O gene homeobox FoxE3 também mantém a proliferação, enquanto Prox1, que é expresso na zona equatorial do cristalino, induz o bloqueio do ciclo celular por meio da ativação na expressão dos genes inibidores do ciclo celular p27kip1 e p57kip2 e os genes para cristalinas.

A via Wnt PCP não canônica é necessária para o alongamento da fibra (semelhante ao papel da sinalização PCP durante o alongamento das fibras musculares no miótomo; consulte o Cap. 8 para obter mais detalhes). As malformações do segmento anterior do olho podem incluir a falha do cristalino em se submeter à separação da superfície do ectoderma, resultando em um pedículo do cristalino persistente e conduzindo a uma interrupção do desenvolvimento do cristalino (**afacia**). Vários genes que regulam a separação vesícula do cristalino foram identificados no camundongo (p. ex., FoxE3, Pitx3, AP-2 α). Os defeitos do cristalino também estão associados a anormalidades da córnea e da íris, mostrando que os sinais a partir do cristalino são importantes para iniciar a diferenciação do ectoderma e do mesênquima. Por exemplo, a sinalização de Tgf β a partir do cristalino induz a expressão de Pitx2 e Foxc1 no mesênquima anterior, que é necessário para a diferenciação do epitélio corneal e da córnea. Por outro lado, anormalidades da córnea podem ocasionar defeitos secundários do cristalino.

Desenvolvimento da retina neural e do epitélio pigmentado

As duas paredes do cálice óptico originam as duas camadas da retina: a espessa parede pseudoestratificada interna do cálice origina a **retina neural**, que contém fotorreceptores denominados **bastonetes** e **cones** associados aos processos neurais, e a fina parede exterior do cálice torna-se o **epitélio pigmentado** cuboidal, contendo melanina (Fig. 19-5; ver também Fig. 19-3F.). Estas duas paredes são inicialmente separadas por um estreito **espaço intrarretinal**. O espaço intrarretinal entre a retina neural e o epitélio pigmentado desaparece por volta da 7^a semana. No entanto, as duas camadas da retina não se fundem firmemente, e vários tipos de trauma — mesmo um golpe simples na cabeça — podem causar o **descolamento da retina** (i. e., a separação mecânica destas duas camadas).

A melanina aparece pela primeira vez nas células do epitélio pigmentado em desenvolvimento no 33º dia. Logo depois, a lâmina basal do epitélio pigmentado, **membrana de Bruch**, se desenvolve. A diferenciação da retina neural começa no final da 6ª semana, assim que a camada de células progenitoras da retina adjacente ao espaço intrarretinal (que é homóloga ao neuroepitélio proliferativo que reveste o tubo neural; Caps. 4 e 9) inicia a produção de ondas de células que migram para dentro em direção ao corpo vítreo. Por volta da 6ª semana, duas camadas celulares da retina embrionária estão presentes: uma **camada neuroblástica externa** e uma **camada neuroblástica interna**. Na 9ª semana, duas membranas adicionais desenvolvem-se para cobrir as duas superfícies da retina neural. Uma **membrana limitante externa** é interposta entre o epitélio pigmentado e a zona proliferativa da retina neural, e a superfície interna da retina é selada por uma **membrana limitante interna** (Fig. 19-5B,C).

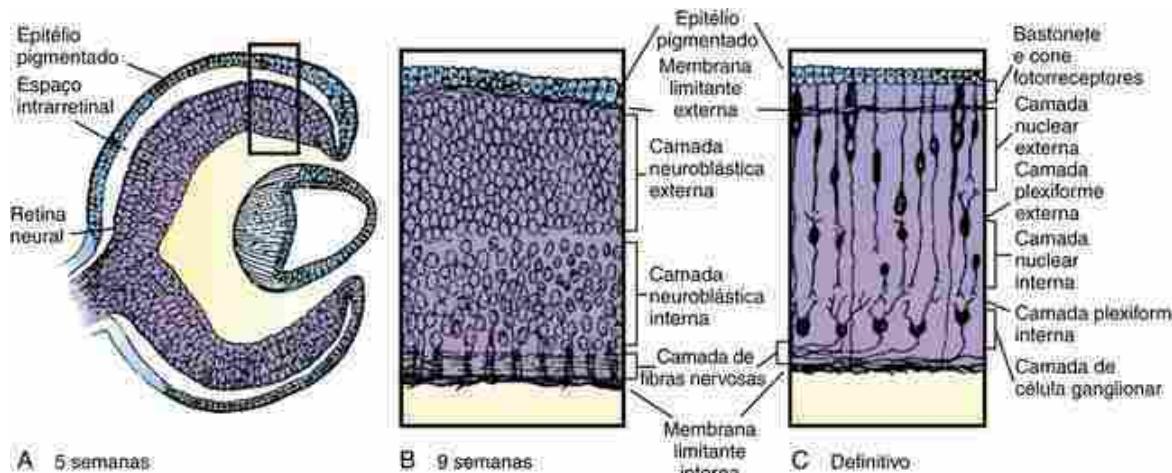


FIGURA 19-5 Diferenciação da camada interna do cálice óptico para formar a retina neural. A, Na 5ª semana, a retina neural consiste em um espesso epitélio colunar pseudoestratificado semelhante ao da parede do tubo neural. B, Na 9ª semana, a retina neural é subdividida nas camadas neuroblásticas exterior e interior, uma camada de fibras nervosas e as membranas limitadoras externa e interna. C, As camadas definitivas da retina neural se desenvolvem durante o final da vida fetal.

As camadas celulares definitivas da retina neural madura surgem a partir de precursores multipotentes que podem originar todos os tipos de células dentro das camadas neuroblásticas pseudoestratificadas (Fig. 19-5B). As células progenitoras se dividem no lado apical do neuroepitélio, e as células diferenciadas, em seguida, passam para as camadas apropriadas. Seis principais classes celulares de neurônios e um tipo de célula glial são produzidos em uma ordem evolutiva conservada: as **células ganglionares**, os **cones fotorreceptores** e as **células horizontais** surgem primeiro; as **células amácrinas** e os **bastonetes fotorreceptores** surgem em seguida; e as **células bipolares** e a **glia de Müller** são as últimas a serem formadas. Os axônios das células ganglionares formam a **camada de fibras** definitiva que reveste a superfície interna da retina e seguem para o nervo óptico em desenvolvimento (Fig. 19-5B,C). Por volta da 16ª semana, o neurópilo em desenvolvimento (*i. e.*, a rede de processos neuronais dentro da parede da retina neural) torna-se organizado nas camadas plexiformes interna e externa entre as camadas nucleares (Fig. 19-5C). Todas as camadas de células da retina definitiva são aparentes no 8º mês.

A diferenciação celular progride em uma onda a partir da retina central para a periférica. A diferenciação macular ocorre por volta do 6º mês, quando as células precursoras do cone e várias fileiras de células ganglionares se acumulam na área central macular. Aos 7 meses, forma-se a depressão macular central ou **fóvea primitiva**. Por vários meses após o parto, a **fóvea central**, a região do olho com maior acuidade visual, contém apenas uma densa população de cones fotorreceptores. Esta região também é avascular, reduzindo a dispersão da luz no interior do olho.

Existem dois tipos de fotorreceptores: bastonetes e cones. Os bastonetes são necessários para a visão em condições de pouca luz; os cones funcionam na luz do dia e são necessários para a visão das cores. Existem três tipos de cones; cada um expressa pigmentos distintos e responde a um dos três diferentes comprimentos de onda. Os cones-S respondem aos comprimentos de onda curtos (azul-claro), os cones-M respondem aos comprimentos de onda médios (verde) e os cones-L respondem aos comprimentos de onda mais longos (vermelho). O **daltonismo** é devido à ausência de um ou mais tipos de cones. **Protanopia** é a falta dos cones-L, **deuteranopia** é a falta dos cones-M, e **tritanopia** é a falta dos cones-S. Os genes OPN1LW e OPN1MW codificam os fotopigmentos. O daltonismo ocorre frequentemente no sexo masculino (> 2%), uma vez que estes genes estão localizados no cromossoma X. A acromatopsia (monocromatismo do bastonete, resultando na cegueira total das cores) pode ser causada por mutações em CNGA3, CNGB3, e GNAT2.

No Laboratório de Pesquisa

Padronização do olho

Conforme o cálice óptico se forma, ele se diferencia no epitélio pigmentado, na retina neural e no pedúnculo óptico ([Fig. 19-6](#); [Fig. 19-3F](#)). Estas regiões distintas são caracterizadas pela expressão diferencial dos fatores de transcrição necessários para sua diferenciação ([Fig. 19-6](#)). A retina neural expressa Vsx2 (anteriormente denominado Chx10), Pax6, Six6, e Rax; o epitélio pigmentado expressa Mitf e Otx2; e o pedúnculo óptico expressa Pax2 ([Fig. 19-6C](#)). Inicialmente, todas as células do cálice óptico são igualmente capazes de originar as diferentes regiões do olho; a diferenciação subsequente é induzida pelos tecidos adjacentes ([Fig. 19-6C](#)). A sinalização da superfície do ectoderma, possivelmente mediada por Fgfs, induz a formação específica da retina neural (p. ex, induz a expressão Vsx2), enquanto a sinalização a partir do mesênquima extraocular, como o membro da família Tgf β activina A, especifica o epitélio pigmentado (ou seja, induz a expressão de Mitf). A sinalização Shh a partir dos tecidos da linha média induz a formação do pedúnculo óptico (ou seja, induz a expressão Pax2). Na ausência desses sinais, o olho não irá se diferenciar apropriadamente. Por exemplo, se o ectoderma (a fonte de Fgfs) for removido, a retina neural se desenvolverá como epitélio pigmentado. O limite posterior entre o pedúnculo óptico e a retina neural é mantido por meio de interações antagonistas entre Pax2 e Pax6, que inibem a expressão um do outro. Do mesmo modo, o limite entre a retina neural e o epitélio pigmentado é mantido por interações de antagonismo entre o Vsx2 e os fatores de transcrição de Mitf. A retina neural também é padronizada ao longo dos eixos dorsoventral e nasotemporal, e essa padronização orienta a migração axonal adequada ([Cap. 9](#)). Assim como no caso do tubo neural ([Cap. 4](#)), o Shh e o Bmps são dois dos sinais que especificam o eixo ventral e o eixo dorsal, respectivamente.

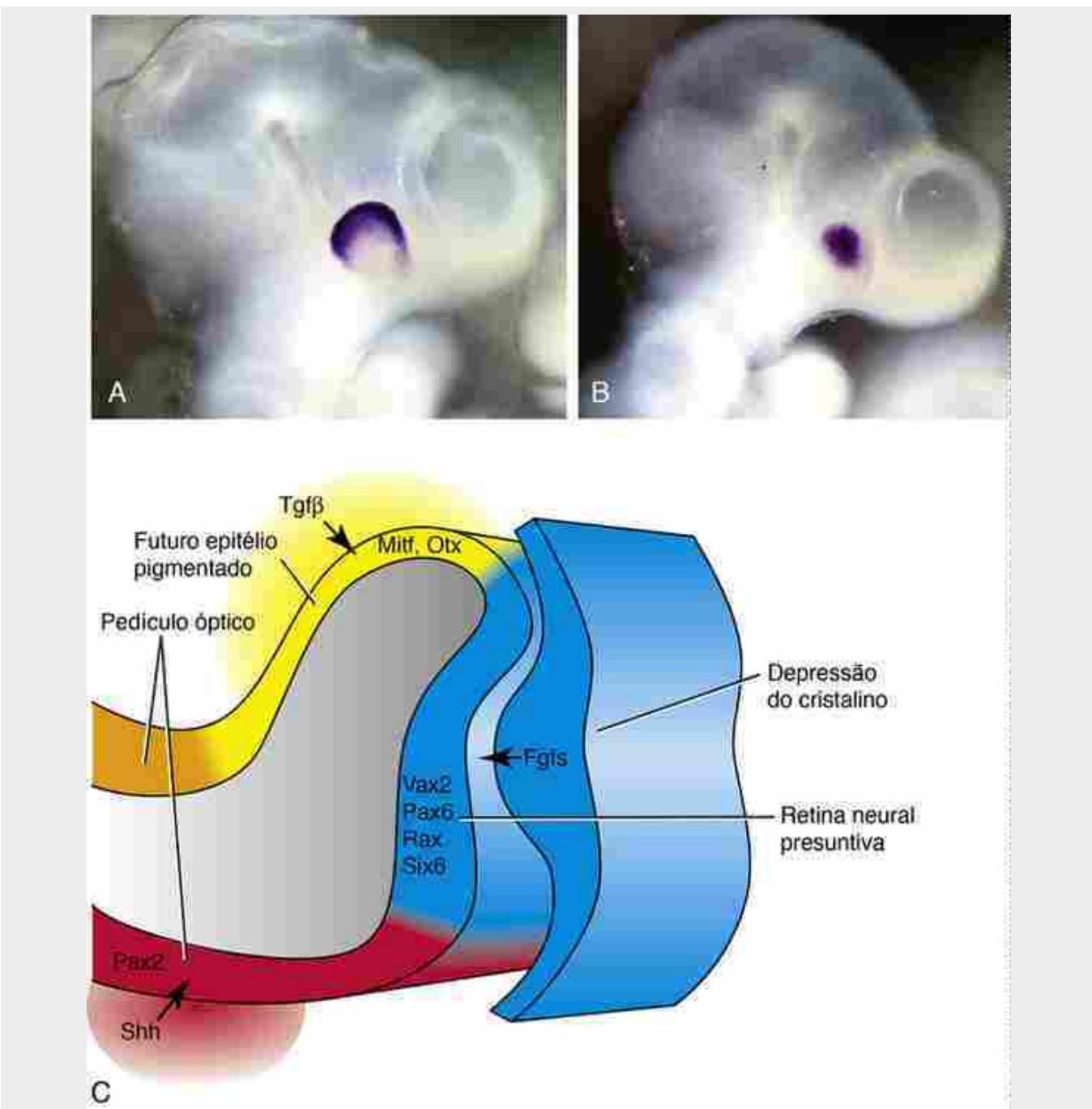


FIGURA 19-6 Expressão gênica no cálice óptico do camundongo. A, O fator de transcrição bHLH *Mitf* é expresso no epitélio pigmentado. B, O fator de transcrição homeobox *Vsx2* é expresso na retina neural. C, A expressão de fatores de transcrição em diferentes regiões do cálice e pedículo ópticos é regulada pela sinalização do fator de crescimento (setas) a partir dos tecidos adjacentes.

Diferenciação do epitélio pigmentado

Os fatores de transcrição *Mitf* e *Otx2* são necessários para a especificação do epitélio pigmentado no cálice óptico. Ambos os genes têm demonstrado ativar genes melanogênicos como *Trp1e* tirozinase. O *Mitf* é expresso especificamente no epitélio pigmentado (Fig. 19-6A). Em camundongos *Mitf* e *Otx1/2* mutantes, o epitélio pigmentado é especificado para formar uma retina neural ectópica. Os sinais provenientes do EPR são necessários para o crescimento do olho, a diferenciação dos fotorreceptores e a lamination da retina. Portanto, a perda do EPR resulta também em microftalmia.

Regulação da proliferação e diferenciação das células progenitoras da retina

Vários sinais que regulam a proliferação das células progenitoras da retina foram identificados. Por exemplo, o fator de transcrição homeobox *Vsx2* é especificamente expresso na retina neural (Fig. 19-6B) e é necessário para a proliferação da retina. Este efeito é mediado pelos reguladores do ciclo celular (cyclina D1, p27). Outros fatores que

controlam a proliferação são: sinalização Notch-delta, Fgf, Igf, Wnt2b, Hes1, Hdac (histona deacetilase), Rax e *sonic hedgehog*.

Estudos de linhagem têm demonstrado que as células da retina neural são multipotentes e, em alguns casos, podem dar origem a todos os tipos de células. No entanto, em qualquer momento, a competência dos progenitores é geralmente restrita a poucos tipos de células. Por exemplo, os progenitores iniciais predominantemente produzem células ganglionares, enquanto os progenitores “mais velhos” geram principalmente os bastonetes fotorreceptores. Essa competência restrita não é determinada por sinais ambientais e reflete um comportamento intrínseco dos progenitores neurais. Caso progenitores “mais velhos” sejam colocados em um ambiente “mais jovem”, eles se diferenciam de acordo com o seu destino original.

A diferenciação começa centralmente na fóvea e é induzida por sinais Fgf do pedículo óptico. Subsequentemente, uma onda de expressão Fgf induz a diferenciação na periferia. O equilíbrio entre a proliferação e a diferenciação neuronal é controlado por vários fatores de transcrição básicos hélice-alfa-hélice (bHLH). Hes1 e 5, componentes da via de sinalização notch, funcionam mantendo a proliferação. Portanto, a atividade de sinalização de notch favorece a produção das células da glia de Müller não neuronais (normalmente as últimas a serem formadas). A expressão de Hes1 é induzida pela sinalização Shh. Em contraste, outros fatores bHLH, como Mash1, Ngn2 e Math5, são necessários para a diferenciação dos tipos de células neuronais. O Math5 é necessário para o desenvolvimento das células ganglionares, o Mash1 juntamente com Math3 é necessário para o desenvolvimento das células bipolares. Por outro lado, NeuroD juntamente com Math3 é necessário para a formação das células amácrinas. A perda de um tipo celular (p. ex., perda de células ganglionares no mutante Math5) é acompanhada por um aumento em outro tipo celular (neste caso, amácrinas e células cone). A diferenciação também é controlada por genes homeobox. O Pax6 é necessário para a multipotência. Portanto, na ausência de Pax6, muitos dos derivados neuronais são afetados, e apenas um tipo celular é gerado (células amácrinas). Em contraste, o gene homeobox Vsx2 é necessário para o desenvolvimento das células bipolares, enquanto em mutantes Prox1 as células horizontais não são formadas. Embora os genes específicos sejam necessários para o desenvolvimento de vários subtipos neuronais, mutações de ganho de função não resultam necessariamente no efeito inverso. Além disso, a expressão de um gene particular (p. ex., Math5) não necessariamente obriga a célula progenitora a originar uma determinada linhagem celular (p. ex., neste caso, as células ganglionares). É possível que a combinação do gene homeobox e a expressão do gene bHLH determinem o destino das células progenitoras.

Após a diferenciação, os mecanismos autorreguladores controlam o número de cada tipo de célula neuronal. Caso as células amácrinas sejam removidas de sapos ou peixes-zebra, elas serão substituídas por novas células amácrinas a partir de progenitores da retina. Do mesmo modo, o número de células ganglionares da retina (CGRs) parece ser regulado por esses mecanismos de autorregulação. As CGRs expressam o Shh após sua diferenciação, e a perda da função de Shh aumenta o número de CGRs. Acredita-se que níveis elevados de Shh, por exemplo, como produzidas por várias CGRs, irão inibir a diferenciação das CGRs, favorecendo o desenvolvimento de outros tipos de células. Assim, o desenvolvimento de um tipo de célula (uma das CGRs neste exemplo) vai promover a diferenciação do próximo tipo celular (cone, neste exemplo).

Desenvolvimento do nervo óptico

As fibras nervosas que emergem a partir das células ganglionares da retina na 6^a semana viajam ao longo da parede interna do pedículo óptico para chegar ao cérebro. O lúmen do pedículo é gradualmente eliminado pelo crescimento dessas fibras, e por volta da 8^a semana, o pedículo óptico oco é transformado no sólido nervo óptico (II nervo craniano). Pouco antes dos dois nervos ópticos entrarem no cérebro, eles se unem para formar uma estrutura em forma de X denominada quiasma óptico. Dentro do quiasma, cerca de metade das fibras de cada nervo óptico atravessam para o lado contralateral (oposto) do cérebro. O conjunto combinado resultante de fibras ipsilaterais e contralaterais de cada lado, em seguida, cresce de volta para a lateral do corpo geniculado do tálamo ([Cap. 9](#)), onde as fibras fazem sinapses, começando na 8^a semana. Mais de 1 milhão de fibras nervosas crescem a partir de cada retina para o cérebro. O mecanismo de orientação axonal que permite que cada um desses axônios mapeie para o ponto correto no corpo geniculado lateral é descrito no [Capítulo 9](#). Os astrócitos ao redor do nervo óptico surgem a partir da camada interna do pedículo óptico, que é de origem neuroectodérmica. Os oligodendrócitos entram no nervo na altura do quiasma a partir do cérebro. A mielinização do nervo óptico começa no quiasma em torno dos 7 meses e continua em direção ao olho.

Vascularização do cálice óptico e cristalino

Há duas fontes de vascularização para os olhos: a camada **coroide** em torno do olho (próxima seção deste capítulo) e a **artéria hialóidea** transitória. A artéria hialóidea se desenvolve a partir de um ramo da artéria oftalmica e ganha acesso para o espaço lentirretinal através da fissura óptica na superfície ventral do pedículo óptico. A artéria hialóidea

vasculariza a retina em desenvolvimento e também vasculariza inicialmente a vesícula do cristalino (Fig. 19-2). Os ramos da artéria hialóidea estendem-se sobre o cristalino e são conhecidos como **túnica vasculosa lente**. Os lábios da fissura óptica se fundem pelo 37º dia, encerrando a artéria hialóidea e sua veia complementar em um canal dentro da parede ventral do pedículo óptico (Fig. 19-2B, C). A vasculatura hialóidea está maximamente desenvolvida por volta da 10ª semana gestacional. Quando o cristalino amadurece durante a vida fetal e deixa de precisar de um fornecimento sanguíneo, a porção da artéria hialóidea que atravessa corpo vítreo, degenera e é removida por macrófagos (final do quarto mês; Fig. 19-7D). No entanto, mesmo em adultos, o curso desta antiga artéria é marcado por um canal através do corpo vítreo denominado **canal hialóideo**. A porção proximal da artéria hialóidea torna-se a **artéria central da retina**, que fornece sangue à retina. A vascularização da retina começa conforme a artéria hialóidea regredisse e é predominante durante o último trimestre. A formação deste plexo vascular começa na cabeça óptica e se estende para a periferia acompanhando a onda de diferenciação neuronal.

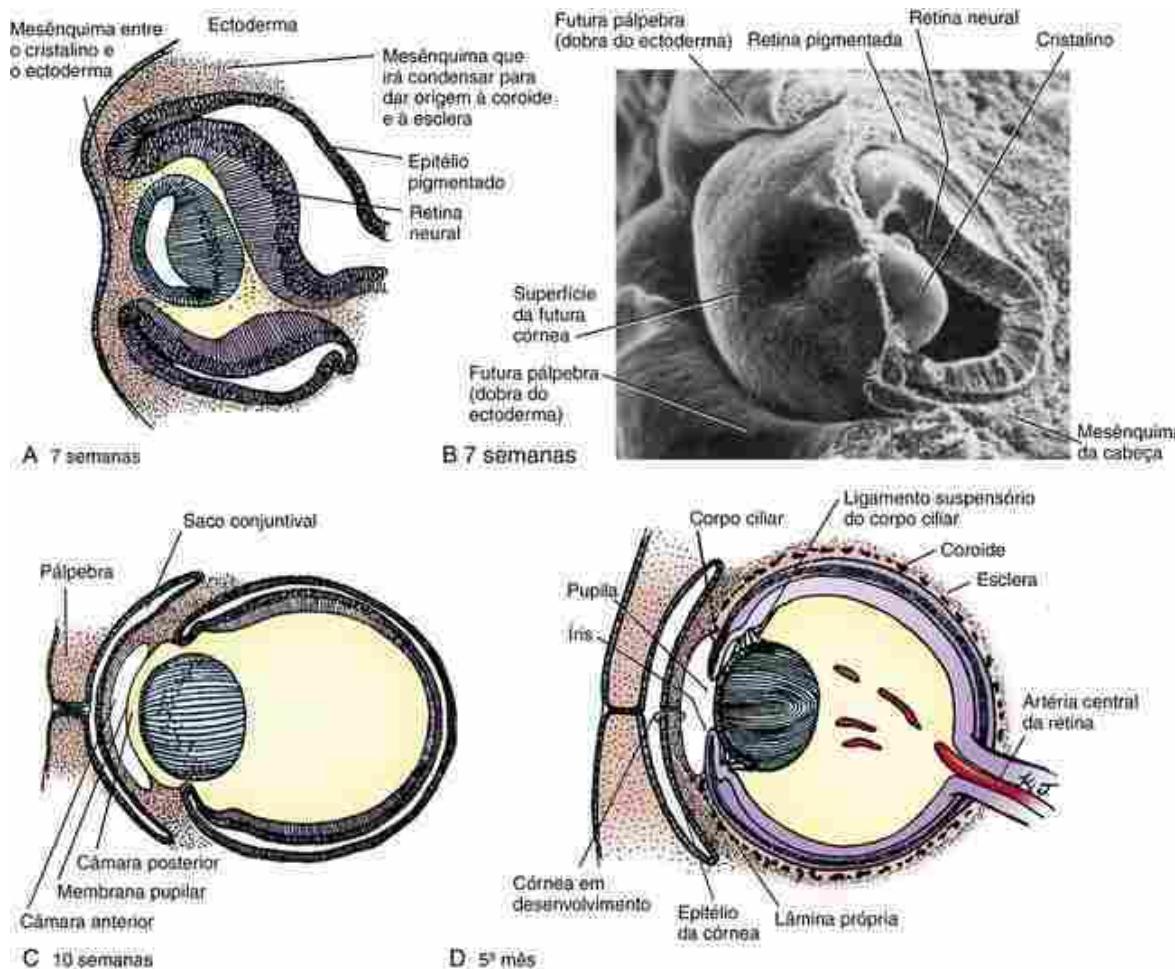


FIGURA 19-7 Desenvolvimento das câmaras anterior e posterior, pálpebras e revestimento do globo ocular. A, O mesênquima circunda o olho em desenvolvimento (globo ocular) entre a 5ª e a 7ª semana para formar a coroide e a esclera. B, Eletromicrografia de varredura mostrando que na 7ª semana as pálpebras começam a se formar. C, D, A vacuolização dentro do mesênquima anterior na 7ª semana constitui a câmara anterior. Pouco tempo depois, a vacuolização na camada de mesênquima imediatamente anterior ao cristalino forma a câmara posterior. A membrana pupilar, que inicialmente separa as câmaras anterior e posterior, se rompe no início da vida fetal. A extensão da borda do cállice óptico dá origem ao corpo ciliar e a parte da íris. As pálpebras superior e inferior se formam como dobras da superfície do ectoderma. Elas se fundem no final da 8ª semana e se separam novamente entre o 5º e o 7º mês.

Desenvolvimento da coroide, esclera e câmara anterior

Durante a 6ª e 7ª semanas, a cápsula mesenquimal que circunda o cállice óptico se diferencia em duas camadas: uma camada interna, pigmentada, vascular, denominada **coroide**, e uma camada externa, fibrosa, chamada **esclera** (Fig. 19-7A, D). A camada coroide tem origem homóloga às membranas que revestem o cérebro, a pia-máter e a aracnoide (as leptomeninges), e a esclera é homóloga à dura-máter. A coroide é pigmentada e se desenvolve a partir do mesênquima derivado de células da crista neural (células do estroma, melanócitos, e pericitos) e do mesoderma

(células endoteliais). Os vasos/espaços sanguíneos primitivos dão origem aos coriocapilares embrionários (*i. e.*, os capilares que formam a camada interna vascular da coroide) por volta dos 2 meses de gestação e fornece sangue para o epitélio da retina e fotorreceptores.

A forte esclera suporta e protege as delicadas estruturas internas do olho. A esclera anterior começa como uma condensação de tecido mesenquimal que é contínua à córnea. Por volta da 12^a semana, a condensação mesenquimal atinge o nervo óptico.

Desenvolvimento da córnea

No final da 6^a semana, o mesênquima em torno do cálice óptico invade a região entre o cristalino e a superfície do ectoderma, formando assim uma camada completa de mesênquima ao redor do cálice óptico (Fig. 19-7A). O mesênquima diretamente subjacente à superfície do ectoderma se diferencia em um fino epitélio interno denominado **endotélio da córnea**. A superfície do ectoderma sobrejacente se diferencia em um fino epitélio exterior chamado **epitélio da córnea ou anterior**. Uma **camada acelular pós-epitelial** ou **estroma** se forma entre o epitélio e o endotélio da córnea, e por volta da 8^a semana essas camadas já estão aparentes. O estroma é constituído por uma matriz de fibras de colágeno, ácido hialurônico (que se liga à água, fazendo com que a matriz aumente de volume) e glicosaminoglicanos. As células mesenquimais rapidamente invadem o estroma e o convertem em uma **camada de estroma celular (lâmina própria)**. A hialuronidase remove o ácido hialurônico, reduzindo o volume da matriz. A tiroxina (da glândula tireoide) também induz a desidratação do estroma, e a córnea transparente é formada. Recentes estudos sobre mapeamento de destino têm mostrado que tanto as células da crista neural quanto do mesoderma da cabeça contribuem para a formação das camadas do endotélio e do estroma da córnea, em conjunto com a rede trabecular. Assim, a córnea tem três origens teciduais: as células da crista neural e mesodérmicas formam o mesotélio e a lâmina própria, ao passo que o epitélio exterior da córnea é derivado da superfície do ectoderma sobrejacente.

Desenvolvimento da membrana pupilar

Na 9^a semana, o mesênquima que recobre o cristalino se divide em duas camadas que encerram uma nova cavidade chamada **câmara anterior do olho** (Fig. 19-7C). A parede anterior (superficial) desta câmara é contínua à esclera, e a parede posterior (profunda) é contínua à coroide. A espessa parede posterior da câmara anterior repousa diretamente contra o cristalino. As camadas mais profundas desta parede se decompõem subsequentemente por um processo de vacuolização para criar um novo espaço, a **câmara posterior**, entre o cristalino e a fina camada restante da parede (Fig. 19-7C). Esta fina camada remanescente, denominada **membrana pupilar**, regride no início do período fetal (entre o 6^o e o 8^o mês), de modo a formar a abertura chamada **pupila**, através da qual as câmaras anterior e posterior se comunicam. Em raras ocasiões, a membrana pupilar não rompe completamente, deixando fios que atravessam a pupila. A câmara posterior finalmente se expande para sustentar a íris e parte do corpo ciliar (discutido no parágrafo seguinte).

Desenvolvimento da íris e do corpo ciliar

No final do 3^o mês, a borda anterior do cálice óptico se expande para formar um fino anel que se projeta entre as câmaras anterior e posterior e se sobrepõe ao cristalino. Este anel se diferencia na **íris** do olho (Fig. 19-7D). O estroma da íris se desenvolve a partir do tecido mesenquimal tanto de células da crista neural quanto de origem mesodérmica. O epitélio posterior da íris e os feixes de musculatura lisa circunferencialmente arranjados dos **músculos pupilares (esfínter da pupila e dilatador da pupila)** na íris se originam a partir do neuroepitélio do cálice óptico. Esses músculos atuam como um diafragma, controlando o diâmetro da pupila e, portanto, a quantidade de luz que entra no olho.

Logo após a íris em desenvolvimento, o cálice óptico se diferencia e se dobra para formar o **corpo ciliar** (Fig. 19-7D). O cristalino está suspenso a partir do corpo ciliar por uma rede radial de fibras elásticas chamadas **ligamento suspensor** do cristalino (zônulas do cristalino). Ao redor das inserções destas fibras, o epitélio do cálice óptico do corpo ciliar prolifera para formar um anel, altamente vascularizado, uma delicada estrutura especializada em secretar o humor aquoso do olho. As células mesenquimais que invadem a coroide do corpo ciliar diferenciam-se para formar os feixes de musculatura lisa do **músculo ciliar**, o qual controla a forma e, por conseguinte, o poder de foco (acomodação) do cristalino. A contração deste músculo reduz o diâmetro do anel ciliar, a partir do qual o cristalino está suspenso, permitindo assim que o cristalino relaxe para a sua forma esférica natural e proporcionando a maior potência de foco, necessário para a visão de perto.

Desenvolvimento das pálpebras

Na 6^a semana, pequenas dobras da superfície do ectoderma, com um núcleo mesenquimal, surgem cranial e

caudalmente à córnea em desenvolvimento ([Fig. 19-7B](#)). As pálpebras primordiais superior (processo frontonasal) e inferior (processo maxilar) crescem rapidamente em direção uma à outra, encontrando-se e fusionando-se na 8^a semana. O espaço entre as pálpebras fusionadas e a córnea é denominado **saco conjuntival**. As pálpebras se separam novamente entre o 5º e o 7º mês. Os músculos da pálpebra (orbicular e elevador) são derivados do mesoderma.

As **glândulas lacrimais** se formam a partir de invaginações do ectoderma nos ângulos superolaterais dos sacos conjuntivais, mas não amadurecem até cerca de 6 semanas após o nascimento. O líquido lacrimal produzido pelas glândulas é excretado dentro do saco conjuntival, onde lubrifica a córnea. O excesso de líquido lacrimal é drenado através do **ducto nasolacrimal** ([Cap. 17](#)) para dentro da cavidade nasal.

Na Clínica

Anormalidades do olho

Os defeitos oculares congênitos podem surgir em qualquer etapa da morfogênese e diferenciação do olho. A extensão dos defeitos depende do momento da lesão embriológica. As malformações oculares podem ser generalizadas ou podem afetar regiões específicas ou tipos específicos de células. Os defeitos oculares podem ser isolados, mas são frequentemente parte de outras síndromes genéticas. Devido à estreita relação entre o olho e o desenvolvimento do cérebro, as malformações do olho frequentemente sugerem a existência de anomalias subjacentes no cérebro.

As anormalidades que ocorrem nos primeiros estágios de desenvolvimento do olho podem interromper a formação do campo óptico, como no caso da **anoftalmia**, na qual os olhos estão ausentes. Os defeitos ocorridos em fases posteriores do desenvolvimento podem resultar em olhos pequenos (**microftalmia**) ou anomalias de inúmeras estruturas do olho. Por exemplo, um **coloboma** ocorre quando a fissura óptica não se fecha corretamente, deixando um espaço nas estruturas oculares. Um coloboma completo se estende ao longo de todo o olho (do nervo óptico até a íris), ao passo que pode ocorrer um coloboma mais localizado, como o que ocorre no coloboma da íris ([Fig. 19-8](#)). A anoftalmia/microftalmia pode ser causada por mutações em genes que atuam em vários estágios de desenvolvimento do olho, incluindo OTX2, BMP4, VSX2, e RAX, enquanto o coloboma pode ser causado por mutações no PAX2 (que é expresso no pedículo óptico, como discutido anteriormente no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Padronização de Olho”). A causa genética mais comum de anoftalmia/microftalmia é a haploinsuficiência do fator de transcrição SOX2. A análise de camundongos mutantes para Sox2 mostrou que este regula a expressão notch; necessária para a proliferação e diferenciação de cálice óptico.

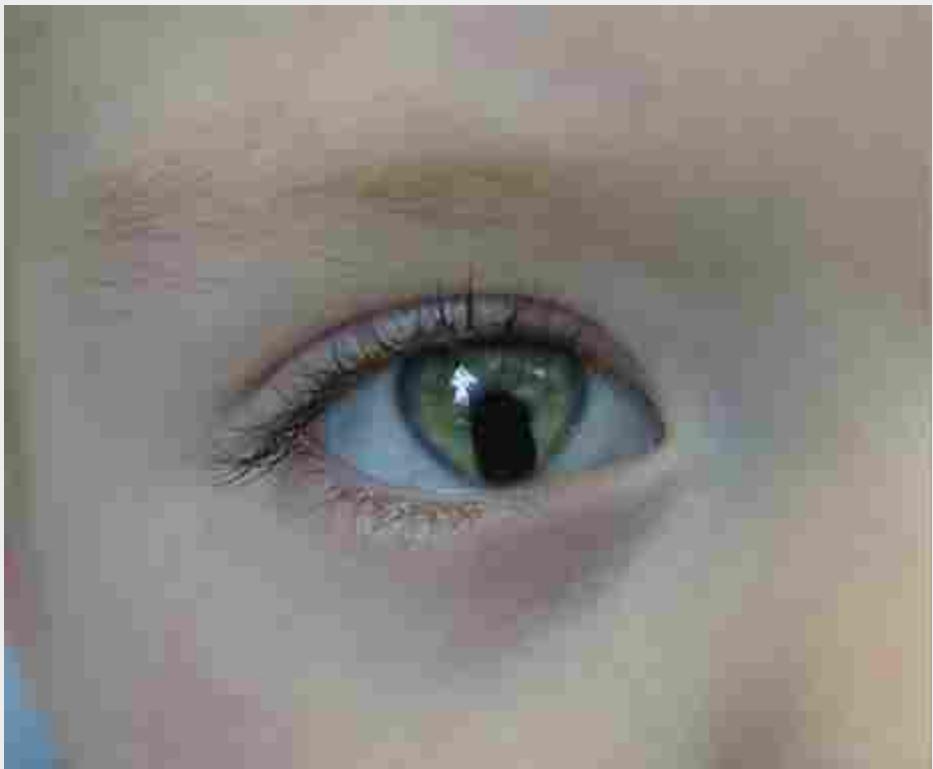


FIGURA 19-8 Coloboma da íris.

Vários defeitos da parte anterior do olho podem ocorrer. As anomalias das estruturas oculares mais anteriores, pálpebras e esclera, são comuns. Podem ocorrer muitos tipos de anomalias da pálpebra. Dobras da pele que cobre o canto interno do olho (isto é, *canthus*), **dobras epicantais**, são traços característicos da **síndrome de Down**, mas elas também podem ser encontradas normalmente em diversos grupos étnicos. A fissura que separa as pálpebras superior e inferior (*i.e.*, a fissura palpebral) pode não se formar adequadamente, resultando na fusão das pálpebras. Na **criptoftalmia** a fusão é completa, enquanto na **blefarofimose** as pálpebras estão parcialmente fusionadas. Outras anomalias das pálpebras incluem ptose palpebral (pálpebras caídas) e **epicanto inverso** (dobras curvadas para baixo e lateralmente a partir do canto interno do olho). O crescimento tumoral da esclera, denominado **dermoide epibulbar**, é um dos achados básicos na **síndrome de Goldenhar** (parte do **espectro EOAV** discutido no início do capítulo e no [Cap. 17](#)). A telangiectasia ocular (dilatação permanente dos capilares da esclera) pode ser observada na ataxia-telangiectasia (também mencionada no [Cap. 9](#)) e está associada à degeneração cerebelar (resultando em ataxia) e imunodeficiência.

A **disgenesia do segmento ocular anterior (ASOD)** envolve defeitos da córnea, íris, cristalino e corpo ciliar. Ele pode afetar a visão e aumentar o risco de glaucoma de alta tensão, devido a alterações no canal de Schlemm e trabéculas que drenam o fluido aquoso. Defeitos específicos incluem hipoplasia da íris ou ruptura (**corectopia**), opacidade da córnea (**leucoma**), pupilas ectópicas (**policoria**), adesão entre o cristalino ou a íris e a córnea e **esclerocórnea** (escleralização periférica da córnea). Esses defeitos são etiologicamente relacionados, causados por uma sobreposição de genes (o resultado, *p. ex.*, de mutações nos fatores de transcrição FOXC1, FOXE3, PITX2, e PAX6). As mutações no gene PAX6 podem especificamente resultar em **aniridia** (ausência da íris, como na **associação de WAGR**—tumor de Wilms, aniridia, anomalias genitourinárias, retardo mental), ou defeitos oculares mais generalizados que afetam a córnea, cristalino, retina e nervo óptico, refletindo o seu papel no início da especificação do campo ocular. A persistência da **membrana pupilar** pode ocorrer como parte das anomalias mencionadas anteriormente ou podem ocorrer como um defeito isolado. A existência de nódulos na íris, denominados **nódulos de Lisch**, pode ser uma evidência para o diagnóstico de neurofibromatose tipo 1 ([Cap. 10](#)).

A **catarata congênita** (opacidade do cristalino) pode ser resultado de fatores genéticos ou ambientais. Os fatores genéticos envolvem um grande número de mutações em diversos genes que variam a partir de componentes estruturais do cristalino, como mutações no CRYSTALLIN ou nas proteínas de junções *gap*, para fatores de transcrição como MAF ou HEAT SHOCK TRANSCRIPTION FACTOR 4 (HSF4). As cataratas também podem se desenvolver como resultado de distúrbios metabólicos, como a **galactosemia** (um defeito no metabolismo da galactose), ou a partir de infecções congênitas, como a **rubéola**.

O **estrabismo**, ou desalininhamento dos olhos, pode ser causado por anormalidades nos músculos extraoculares ou em suas inervações. A **anomalia de Duane** é uma causa rara de estrabismo caracterizada pela adução/abdução

anormal, estreitando da fissura do olho, e retração do globo ocular com adução; ela é causada pelo desenvolvimento anormal do **nervo abducente** (VI nervo craniano), que inerva o músculo **reto lateral** do olho. A anomalia de Duane, acompanhada por anormalidades das mãos e/ou rins, é causada por mutações no gene que codifica o fator de transcrição SAL4. Caso não seja tratada, o estrabismo pode levar à **ambliopia**, perda permanente da visão resultante de alterações no córtex visual. A lesão no músculo reto lateral e/ou sua inervação (nervo abducente), por vezes, é resultado de partos auxiliados por fórceps. Esta lesão geralmente é autolimitante e desaparece algumas semanas após o nascimento.

Os defeitos da **retina** são comuns. A **retinite pigmentosa** afeta 1 em 4.000 em todo o mundo e é causada por defeitos dos fotorreceptores ou do RPE, que é necessário para a sobrevivência dos fotorreceptores. A retinite pigmentosa pode ser causada por mutações em mais de quarenta genes, incluindo RHODOPSIN e RPE65, a enzima que converte retinaldeído 11-cis para a sua forma totalmente *trans* logo após a ativação do fotorreceptor. Crucialmente, os fotorreceptores, por vezes, morrem e não podem regenerar. Portanto, as células estaminais são utilizadas para fornecer fatores neurotróficos para permitir a sobrevivência dos fotorreceptores ou para substituir os fotorreceptores danificados. O olho é particularmente sensível a essas abordagens, assim como as células podem ser enxertadas no espaço intrarretiniano. Um trabalho recente mostrou que os progenitores do pedículo derivadas de células-tronco embrionárias (TE) podem integrar e diferenciar adequadamente, resgatando a visão prejudicada em modelos murinos e em ensaios clínicos humanos. Também tem sido demonstrado que, com a adição dos fatores de correção, as células-tronco embrionárias (TE) humanas e de camundongos dissociadas podem ser induzidas a formar um cálice óptico completo com o arranjo laminado da retina neural, o que mostra que é possível recapitular tanto a diferenciação quanto a morfogênese *in vitro*. Dentro dos olhos, as células estaminais são encontradas no corpo ciliar e no limbo na junção do epitélio da córnea e conjuntiva. A glia de Müller pode entrar novamente no ciclo celular em resposta ao dano. As abordagens de terapia genética também estão sendo utilizadas. Por exemplo, a entrega adenoviral de RPE65 tem se mostrado benéfica clinicamente em cães e seres humanos.

A sinalização Wnt desempenha um papel importante no desenvolvimento do olho, incluindo o desenvolvimento da retina. A doença de **Norrie**, caracterizada por **displasia retinal** e vascularização anormal (e perda auditiva neurosensorial), surge de mutações em uma nova ligação da via WNT, NORRIN. Além disso, as mutações no RECEPTOR FRIZZLED4 de WNT (e NORRIN) causam **vitreoretinopatia exsudativa familiar**, outra síndrome caracterizada em parte pela vascularização incompleta da retina (os vasos sanguíneos da retina não atingem a periferia da retina). A vascularização anormal também ocorre na **síndrome da osteoporose-pseudoglioma**, que é o resultado de uma mutação no correceptor LRP5 de WNT. Entretanto, neste caso, a artéria hialoide persiste, em vez de regredir, como acontece normalmente, aumentando o risco de descolamento da retina.

A retina tem um dos mais altos requerimentos de oxigênio do corpo, utilizando mais oxigênio/unidade de peso do que qualquer outro tecido. Portanto, o olho é extremamente sensível aos defeitos de vascularização. Durante o desenvolvimento, a angiogênese é controlada por regiões locais de hipoxia geradas pelas células recentemente diferenciadas da retina. A hipoxia induz os astrócitos e células de Müller a expressar o fator angiogênico Vegf, promovendo maior vascularização. Aumentos nos níveis de oxigênio (p. ex., durante o suporte de oxigênio para bebês prematuros) impedem a angiogênese. A neovascularização que se segue a partir disso pode causar hemorragia e fibrose, uma condição conhecida como **retinopatia de prematuridade**, que é uma das principais causas de cegueira infantil.

A **hipoplasia do nervo óptico** ocorre em uma grande variedade de síndromes. Na **displasia septo-óptica** (também chamada **síndrome de De Morsier**), que pode ser causada por mutações no gene HESX1, ocorre a hipoplasia do nervo óptico em conjunto com a hipoplasia pituitária e anormalidades da linha média do cérebro. Crianças com esta síndrome são baixas como resultado da deficiência do hormônio de crescimento. Algumas formas de hipoplasia do nervo óptico são segmentares, e na **hipoplasia segmentar superior do nervo óptico** existem defeitos visuais inferiores. Isso às vezes pode ocorrer em crianças nascidas de mães diabéticas.

Embriologia na Prática

Nascido prematuramente

Após mais de 3 meses de terapia intensiva, um bebê prematuro de 25 semanas está se aproximando da alta da unidade de terapia intensiva neonatal (UTIN). Os pais desta menina, que está agora com a idade ajustada para 37 semanas de gestação (aproximando-se do termo), reviram suas questões médicas e futuras necessidades de cuidados com a equipe.

Ela pesava cerca de 0,5 kg ao nascimento e ganhou quase 1,8 kg ao longo de 3 meses. Ela tinha experimentado os efeitos de vários problemas médicos, incluindo hipoglicemia, anemia, icterícia, sepse, doença pulmonar crônica e

hemorragia intraventricular (cerebral). O acompanhamento para essas questões médicas envolverá uma lista de prestadores de cuidados especializados.

Na lista de consultas de acompanhamento está a visita a um oftalmologista. A equipe reviu com os pais o que tem sido uma preocupação constante: o grau da perda visual que sua filha terá devido aos problemas com os vasos sanguíneos em suas retinas.

A vasculatura da retina começa o desenvolvimento aos 3 meses e continua até o nascimento. Este desenvolvimento pode ser interrompido pelo nascimento prematuro ou influenciado por fatores nos cuidados subsequentes destes prematuros, resultando em um processo de doença chamada **retinopatia da prematuridade** (ROP).

Exemplo de um fator que pode afetar o aparecimento da ROP é a concentração de oxigênio usada para ventilar crianças com doença pulmonar crônica. A preocupação de que o uso excessivo de oxigênio possa piorar a hiperproliferação de vasos da retina tem levado a um controle mais rigoroso das concentrações de oxigênio, mas o efeito da concentração de oxigênio na incidência de ROP não está totalmente esclarecido.

A ROP é ainda um problema com o sub ou supercrescimento dos vasos e com a hemorragia da retina. Apesar da melhoria constante na sobrevivência dos recém-nascidos prematuros, as taxas de problemas relacionados à saúde e às incapacidades, especialmente para os prematuros nascidos antes de 26 semanas de gestação, têm sido inconsistentemente estáveis.

Esta paciente apresentava múltiplos fatores de risco para a ROP e foi descoberto durante a triagem oftalmologia na UTIN que tinha ROP fase 3, bilateral. Ela foi submetida à cirurgia a *laser* na UTIN para retirar a porção periférica das retinas. Os planos de acompanhamento da paciente, com a possível necessidade de retratamento, frequentemente são revistos. Seus pais estão convencidos de que, embora haja um risco de algum impacto em sua visão, apenas uma pequena minoria de pacientes com ROP de terceiro estágio passa a ter deficiência visual grave ou cegueira.

Leituras sugeridas

- Andreazzoli, M. Molecular regulation of vertebrate retina cell fate. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2009; 87:284–295.
- Davis-Silberman, N., Ashery-Padan, R. Iris development in vertebrates; genetic and molecular considerations. *Brain Res*. 2008; 1192:17–28.
- Fuhrmann, S. Eye morphogenesis and patterning of the optic vesicle. *Curr Top Dev Biol*. 2010; 93:61–84.
- Graw, J. Mouse models of cataract. *J Genet*. 2009; 88:469–486.
- Sowden, J. C. Molecular and developmental mechanisms of anterior segment dysgenesis. *Eye (London)*. 2007; 21:1310–1318.
- Swaroop, A., Kim, D., Forrest, D. Transcriptional regulation of photoreceptor development and homeostasis in the mammalian retina. *Nat Rev Neurosci*. 2010; 11:563–576.
- Wallace, V. A. Concise review: making a retina—from the building blocks to clinical applications. *Stem Cells*. 2011; 29:412–417.

Desenvolvimento dos Membros

Resumo

Os **brotos dos membros** superiores aparecem no 24º dia como pequenas protuberâncias na parede lateral do corpo no nível de C5 a T1. Ao final da 4ª semana, os brotos dos membros superiores já cresceram para formar estruturas salientes a partir da parede do corpo e brotos dos membros inferiores surgem, formando-se no nível de L1 a S1. A morfogênese dos membros ocorre entre a 4ª e a 8ª semana, e o desenvolvimento dos membros inferiores ocorre ligeiramente depois do desenvolvimento dos membros superiores. Cada broto de membro consiste em um **centro mesenquimal** de mesoderma coberto por uma **capa epitelial** de ectoderma. Ao longo da margem distal do broto do membro, o ectoderma se espessa para formar a **crista ectodérmica apical**. Esta estrutura mantém o crescimento do broto do membro ao longo do **eixo proximodistal**.

No 33º dia, as **placas das mãos** são visíveis nas extremidades distais dos brotos dos membros superiores em alongamento, e os brotos dos membros inferiores já começaram a se alongar. Ao fim da 6ª semana, os segmentos dos membros superiores e inferiores já podem ser distinguidos. Os **raios digitais** aparecem nas placas das mãos durante a 6ª semana e nas placas dos pés durante a 7ª semana. Um **processo de morte celular programada** ocorre entre os raios, levando à separação dos dedos das mãos e dos pés. No final da 8ª semana, todos os componentes dos membros superiores e inferiores são distinguíveis.

Os **elementos esqueléticos** dos membros se desenvolvem por ossificação endocondral em uma sequência proximodistal a partir de condensações mesodérmicas, as quais aparecem pela primeira vez ao longo do eixo do broto do membro durante a 5ª semana. Os precursores cartilaginosos dos ossos dos membros começam a formação de cartilagem dentro dessa condensação mesenquimal, iniciando-se na 6ª semana. A ossificação desses precursores cartilaginosos acontece entre a 7ª e a 12ª semana.

Os ossos, tendões e outros tecidos conjuntivos dos membros surgem a partir do mesoderma da placa lateral, mas os músculos dos membros e as células endoteliais surgem a partir do mesoderma somítico e migram para os brotos dos membros. Em geral, os músculos que se formam sobre o lado ventral dos ossos longos em desenvolvimento tornam-se músculos flexores e pronadores dos membros superiores, e músculos flexores e adutores dos membros inferiores. Esses músculos são inervados por ramificações ventrais dos ramos ventrais primários dos nervos espinais. Os músculos que se formam sobre o lado dorsal dos ossos longos geralmente tornam-se músculos extensores e supinadores nos membros superiores, e músculos extensores e abdutores dos membros inferiores. Esses músculos são inervados por ramificações dorsais dos ramos ventrais primários. No entanto, alguns músculos dos membros mudam drasticamente sua posição durante o desenvolvimento, pelo crescimento diferencial ou pelo deslocamento passivo durante a rotação lateral dos membros superiores e rotação medial dos membros inferiores.

Caso Clínico

Freddie Musena M'tile (Musena significa amigo em queniano) nasceu em 2004, no Quênia, com uma condição denominada **tetramelia** (ausência de todos os quatro membros; [Fig. 20-1](#)). Crianças que nascem com anomalias são rechaçadas em algumas culturas, e a mãe biológica do Freddie lhe deu para adoção, temendo que seu marido pudesse matá-lo. Uma trabalhadora voluntária britânica e seu marido queniano adotaram Freddie e o levaram para o Reino Unido para tratamento. O caso recebeu notoriedade depois do visto britânico de Freddie ter sido negado por algum tempo. Com doações obtidas por meio da Thalidomide UK, dispositivos protéticos foram adaptados para ajudá-lo a sentar, com planos futuros para dar-lhe membros artificiais. Infelizmente, Freddie morreu de uma infecção fúngica após retornar para a África. Na época de sua morte, Freddie tornou-se um símbolo nacional no Quênia.

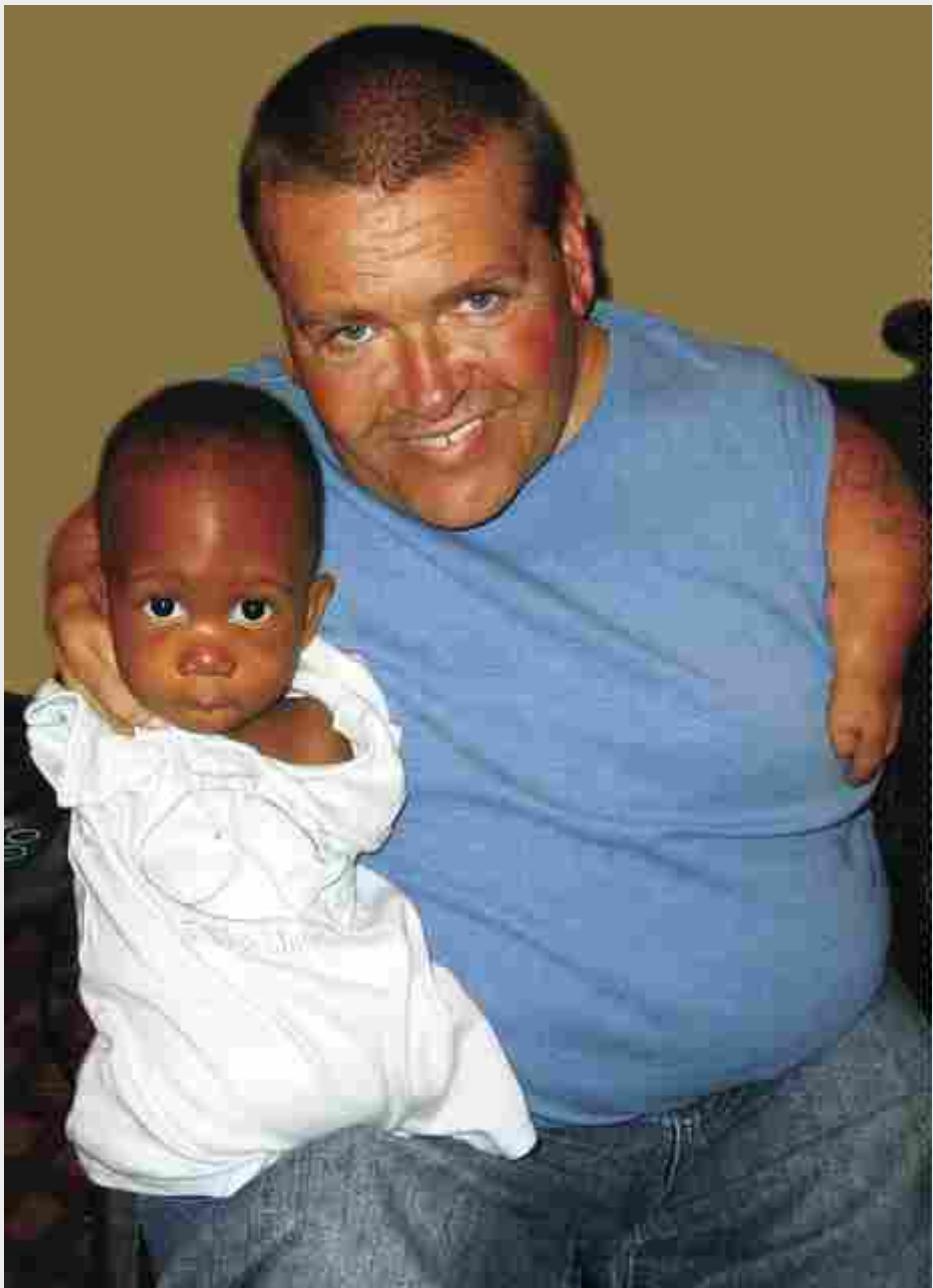


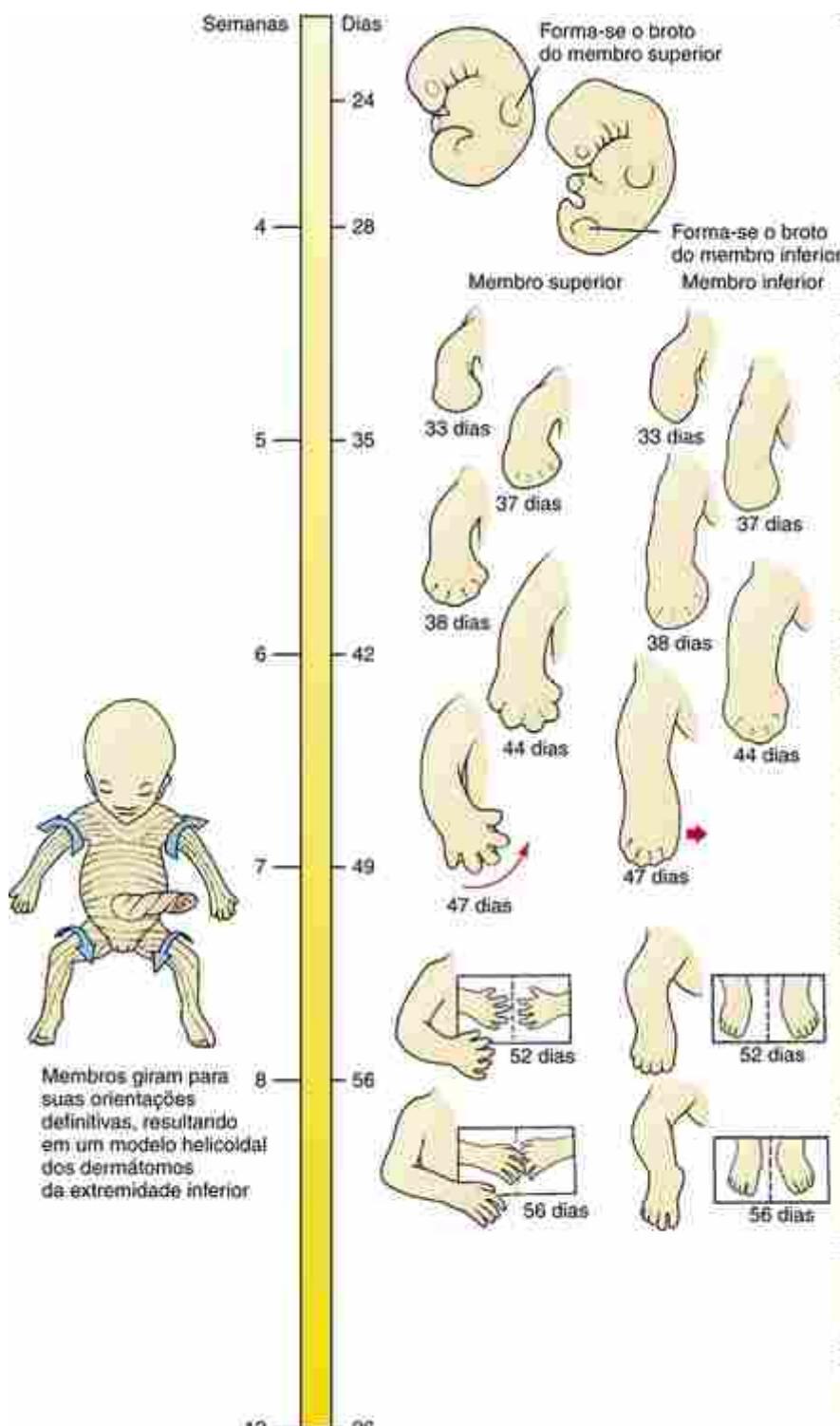
FIGURA 20-1 Freddie Musena M'tile encontra Freddie Astbury, um sobrevivente da primeira epidemia de talidomida e presidente da Thalidomide UK. Freddie Musena M'tile nasceu no Quênia com tetramelia.

Embora a causa das anomalias congênitas de Freddie não seja certa, sua mãe biológica tomou um medicamento durante a gestação que se acredita ter sido **talidomida**. Uma vez banido, depois de causar cerca de 12.000 casos de defeitos nos membros, como os de Freddie, no final da década de 1950 e início da década de 1960, o uso da talidomida está em ascensão novamente. Originalmente prescrita na Europa e no Reino Unido para o tratamento de enjoos matinais durante a gravidez, a talidomida é agora usada para tratar hanseníase (lepra), AIDS e certos tipos de câncer (p. ex., mieloma múltiplo). Ela está amplamente disponível em países do Terceiro Mundo, e o caso de Freddie ajudou a aumentar a conscientização sobre os riscos de exposição à talidomida durante a gravidez, especialmente nos países onde as taxas de alfabetização são baixas.

A epidemia de talidomida que ocorreu há mais de 50 anos gerou preocupações sobre os métodos utilizados para validar a segurança de novos medicamentos. Isso resultou em um novo Guia da Food and Drug Administration (FDA) para testes de drogas – que permanece em vigor até hoje.

A talidomida é um potente **teratógeno** que causa defeitos a partir de uma única exposição com dose menor ou igual a 100 mg. O mecanismo exato pelo qual a talidomida provoca amelia (membros ausentes) ou focomelia (mãos ou pés projetando-se diretamente a partir do ombro ou do quadril, respectivamente) é desconhecido. No entanto, a capacidade do fármaco de inibir angiogênese (formação de vasos sanguíneos) é um mecanismo potencialmente forte. A interrupção do suprimento de sangue tem sido uma hipótese para explicar os defeitos semelhantes na

redução dos membros.



Linha do tempo.
Desenvolvimento dos membros.

Interações epitélio-mesenquimais controlam o crescimento dos membros

O desenvolvimento dos membros acontece durante um período de 5 semanas entre a 4^a e a 8^a semana. Os membros superiores se desenvolvem um pouco antes dos inferiores, embora, no final do período de seu desenvolvimento, os

membros superiores e inferiores estejam quase sincronizados. A iniciação do desenvolvimento dos membros começa com a proliferação do mesoderma somático da placa lateral, nas regiões dos membros, na parede lateral do corpo ([Fig. 20-2](#)). O broto do membro superior aparece na região cervical inferior no 24º dia e o broto membro inferior aparece na região lombar inferior no 28º dia. A origem dos brotos dos membros se reflete em sua inervação definitiva (abordada mais adiante neste capítulo e no [Cap. 10](#)). Cada broto de membro consiste em uma capa ectodérmica externa e um centro mesodérmico interno.

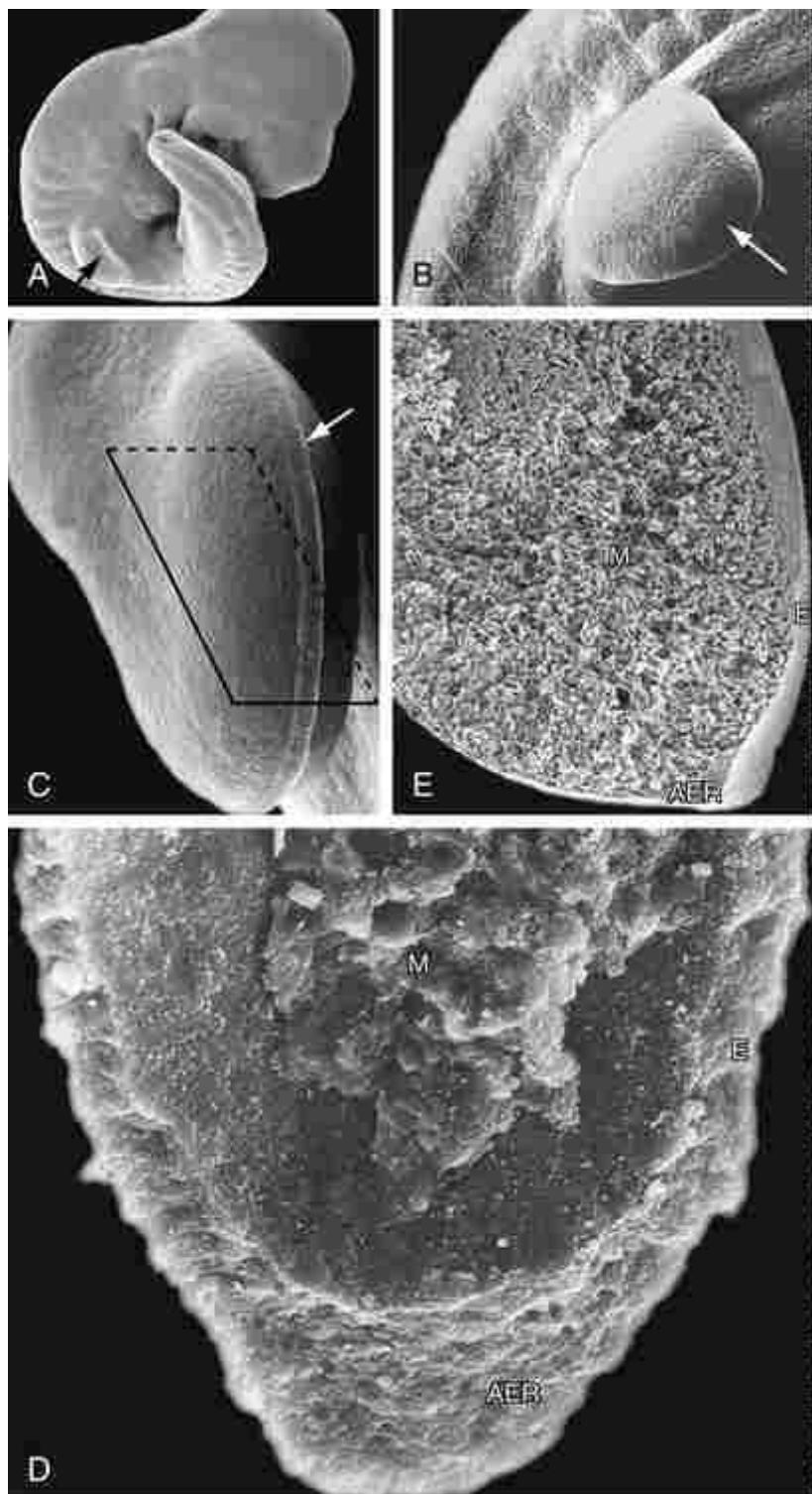


FIGURA 20-2 Micrografia eletrônica de varredura mostrando brotos dos membros. Os brotos dos membros são formados a partir do mesoderma da placa lateral. *A*, Embrião com o broto do membro anterior recém-formado (seta). *B*, Por volta do 29º dia, o broto do membro anterior (seta) está achatado. *C*, No 32º dia, o broto do membro mostra a crista ectodérmica apical (seta) como uma crista espessada de ectoderma na margem distal do broto do membro anterior em crescimento. O retângulo indica o plano de secção mostrado em *E*. *D*, A cobertura de ectoderma (E) do broto do membro foi removida do mesênquima do broto do membro para mostrar a sua face interna e o centro mesenquimal do broto (M); observe a espessa crista ectodérmica apical (CEA). *E*, O broto do membro seccionado no nível indicado pelo retângulo em *C*, que mostra o núcleo mesenquimal interno (M), a capa ectodérmica externa (E) e a espessa crista ectodérmica apical (CEA).

À medida que o broto se forma, o ectoderma ao longo da extremidade distal do broto é induzido pelo mesoderma somático subjacente a formar um espessamento denominado **crista ectodérmica apical** (CEA) (Fig. 20-2). Esta estrutura forma-se no limite dorsoventral do broto do membro e desempenha um papel essencial no crescimento dos membros.

No Laboratório de Pesquisa

Visão geral da padronização do broto do membro

Uma vez formado o broto do membro, ele se diferencia em relação aos três eixos (Fig. 20-3). O **eixo proximodistal** segue do ombro ou do quadril para os dedos das mãos e dos pés, e consistem nos **estilópodes** (úmero ou fêmur), **zeugópodes** (rádio e ulna, ou tibia e fíbula) e **autópodes** (ossos do carpo e metacarpos, ou ossos do tarso e metatarsos, e falanges). Ao longo do **eixo craniocaudal**, o polegar (ou dedão do pé) é o dígito mais cranial, enquanto o dedo mínimo (ou dedo mínimo do pé) é o dígito mais caudal. Ao longo do **eixo dorsoventral**, o lado dos nós dos dedos da mão ou o peito do pé é dorsal, enquanto a palma da mão ou da sola do pé é ventral. O broto do membro se desenvolve a partir de uma população de células aparentemente homogênea; assim, uma célula do broto do membro tem que responder adequadamente à sua posição em relação aos três eixos. Surgem várias questões, como: Como uma parte do broto do membro superior forma o ombro e outra o antebraço? Como um raio digital atua na placa da mão para formar um dedo indicador e outro raio digital forma um polegar? Como os lados ventral e dorsal de um membro se diferenciam um do outro? Foram feitos avanços significativos para responder a essas questões. Sabemos agora quais são as peças-chave para a padronização dos brotos dos membros e podemos ligá-las às mutações que causam defeitos congênitos humanos.

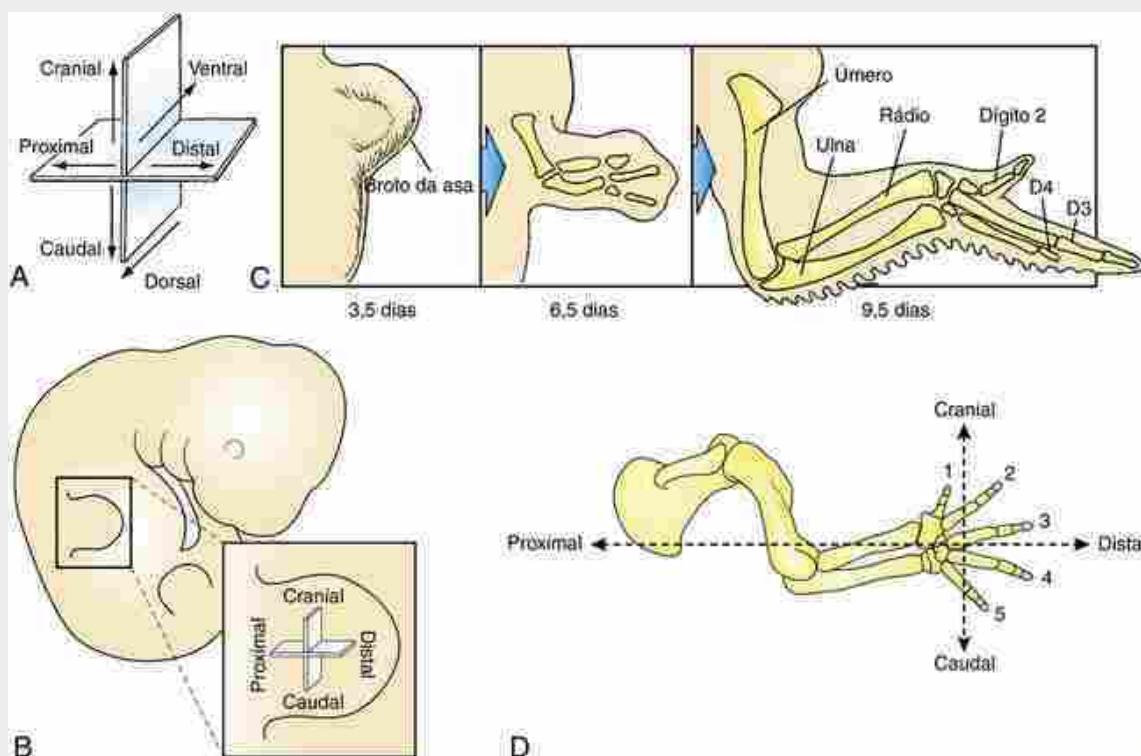


FIGURA 20-3 Eixos e dígitos do membro em desenvolvimento. **A**, Os três eixos de simetria para o desenvolvimento do membro: craniocaudal (anteroposterior), dorsoventral e proximodistal. **B**, Desenho mostrando o broto membro anterior do camundongo com dois dos três eixos assinalados. **C**, Desenho mostrando o desenvolvimento da asa do embrião de galinha, que forma apenas três dígitos, numerados como 2 (mais cranial), 3 e 4 (mais caudais). Embora este esquema de numeração seja amplamente utilizado por embriologistas para os dígitos da asa do embrião de galinha e seja utilizado ao longo deste capítulo, evidências recentes sugerem que os três dígitos são evolutivamente equivalentes aos dígitos 1, 2 e 3. **D**, Desenho do esqueleto do membro anterior do camundongo que mostra dois dos seus eixos e seus cinco dígitos (números 1 até 5, sendo 1 o mais cranial); o autópode do broto do posterior também com cinco dígitos numerados correspondentemente.

O eixo craniocaudal (anteroposterior) é determinado por sinais provenientes de uma pequena região de mesênquima na parte caudal do broto do membro denominada **zona de atividade de polarização** (ZAP), e essa atividade é mediada por Shh. Sinais do ectoderma dorsal (Wnt7a) determinam o eixo dorsoventral, enquanto Fgfs e Wnts da CEA, juntamente com ácido retinoico, no mesoderme da placa lateral, padronizam o eixo proximodistal. Esses sinais não agem isoladamente para controlar a padronização ao longo dos eixos individuais, mas são interdependentes. Por exemplo, Shh mantém a expressão de Fgfs na CEA e Wnt7a no ectoderma dorsal. Por outro lado, o Fgfs e Wnt7a mantêm a expressão da Shh na ZAP, o que resulta em um ciclo de *feedback* positivo,

promovendo e coordenando a padronização ao longo de cada um dos eixos. Durante a iniciação do broto do membro, o estabelecimento do eixo dorsoventral também é necessário para posicionar corretamente a CEA na extremidade distal do membro, enquanto a expressão do Fgf8 na CEA age em conjunto com outros sinais, dentro do mesenquima no broto do membro, para iniciar a expressão da Shh na ZAP.

A posição dos brotos dos membros ao longo do eixo craniocaudal do corpo é especificada pela expressão de genes Hox no mesenquima da placa lateral (o [Cap. 8](#) apresenta mais informações sobre os genes Hox e a padronização craniocaudal). A identidade do membro (braço *versus* perna) é especificada no mesoderma da placa lateral antes da iniciação do broto de membro. O esqueleto padroniza a musculatura em desenvolvimento, como em outras regiões do corpo (p. ex., no desenvolvimento da face; [Cap. 17](#)).

Os parágrafos a seguir no “No Laboratório de Pesquisa” detalham o desenvolvimento do membro ao longo do eixo proximodistal, incluindo o início do seu crescimento. O desenvolvimento ao longo dos outros dois eixos será abordado no próximo quadro “No Laboratório de Pesquisa” em seções intituladas “Especificação do Eixo Craniocaudal” e “Especificação do Eixo Dorsoventral”.

Crescimento e padronização ao longo do eixo proximodistal

Experimentos clássicos de embriologia mostraram que o **crescimento proximodistal** é controlado pela crista ectodérmica apical (CEA). A remoção da CEA resulta na interrupção do desenvolvimento do membro, sendo o grau de desenvolvimento determinado pela fase de desenvolvimento em que a CEA foi removida ([Fig. 20-4](#)). Por exemplo, no embrião de galinha, a remoção no estágio 20 do desenvolvimento resulta na formação de um membro encurtado na articulação do cotovelo, enquanto a remoção um pouco mais tarde, no estágio 24, leva à formação de um membro em que faltam apenas os dedos. Além disso, em embriões de galinha mutantes *wingless* e camundongos mutantes com deformidades nos membros, nos quais a CEA se desenvolve inicialmente, mas não se mantém, os membros são encurtados. O início do desenvolvimento dos membros sem a manutenção da CEA ocorre naturalmente em algumas espécies de cobras, baleias e golfinhos. Nessas espécies, pequenos brotos de membros posteriores se formam inicialmente. No entanto, eles não se desenvolvem, já que a CEA não é formada ou não é mantida.

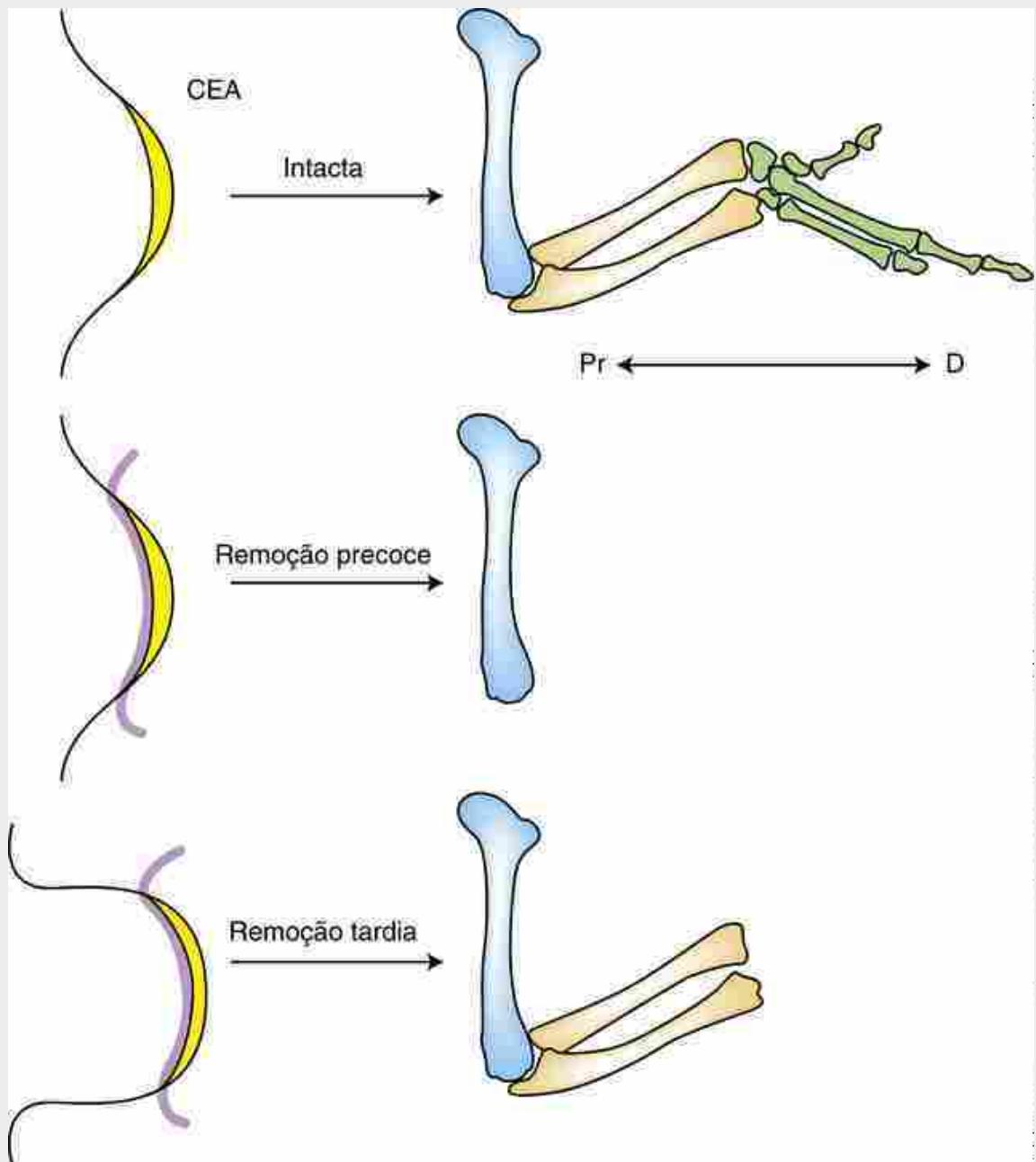


FIGURA 20-4 Desenvolvimento do esqueleto ao longo do eixo próximo (Pr)-distal (D) do broto da asa do embrião de galinha seguido da remoção da crista ectodérmica apical (CEA) em diferentes estágios de desenvolvimento.

Vários membros da família Fgf são expressos na CEA (*Fgf4, 8, 9, e 17*) (Fig. 20-5). Esses fatores são reguladores importantes do crescimento do membro. Bilhas embebidas em Fgfs e transplantadas para a extremidade do broto do membro, seguidas da remoção da CEA, podem substituir a CEA e manter o crescimento do membro. Além disso, existe uma redundância na função, de tal modo que diferentes Fgfs podem substituir uns aos outros e a CEA. Por exemplo, membros com ausência de *Fgf4, 9* ou *17* são normais. A inativação do gene *Fgf8* em camundongos resulta na formação de um broto do membro ligeiramente menor, afetando o crescimento de todos os segmentos do membro. Nesses membros, a função do *Fgf8* é resgatada por *Fgf4*, que é suprarregulada/sustentada, todavia a inativação dos genes *Fgf8* e *Fgf4* resulta em aumento da apoptose das células mesenquimais e na redução do crescimento do membro.

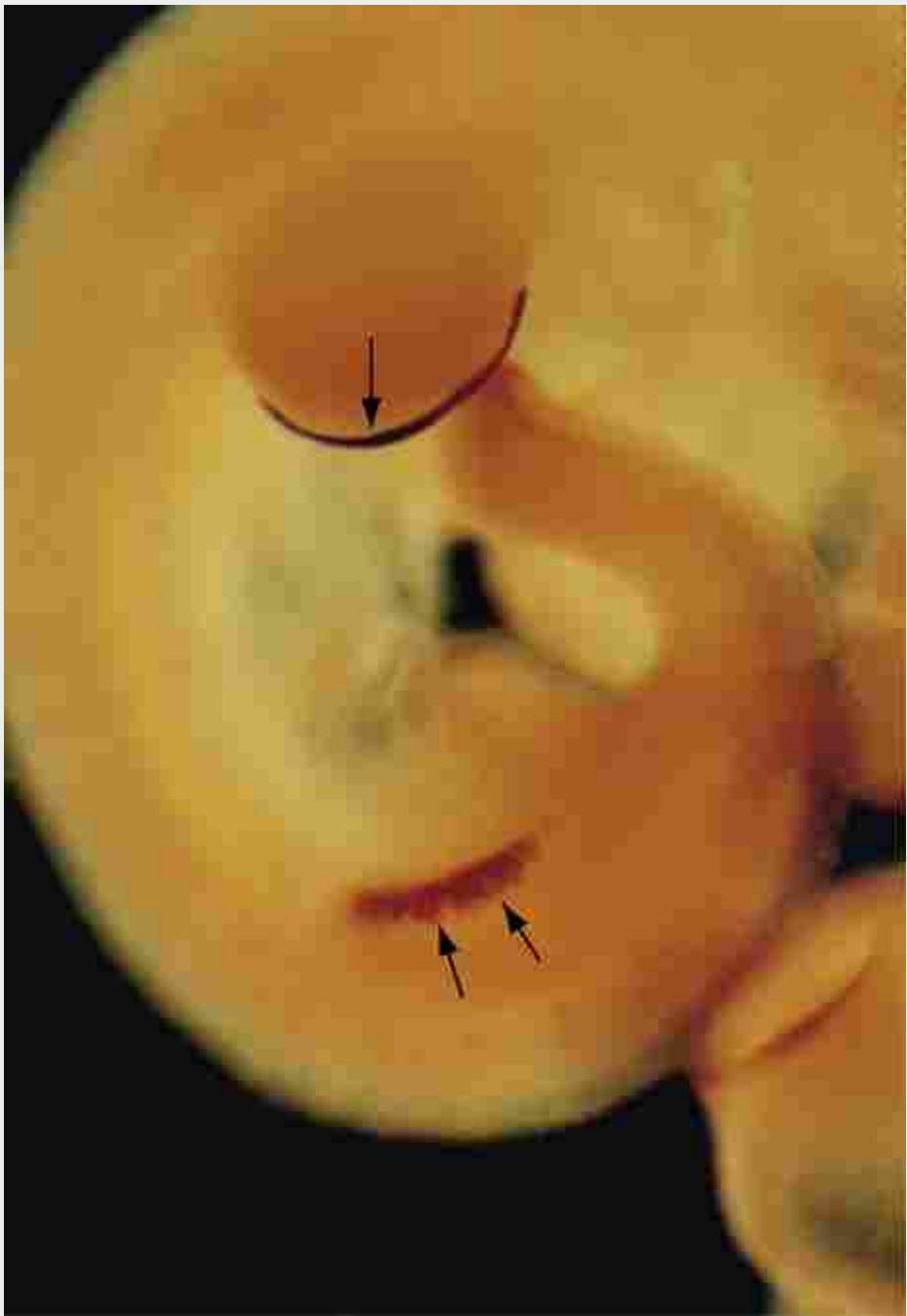


FIGURA 20-5 Hibridização *in situ* mostrando que os transcritos de RNAm para Fgf8 são expressos no ectoderma antes do crescimento do broto do membro (duas setas marcam expressão na região dos membros posteriores próxima à parte inferior da fotografia) e em seguida são discretamente contidos dentro da crista ectodérmica apical (seta única) durante o desenvolvimento tardio. (O desenvolvimento do broto do membro anterior é avançado em relação ao do broto do membro posterior).

A sinalização por Fgf é essencial para a *iniciação* do desenvolvimento dos membros. Surpreendentemente, a aplicação de bilhas embebidas em Fgf na região lateral do tronco entre os membros de um embrião de galinha induz a formação de um membro adicional (Fig. 20-6). No nível do membro anterior, Tbx5诱导 a expressão de Fgf10 no mesênquima desta região. A sinalização por Fgf10 no mesoderma induz o Wnt3a (embrião de galinha) no ectoderma sobrejacente. O Wnt3a, por sua vez, induz o Fgf8 na futura CEA, que mantém a expressão de Fgf10 no mesênquima subjacente e estabelece um ciclo de *feedback* entre Fgf8 e Fgf10 para manter o crescimento do membro. A interação entre Wnt3a e Fgf8 continua ao longo do desenvolvimento do membro, com a expressão incorreta de Wnt3a resultando na indução da formação de uma CEA ectópica. Processos paralelos ocorrem no camundongo, nos quais a sinalização por Wnt3/β-catenina é necessária tanto para a formação quanto para a manutenção da CEA.

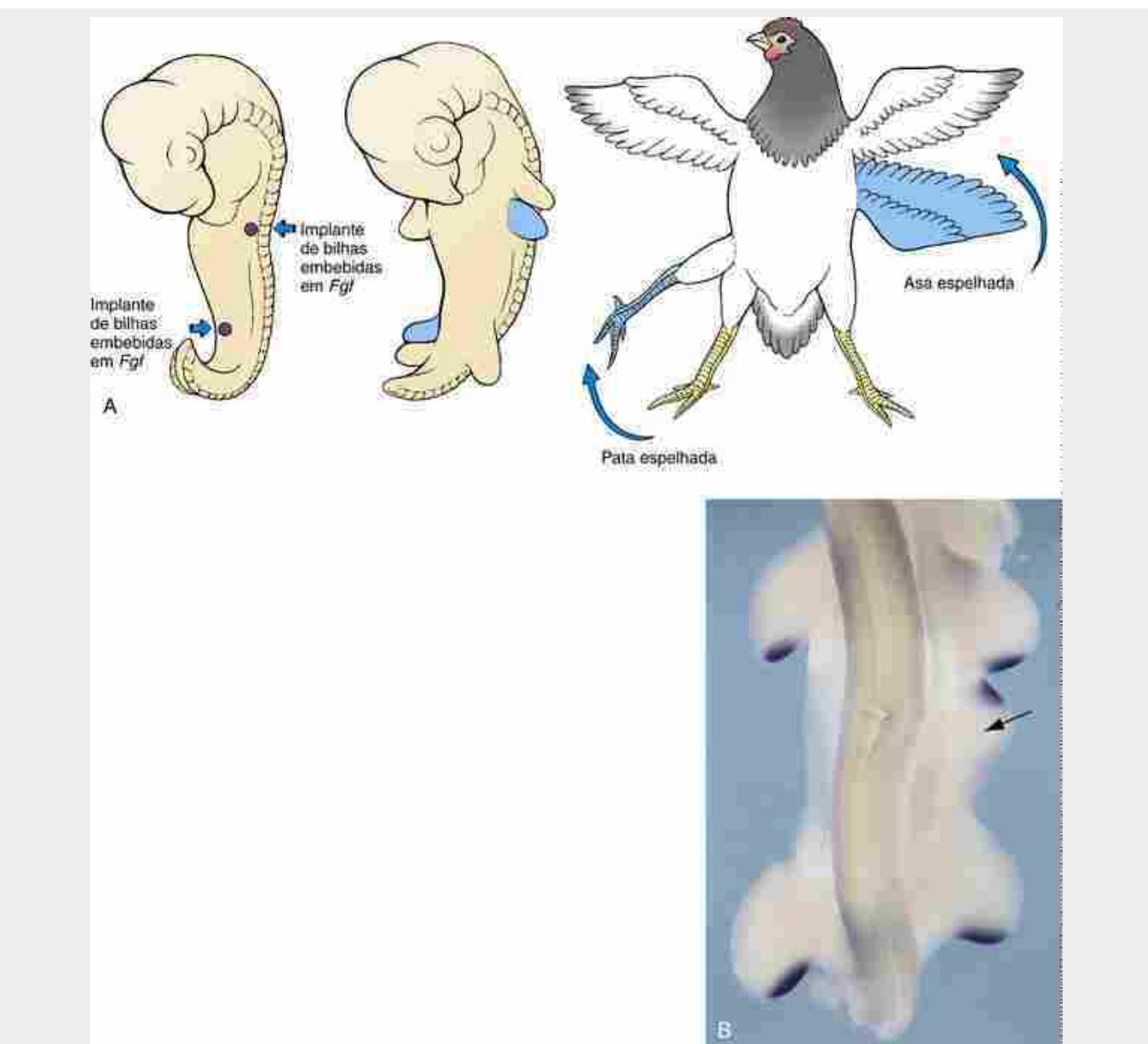


FIGURA 20-6 As bilhas embebidas em Fgf induzem membros supranumerários. *A*, Desenho esquemático do procedimento experimental e a indução resultante de patas/asas ectópicas espelhadas (mostradas em azul). *B*, A hibridização *in situ* de todo embrião mostra a expressão de Shh na zona de atividade de polarização em cada broto do membro (dois brotos de asas, dois brotos de patas e um broto supranumerário) de um embrião de galinha após 2 dias da aplicação de bilhas embebidas em Fgf. A seta marca o broto de membro supranumerário induzido; note que a Shh é expresso cranialmente em vez de caudalmente (em relação ao eixo craniocaudal do embrião) dentro do broto supranumerário, resultando em uma orientação espelhada do membro ectópico.

O modo como a padronização é especificada ao longo do eixo proximodistal ainda é incerto. Um modelo que tem sido usado há 40 anos para explicar essa padronização é denominado **modelo de zona de progresso**. A **zona de progresso** é definida como uma zona estreita de mesênquima com cerca de 300 µm de largura subjacente à CEA, onde se imagina que as células adquirem **informações posicionais** que irão informá-las sobre o seu **local posicional** ao longo do eixo proximodistal. As células que saem da zona de progresso, depois de uma breve estadia, estão destinadas a formar estruturas proximais como o úmero ou fêmur (*i. e.*, elementos do estilópode). Células com longa permanência na zona de progresso irão se tornar estruturas mais distais, isto é, as falanges (*i. e.*, elementos do autópode). Não se sabe, realmente, como as células adquirem a informação posicional durante sua permanência na zona de progresso. No entanto, foi proposto um mecanismo de temporização em que a célula conta o número de divisões mitóticas pelas quais passou.

A remoção da CEA resulta em diferenças na extensão de morte celular e proliferação celular no mesênquima do broto do membro dependendo do estágio da remoção. A remoção, no início do desenvolvimento, resulta em morte celular abrangendo progenitores do autópode e do zeugópode (*i. e.*, o rádio e ulna, ou a tibia e fíbula), enquanto a remoção tardia não induz morte celular significativa, mas diminui significativamente a proliferação celular. Além

disso, a redução dos níveis de expressão de Fgf na CEA afeta todos os elementos esqueléticos. Se o número de ciclos celulares determina o destino da célula, como sugerido pelo mecanismo de temporização para a informação posicional abordado anteriormente, então, a redução sequencial na sinalização por Fgf, que controla a proliferação celular, deve afetar, preferencialmente, o autópole; e isso não ocorre.

Esse enigma foi resolvido com o **modelo dos dois sinais** (Fig. 20-7). De acordo com este modelo, as células do broto do membro são inicialmente expostas a um sinal proximal vindo do tronco (possivelmente ácido retinoico produzido pela enzima Raldh2 no mesênquima do flanco), e um sinal distal da região da CEA (Fgfs e Wnts). Em um estágio inicial do desenvolvimento dos membros, todo o broto do membro é exposto a ambos os sinais; como consequência, ele expressa marcadores do estilópole (os fatores de transcrição *homeobox* Meis1 e Meis2) e do autópole (p. ex., os fatores de transcrição, Ap1 e Msx1). À medida que o membro cresce para fora do flanco, apenas a parte proximal do membro continua a ser exposta ao ácido retinoico e mantém a expressão de Meis1/2, enquanto somente a região distal é exposta à sinalização Fgf/Wnt da CEA, o que mantém as células em um estado indiferenciado. O Fgf também induz a expressão de Cyp26 no mesênquima distal, que degrada o ácido retinoico. Em camundongos mutantes para Cyp26 os marcadores distais estão ausentes, enquanto a expressão Meis1/2 é estendida ao longo do eixo proximodistal. À medida que o broto do membro cresce, as células do meio ficarão fora do alcance tanto de sinais proximais quanto distais, e irão adquirir uma identidade única: o zeugópole.

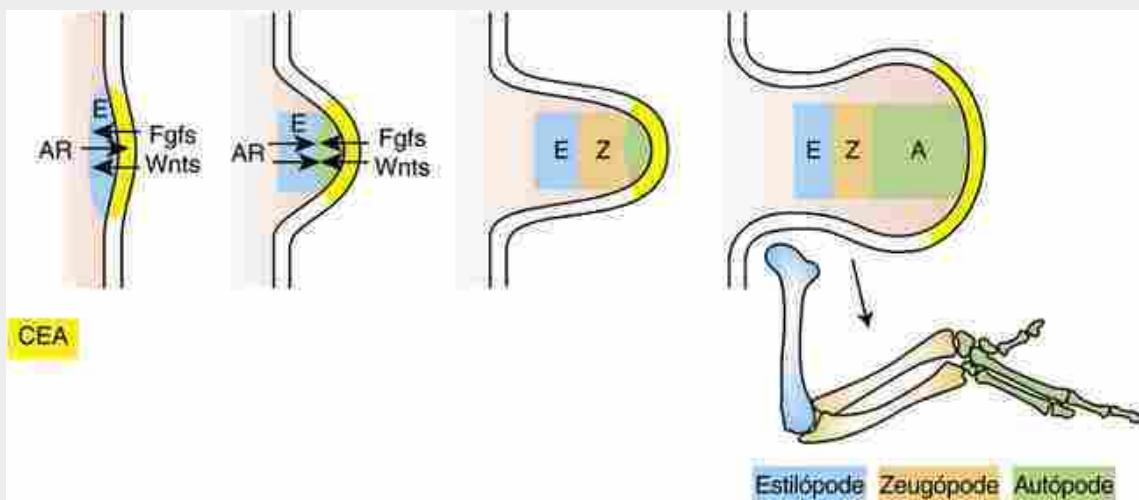


FIGURA 20-7 O modelo dos dois sinais da padronização ao longo do eixo proximodistal. AR, ácido retinoico.

Já há um melhor entendimento dos mecanismos moleculares que regulam o crescimento de cada região do broto do membro. Conforme descrito nos Capítulos 5, 8 e 17, quatro grupos de genes Hox são ativados sequencialmente em vertebrados (incluindo os seres humanos), seguindo a sequência 3' - 5' ao longo do DNA dos quatro cromossomos respectivos. Além disso, os membros mais próximos da região 5' dos grupos Hoxd e Hoxa (9-13) são inicialmente expressos, coordenada e agrupadamente, nos domínios craniocaudal e proximodistal no broto do membro em crescimento (Fig. 20-8). Essa expressão temporal e agrupada é conhecida como **colinearidade temporal e espacial** e também é vista durante a expressão Hox e na padronização dos somitos em desenvolvimento (Cap. 8). Enfim, a expressão de cada um dos genes 5' Hoxd (juntamente com aqueles do grupo Hoxa) pode ser correlacionada com o desenvolvimento dos elementos esqueléticos específicos dos segmentos dos membros superiores e inferiores. Por exemplo, no membro anterior, Hoxd9 é expresso dentro do segmento que forma a escápula; Hoxd9 e Hoxd10 dentro do braço (contendo o úmero); Hoxd9, Hoxd10, e Hoxd11 dentro do antebraço e punho proximal (contendo ulna, rádio, e ossos proximais do carpo); Hoxd9, Hoxd10, Hoxd11, e Hoxd12 dentro do pulso distal (contendo os ossos distais do carpo); e Hoxd9, Hoxd10, Hoxd11, Hoxd12, e Hoxd13 dentro da mão e dedos (contendo metacarpos e falanges; Fig. 20-9). Esses genes são necessários para o crescimento de diferentes regiões do broto do membro. A maioria dos genes 5' Hox (8-11) são essenciais para a formação da CEA, enquanto os genes Hox11-13 ativam a expressão de Shh na ZAP.

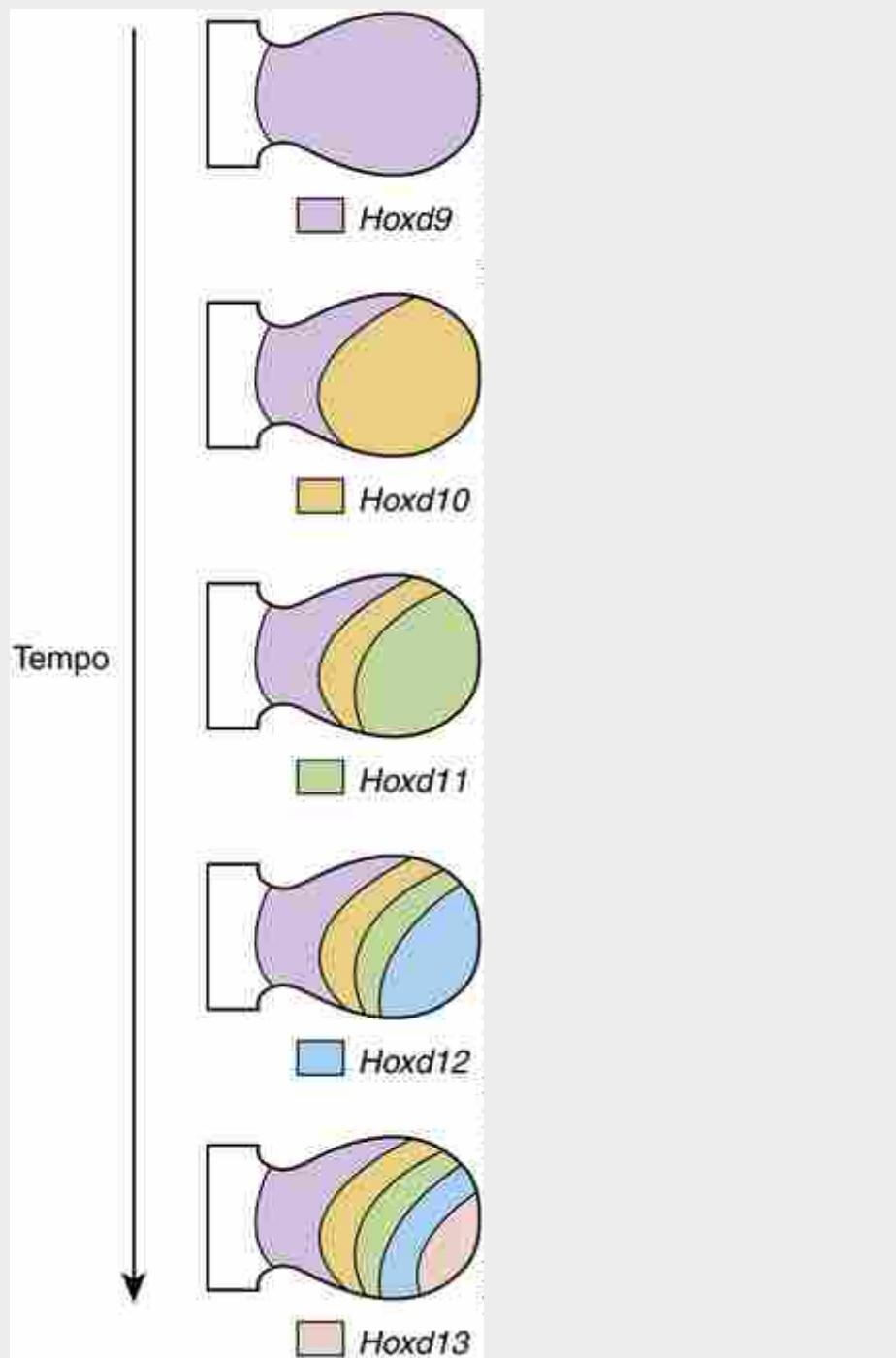


FIGURA 20-8 Expressão progressiva dos genes *Hoxd* ao longo do tempo e espaço.

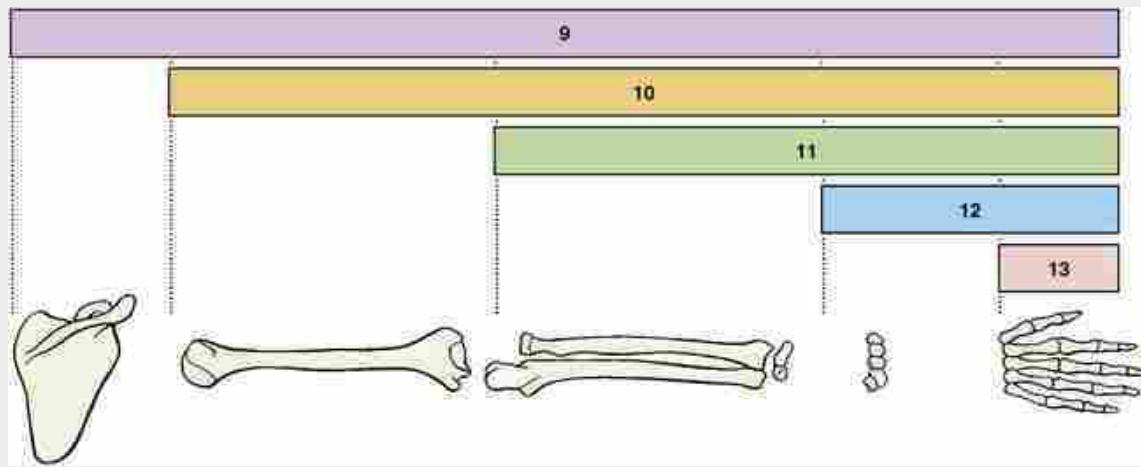


FIGURA 20-9 Padrões de expressão do gene Hoxd em relação aos segmentos definitivos do membro superior.

A necessidade de genes Hox na região de crescimento do broto do membro é mostrada diretamente pelos *knockouts* de múltiplos parálogos de genes Hox em camundongos. Por exemplo, nos membros anteriores na ausência de genes Hoxa11 e Hoxd11, o rádio e a ulna são gravemente afetados (Fig. 20-10), enquanto o *knockout* de ambos, Hoxa13 e Hoxd13, resulta na perda dos dedos. A análise de mutantes Hoxa11/Hoxd11 mostrou redução da sinalização por Fgf, resultando em condensações esqueléticas menores e em um atraso na diferenciação dos condróцитos. Uma vez formados os elementos cartilaginosos, um defeito na placa de crescimento contribui significativamente para a hipoplasia/aplasia desses elementos no momento do nascimento.



FIGURA 20-10 Aplasia do rádio e da ulna (zeugópode) após a inativação gênica dos parálogos de Hox11. À esquerda, camundongo selvagem (setas apontam o zeugópode); à direita, camundongo mutante (ou seja, membro anterior sem a expressão de Hoxa11 e Hoxd11).

Morfogênese do membro

Uma vez estabelecida a CEA, os membros continuam a crescer, e o desenvolvimento ocorre, predominantemente, ao longo do eixo proximodistal. A proliferação e o crescimento são também ligeiramente maiores na superfície dorsal do broto do membro, resultando em uma curvatura ventral dos membros em desenvolvimento. Mais tarde, o desenvolvimento ocorre da seguinte maneira (Fig. 20-11).

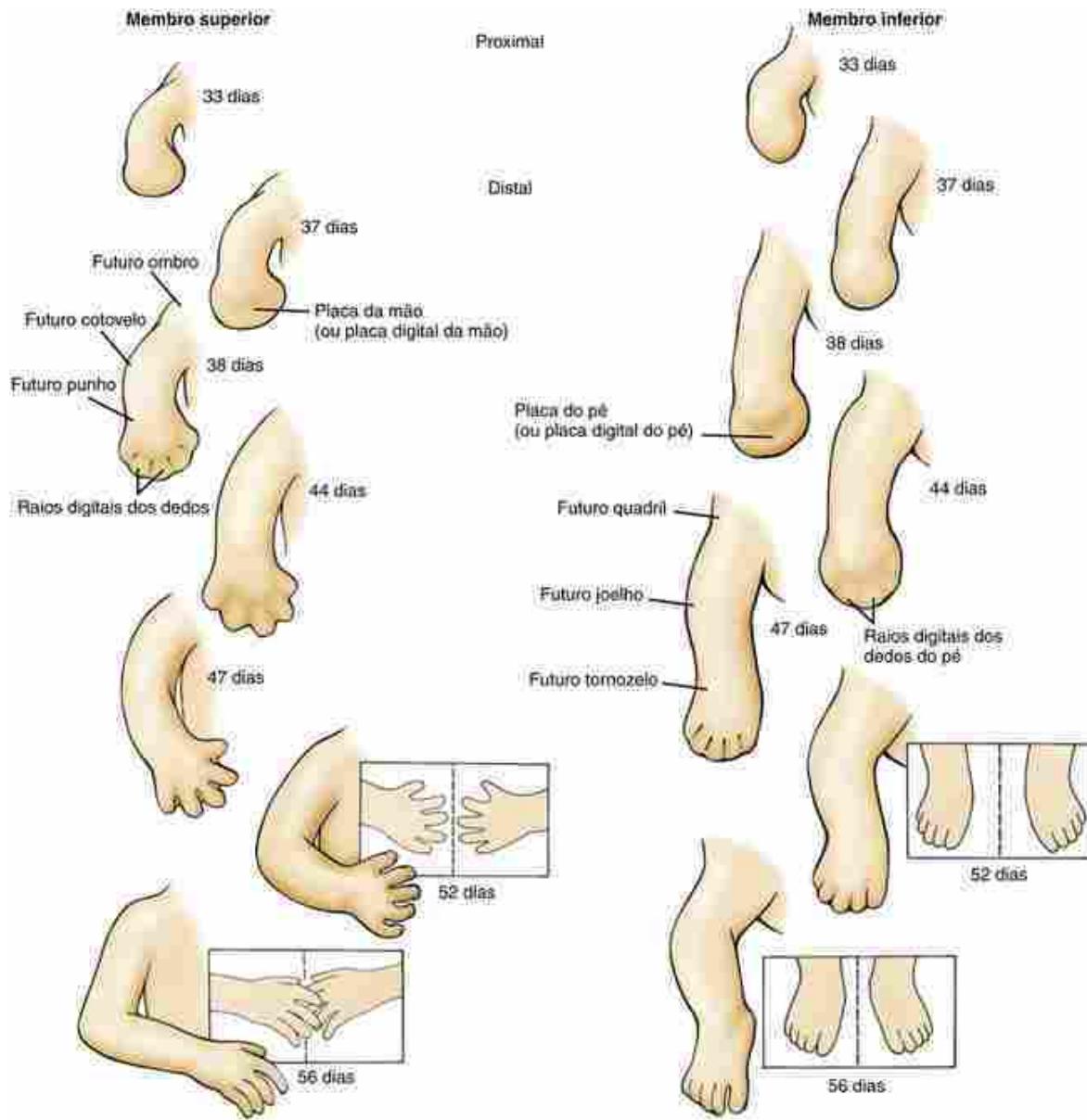


FIGURA 20-11 O desenvolvimento dos brotos dos membros superiores e inferiores ocorre entre a 5^a e a 8^a semana. Cada estágio do desenvolvimento do broto do membro inferior ocorre mais tarde do que no broto do membro superior.

Trigésimo terceiro dia

No membro superior, as regiões da **placa da mão**, do **antebraço**, do **braço** e do **ombro** podem ser distinguidas. No membro inferior, uma parte proximal mais arredondada pode ser distinguida da parte distal mais afilada que irá formar o pé.

Trigésimo sétimo dia

Na placa de mão do membro superior, uma **região do carpo** central está rodeada por uma borda mais delgada em forma de crescente, a **placa digital**, que irá formar os dedos da mão. No membro inferior, a **coxa**, a **perna** e o **pé** tornam-se distintos.

Trigésimo oitavo dia

Raios dos dedos (mais comumente, raios digitais) são visíveis como espessamentos radiais na placa digital do membro superior. As extremidades dos raios dos dedos da mão se projetam ligeiramente, produzindo uma borda rugosa na placa digital. Um processo de morte celular programada por apoptose entre os raios digitais vai esculpindo gradualmente os raios digitais a partir da placa digital, por meio da remoção de tecido intervenciente. Isso irá liberar os dedos das mãos e dos pés. O broto do membro inferior aumentou em comprimento e uma placa do pé claramente definida se formou na extremidade distal do membro.

Quadrágésimo quarto dia

No membro superior, a margem distal da placa digital está profundamente marcada e os sulcos entre os raios dos dedos são mais profundos. A curva onde o cotovelo irá se formar, ao longo do eixo proximodistal, está se definindo. Os **raios dos dedos do pé** são visíveis na placa digital do pé, mas a margem da placa ainda não está rugosa.

Quadrágésimo sétimo dia

Todo o membro superior passou por uma **flexão ventral** (Figs. 20-11 e 20-12A). O membro inferior também começou a se flexionar em direção à linha mediana. Os raios dos dedos dos pés estão mais proeminentes, embora a margem da placa digital ainda esteja lisa (Fig. 20-11).



FIGURA 20-12 Membros humanos durante o início do desenvolvimento. A, Por volta da 7^a semana, os dígitos são claramente visíveis nas extremidades superior e inferior. B, C, Micrografias eletrônicas de varredura de uma mão e de um pé, respectivamente, de um embrião humano. As almofadas tátteis (*tactile pads*) são visíveis no lado palmar das pontas dos dedos.

Quinquagésimo segundo dia

Os membros superiores estão curvados nos cotovelos e os dedos desenvolveram dilatações distais denominadas **almofadas tátteis** (Fig. 20-12B; ver também Fig. 20-11). As mãos estão ligeiramente flexionadas nos punhos e se encontram na linha média em frente à eminência cardíaca. As pernas estão mais longas e os pés começaram a se aproximar um do outro na linha média. A margem da placa digital tem indentações.

Quinquagésimo sexto dia

Todas as regiões dos braços e pernas estão bem definidas, incluindo as almofadas tátteis nos dedos dos pés (Fig. 20-12C). Os dedos das duas mãos se sobrepõem na linha média.

No Laboratório de Pesquisa

Especificação do eixo craniocaudal

O eixo craniocaudal (anteroposterior) é determinado por sinalização proveniente de uma pequena região de mesênquima na parte caudal do broto do membro conhecida como **zona de atividade de polarização** (ZAP). O transplante da ZAP para a porção cranial do broto do membro de um embrião de galinha induz duplicações digitais espelhadas (Fig. 20-13). Experimentos clássicos mostraram, inicialmente, que o número de células da ZAP transplantadas, ou a duração da exposição das células craneais do broto do membro à sinalização ZAP, determina a identidade craniocaudal dos dígitos que se formaram. Se mais células da ZAP fossem transplantadas, ou se as células fossem expostas por um tempo maior, os dígitos ectópicos resultantes teriam uma identidade mais caudal. Isso sugeriu que um **morfógeno** é produzido pela ZAP e que se difunde através do eixo craniocaudal do membro. Uma dose elevada do morfógeno poderia induzir dígitos caudais, enquanto concentrações progressivamente mais baixas induziriam dígitos mais craneais. Em defesa disso, Sonic hedgehog (Shh) é expresso na ZAP (Fig. 20-14A), e se difunde através do membro. Além disso, a expressão ectópica de Shh, no lado cranial do broto do membro, induz duplicações de dígitos e a identidade do dígito se correlaciona com a concentração de Shh aplicada.

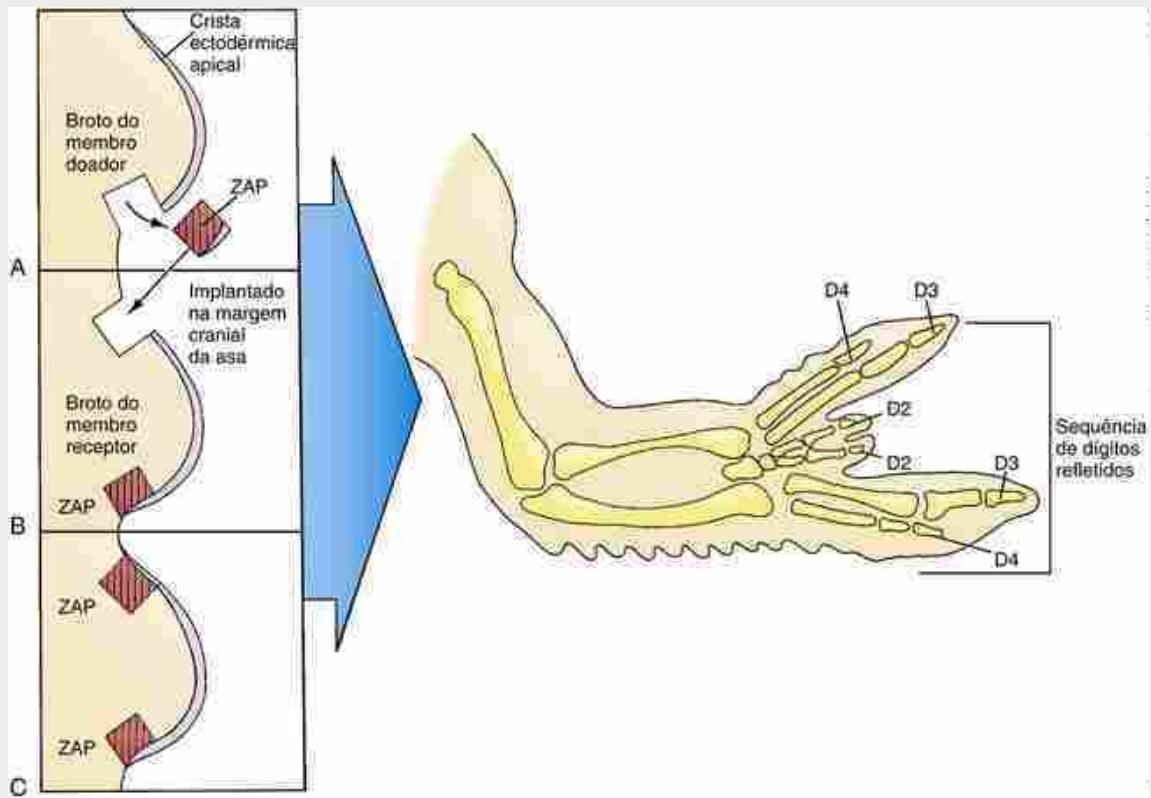


FIGURA 20-13 O transplante da zona de atividade de polarização (ZAP) de um broto de membro de um embrião de galinha doador para a margem cranial do broto de membro de um receptor induz polidactilia espelhada. A, B, C, Mostra a sequência das etapas no processo de transplante.

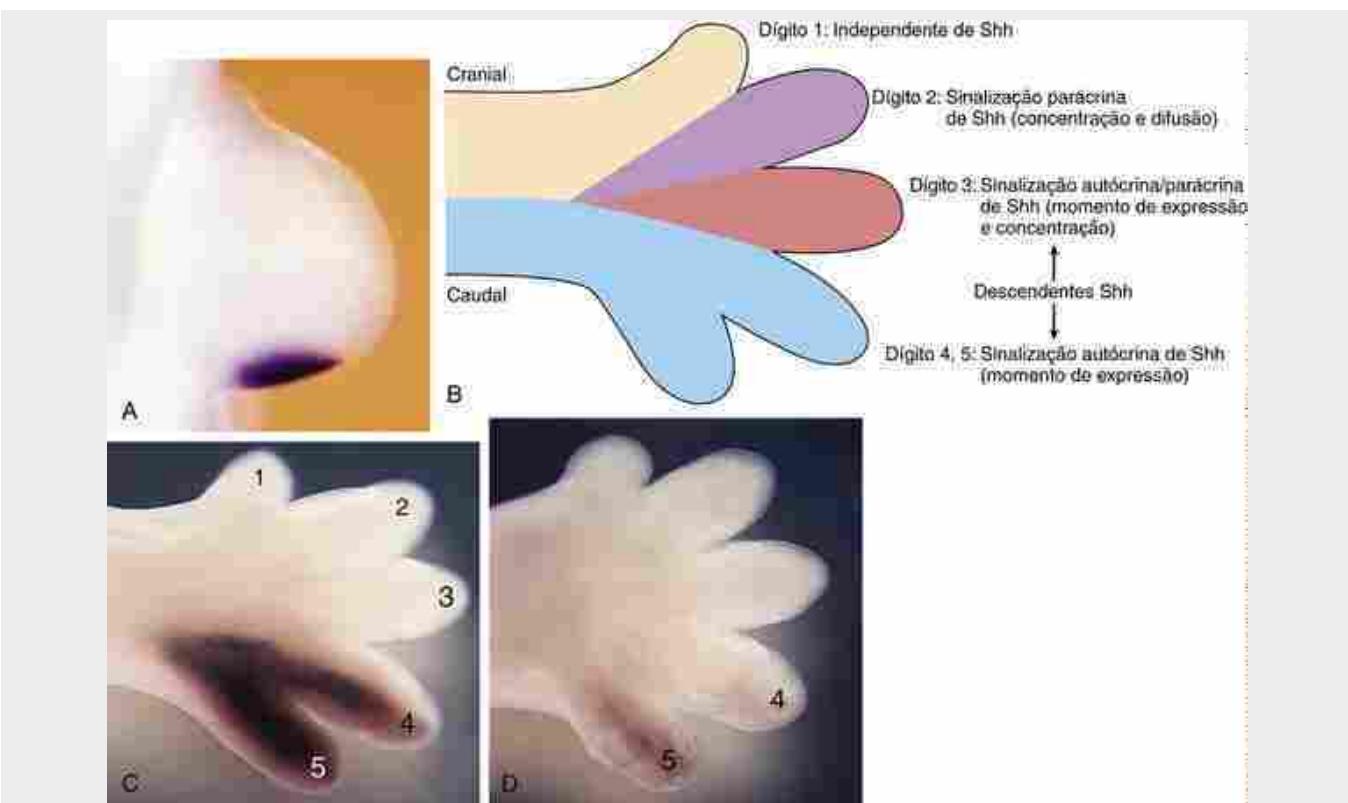


FIGURA 20-14 Padronização craniocaudal do broto do membro. *A*, Expressão de Shh (em roxo) na zona de atividade de polarização (ZAP) do broto do membro de um embrião de camundongo. *B*, O modelo gradiente temporal-espacial da padronização craniocaudal dos dígitos no membro do camundongo mediada por Shh. *C, D*, Mapas de destino dos descendentes da ZAP quando marcados no E10.5 e E11.5, respectivamente. Células anteriormente presentes na ZAP expressam um gene repórter (em castanho), permitindo que elas possam ser rastreadas ao longo do tempo.

Experimentos adicionais desafiaram a ideia de que a especificação do eixo craniocaudal do broto do membro envolve apenas a simples difusão de um morfógeno. Em vez disso, o **modelo gradiente temporal e espacial** (Fig. 20-14B), baseado nesses experimentos (explicados abaixo), propõe que a padronização dos dígitos é alcançada pela combinação da difusão simples de um morfógeno (Shh) e das diferenças encontradas pelas células-alvo ao longo do broto do membro em doses e durações de exposição ao morfógeno. Esses eventos são análogos aos que ocorrem na padronização do eixo dorsoventral do tubo neural em que tanto a dose quanto a duração da exposição à Shh, assim como sua difusão a partir da notocorda e da placa do tubo neural, determinam o destino final das colunas de células neurais (Caps. 4 e 9).

Especificamente, o modelo temporal-espacial propõe que o dígito 1 da mão ou pé de um camundongo se desenvolve independentemente da sinalização de Shh; o dígito 2 se desenvolve com base na concentração de Shh no limite cranial da difusão da Shh (*i. e.*, sinalização **parácrina** de Shh); o dígito 3 se desenvolve com base no tempo de exposição à sinalização de Shh e na dose de sinalização de Shh, e de ser composto, tanto por descendentes Shh, quanto por não descendentes da Shh (ou seja, pelas duas sinalizações, parácrina e **autócrina**, de Shh); os dígitos 4 e 5 se desenvolvem com base no tempo de exposição à sinalização de Shh e por serem compostos inteiramente de descendentes Shh (ou seja, sinalização autócrina de Shh). O apoio a este modelo vem de dois tipos de estudos de mapeamento de destino genético.

No primeiro desses estudos, as contribuições das regiões da ZAP e não ZAP do broto do membro para os dedos foram mapeados. Este estudo demonstrou que os descendentes ZAP ocupam o terço caudal do broto do membro e formam os dígitos 3 a 5: todas as células dos dígitos 4 e 5 são derivadas da ZAP, mas as células do dígito 3 surgem tanto a partir de descendentes da ZAP, quanto de descendentes que não são da ZAP (células dos dígitos 1 e 2 surgem de descendentes que não são da ZAP). A marcação de células da ZAP em diferentes estágios do desenvolvimento revelou que o dígito 5 surge a partir da ZAP após o dígito 4; assim, já que a ZAP é a fonte de sinalização de Shh, o dígito 5 é exposto à sinalização de Shh por um período mais longo (Fig. 20-14C, D).

No segundo desses estudos, as células que receberam uma sinalização por Shh (*i. e.*, identificadas por sua expressão de Gli1, um alvo transcripcional de Shh) foram determinadas. Esses estudos demonstram que os dígitos de 2 a 5 respondem à sinalização de Shh em algum momento durante o seu desenvolvimento e que o dígito 1, o dígito mais cranial, desenvolve-se independentemente da sinalização de Shh, o que é consistente com a formação, em um mutante de Shh, de um dígito (o dígito 1) em um membro posterior (Fig. 20-15A, B).

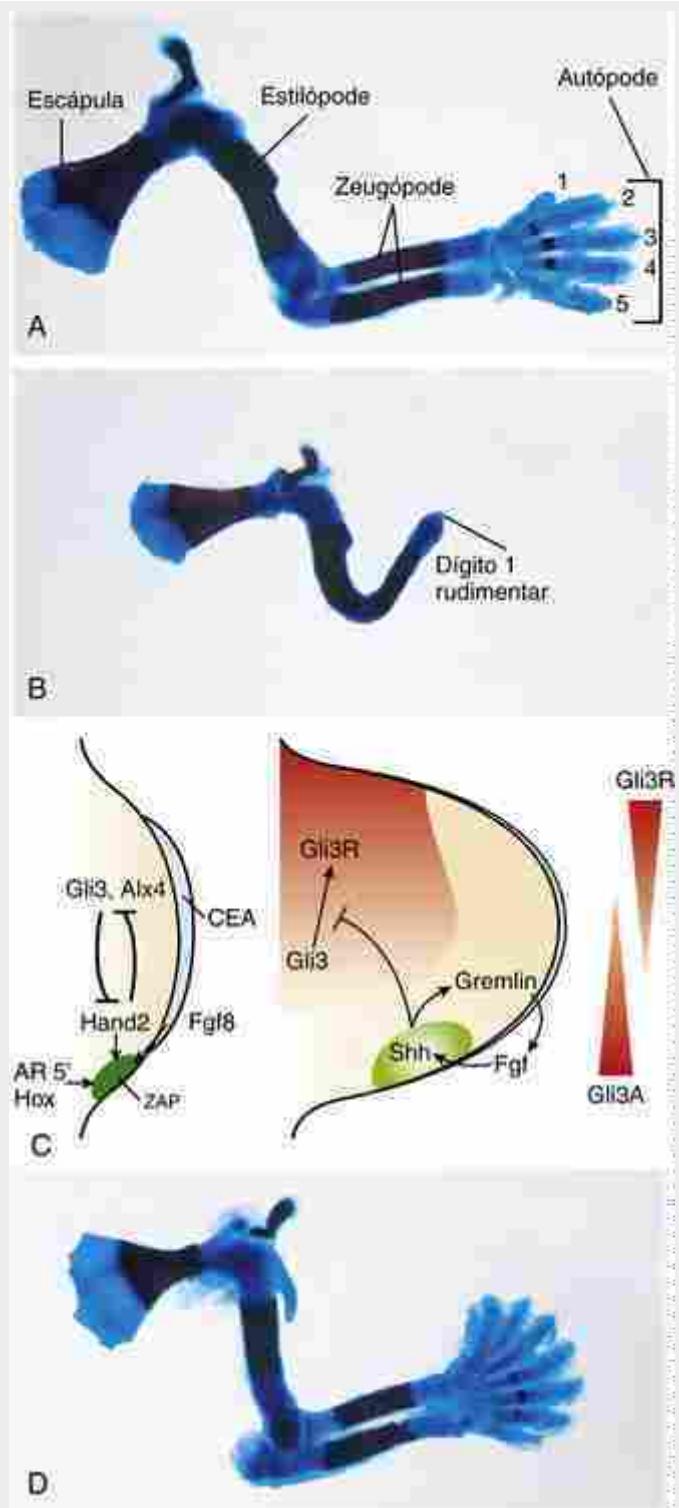


FIGURA 20-15 Funções da sinalização de Shh no membro anterior de camundongos. *A, B, D*, Estruturas esqueléticas nos membros de camundongos do tipo selvagem, mutante para Shh, e mutante para Gli3 (Xt), respectivamente. *C*, Esquemas mostrando as interações das sinalizações durante o desenvolvimento do membro que induz (à esquerda) e mantém (à direita) a expressão de Shh. CEA, crista ectodérmica apical; AR, ácido retinóico; ZAP, zona de atividade de polarização.

A combinação dos resultados desses dois tipos de estudos fornece os princípios básicos do modelo temporal-espacial: (1) Shh se difunde a partir da ZAP em direção cranial até o dígito 2; assim, o dígito 1 se desenvolve independentemente da sinalização de Shh, mas o dígito 2 depende da difusão de Shh para o seu desenvolvimento, uma vez que não descende de células da ZAP (que expressam a Shh); (2) ao contrário do dígito 2, os dígitos 3, 4 e 5 surgem inteiramente (dígitos 4 e 5) ou parcialmente (dígito 3) a partir de células que expressam Shh da ZAP. Como previsto neste modelo, a alteração no limite de difusão de Shh irá afetar o número do dígito.

A modificação que remove o colesterol de Shh aumenta a sua difusão e resulta em polidactilia pré-axial,

enquanto a modificação que remove o ácido palmítico diminui a difusão de Shh, o que resulta na perda do dígito 2 (ou seja, do dígito que depende apenas da difusão da Shh para o seu desenvolvimento).

Outros experimentos em que a expressão da Shh foi inativada em momentos diferentes do desenvolvimento dos membros levaram a modificações do modelo temporal-espacial, denominado **modelo bifásico**. A inativação de Shh em fases tardias do desenvolvimento dos membros reduz o número de dígitos, mas não altera a identidade do dígito que se forma. Portanto, argumentou-se que Shh tem papéis importantes, mas diferentes em duas fases do desenvolvimento: (1) padronização do eixo craniocaudal do broto do membro durante as fases mais iniciais do desenvolvimento dos membros, agindo como um morfógeno (fase I); e (2) controle da expansão dos precursores pré-especificados dos dígitos, por meio da regulação direta de ciclinas D1/E e cMyc, juntamente com a regulação da expressão de Fgf na CEA, o que controla a proliferação celular e a sobrevivência das células do mesênquima do membro subjacente (fase II).

Já que Shh desempenha esses dois papéis principais, a padronização do eixo craniocaudal e o crescimento ao longo do eixo proximodistal, os mutantes de Shh são caracterizados por defeitos no desenvolvimento da porção caudal do membro (*i. e.*, a perda de dígitos caudais) e a falha no crescimento dos membros, resultando em um membro encurtado ([Fig. 20-15A, B](#)). Em sua função mais tardia, Shh mantém a expressão de Fgfs na CEA por meio da expressão da *Gremlin*, um antagonista secretado de Bmp que bloqueia as ações repressivas dos Bmps sobre a função da CEA ([Fig. 20-15C](#)). Em camundongos mutantes para *Gremlin*, a expressão de Fgf4 e 8 está ausente ou diminuída, respectivamente, resultando novamente no encurtamento do membro. Fgfs, por sua vez, mantêm a expressão de Shh na ZAP e expressão do Hox11-13 no mesênquima do membro.

O broto do membro é pré-padronizado através do eixo craniocaudal antes da expressão da Shh. Gli3 e a proteína Alx4 (*Aristaless-like 4 paired-type homeodomain protein*) têm a função, no mesênquima cranial, de restringir a expressão de Hand2 ao mesênquima caudal, antes da expressão da Shh ([Fig. 20-15C](#)). A expressão de Shh é então ativada no mesênquima caudal pela ação combinada do ácido retinóico, do fator de transcrição do Hand2, dos genes Hox 5' e da sinalização de Fgf8 ([Fig. 20-15C](#)).

O mutante *Strong's luxoid*, que é caracterizado por polidactilia, resulta de mutações em Alx4. Neste mutante, a pré-padronização que normalmente restringe Hand2 à região caudal do broto do membro não ocorre. Consequentemente, um domínio ectópico de expressão de Shh se forma no mesênquima cranial ([Fig. 20-16](#)). A expressão do Shh na ZAP é regulada pela sequência reguladora da ZAP (SRZ), uma sequência altamente conservada de 750 a 800 pb no promotor de Shh, que é, ao mesmo tempo, necessária e suficiente para conduzir a expressão de Shh. Algumas cobras e anfíbios sem membros não apresentam a SRZ, explicando, então, a ausência da expressão de Shh e a falta do desenvolvimento de membros nessas espécies. Hoxd11-13 e Hand2 ligam-se diretamente à SRZ. A expressão de Shh também é suprimida diretamente na região anterior do broto do membro pelos fatores de transcrição Ets, Etv4 e Etv5, enquanto o marco de delimitação da expressão de Shh é posicionado por Ets1/Gabpa. Mutações pontuais na SRZ que alteram a ligação dos fatores de transcrição Ets resultam na expressão ectópica de Shh na região cranial do broto do membro. Essas mutações causam polidactilia em camundongos, gatos, galinha e nos seres humanos.

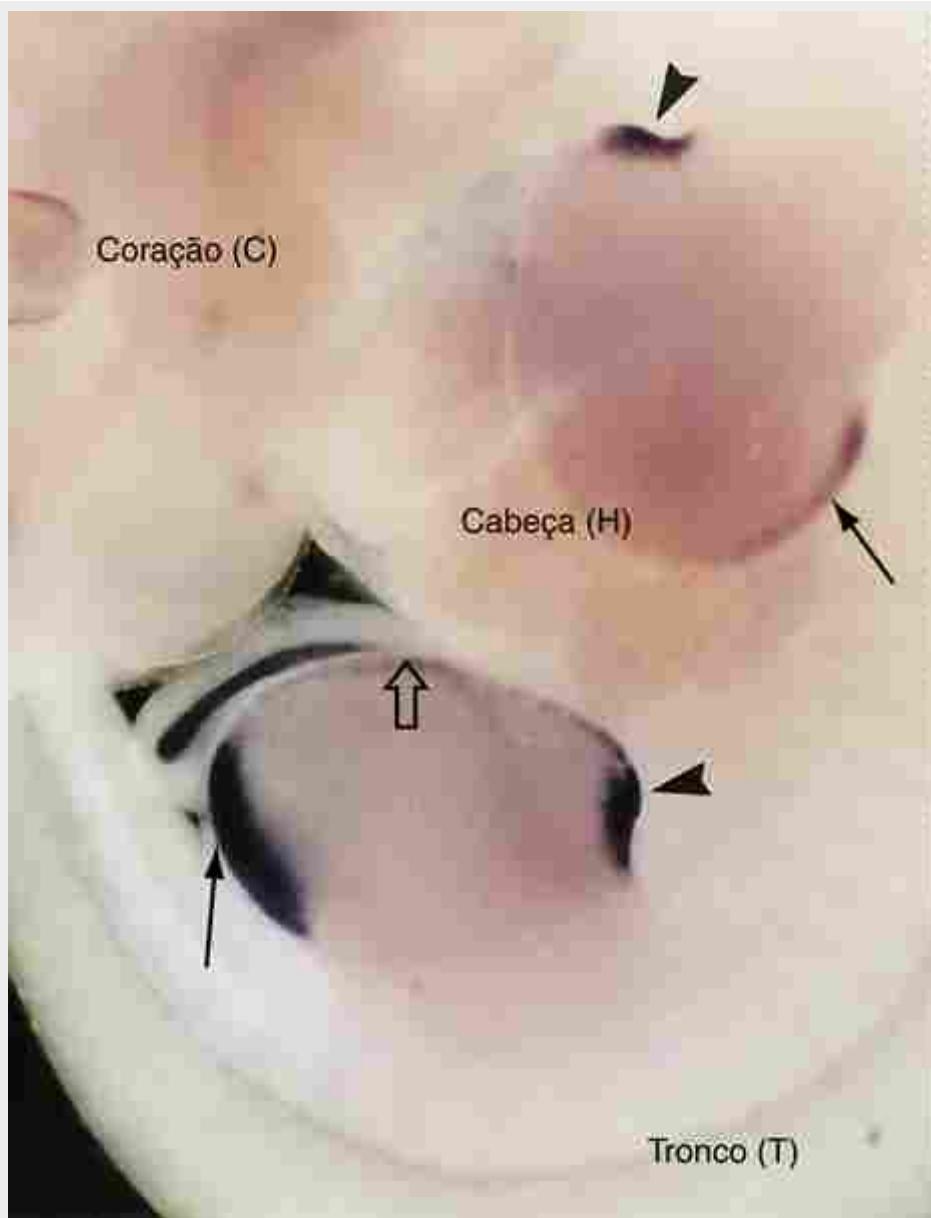


FIGURA 20-16 Expressão gênica no membro do camundongo mutante *Strong's luxoid* duplamente marcado com sondas para Shh e Fgf4. Hibridização *in situ* mostrando o RNAm de Shh em sua localização normal na zona de atividade de polarização (setas sólidas) nos brotos dos membros anteriores e posteriores, e em uma localização ectópica cranial em cada broto (cabeças de setas). Devido à expressão ectópica da Shh, a expressão de Fgf4, que é normalmente limitada à região caudal da CEA, está agora estendida ao longo da extensão craniocaudal da CEA (seta aberta). C, coração.

No broto do membro, a sinalização de Shh é mediada por Gli3. Na ausência de Shh, a Gli3 é processada em sua forma mais curta, que atua como um potente repressor transcricional (Gli3R; R indica a forma repressora). Na presença da sinalização de Shh, este processamento é evitado e, agora, a proteína Gli3, inteira, atua como um fraco ativador transcricional (Gli3A; A indica a forma ativadora). Gli3 está mutada no camundongo mutante Xt, que exibe polidactilia com seis a nove dígitos morfologicamente indistinguíveis (Fig. 20-15D). Como a função de Gli3, que normalmente restringe a expressão de Shh para o mesênquima caudal, está ausente, Shh é expresso ectopicamente no mesênquima cranial. No entanto, ao contrário dos mutantes polidáctilos discutidos anteriormente, a polidactilia não resulta de um excesso de sinalização de Shh, porque mutantes compostos Shh/Xt têm o mesmo fenótipo que mutantes Xt. O mutante duplo-composto mostra que a falha do crescimento do membro em mutante nulo para Shh é devido à expressão ectópica de Gli3R no mesênquima caudal. Portanto, na ausência de Shh e Gli3 funcionais, o crescimento pode ocorrer e os membros se formam, mas os dígitos não são padronizados. Consequentemente, pode-se concluir que o número e padronização dos dígitos são efetivamente determinados pelos níveis de Gli3R.

Especificação do eixo dorsoventral

O terceiro eixo do membro, o eixo dorsoventral, é regulado primeiro por sinais a partir do mesênquima e, em seguida, a partir do ectoderma. Se apenas o revestimento ectodérmico do broto do membro for rotacionado a 180° cirurgicamente em relação ao mesênquima, a polaridade dorsoventral dos elementos esqueléticos que serão subsequentemente formados é invertida. Wnt7a, que é expresso no ectoderma dorsal, é um dos reguladores da padronização dorsoventral. Em camundongos knockout para Wnt7a, as patas são ventralizadas, com almofadas do pé formadas na superfície dorsal. A atividade do Wnt7a é mediada pelo gene *homeobox Lmx1b*, que é expresso no mesênquima dorsal. Os membros de camundongo mutante para Lmx1b não apresentam estruturas dorsais, enquanto a expressão ectópica de Lmx1b nos brotos dos membros do embrião de galinha dorsaliza o membro. A mutação do LMX1B em humanos leva à **síndrome da unha-patela**, indicando que as estruturas dorsais no membro (*i. e.*, unhas e patelas) são principalmente afetadas quando este gene não é funcional. O Wnt7a também regula a expressão de Shh. Assim, em camundongos knockout para Wnt7a, além de defeitos na padronização dorsoventral, ocorrem anormalias no crescimento do membro e no desenvolvimento de dígitos caudais. Do mesmo modo, as mutações de WNT7A em humanos resultam em unhas hipoplásicas/aplásicas, palmas dorsais ectópicas e defeitos de desenvolvimento caudal do membro (**síndrome de Fuhrmann**). O fator de transcrição *homeobox engrailed 1* é expresso no ectoderma ventral e impede a expressão de Wnt7a na parte ventral do membro, restringindo o posicionamento da CEA no limite do eixo dorsoventral. Em camundongos nulos para *engrailed 1*, o Wnt7a é expresso ectopicamente no ectoderma ventral, a região ventral do broto do membro é dorsalizada e CEAs ectópicas ou bifurcadas são formadas. A sinalização por Bmp no ectoderma ventral induz a expressão de *engrailed 1* no ectoderma ventral, a expressão de *Gremlin* no mesênquima e a expressão inicial de Fgf8 na CEA (Fig. 20-17). Assim, a sinalização por Bmp inicialmente estabelece o eixo dorsoventral em conjunto com a via de sinalização de Shh-Fgf que mantém o crescimento ao longo do eixo proximodistal. Este papel inicial de Bmp na indução da expressão do Fgf8 contrasta com o seu papel mais tardio no desenvolvimento do membro, que é inibir a função da CEA (abordado na próxima seção deste quadro “No Laboratório de Pesquisa”).

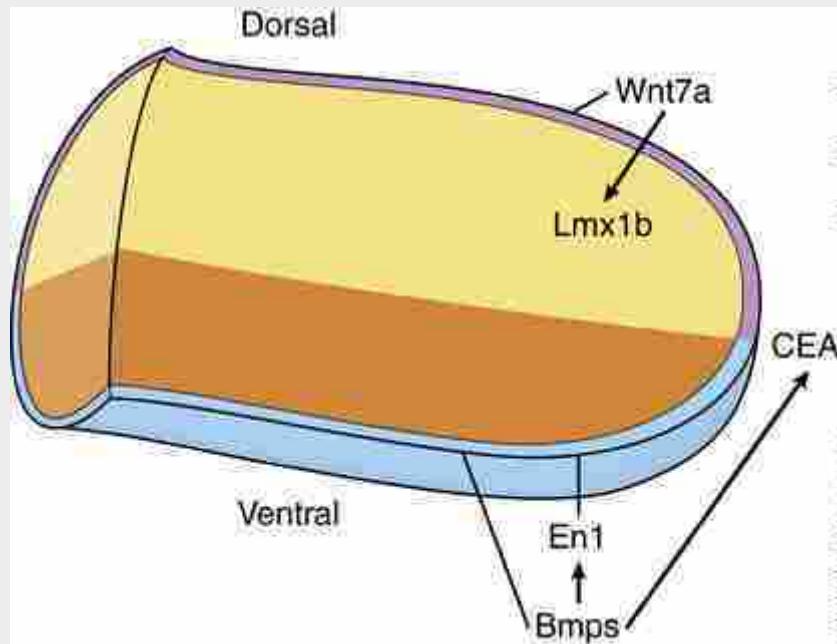


FIGURA 20-17 Esquema mostrando as interações de sinalização que estabelecem o padrão dorsoventral do membro.

Término do crescimento do membro e morfogênese do autópole

A CEA é uma estrutura embrionária transitória que regredie quando a padronização do membro termina. A CEA regredie inicialmente sobre a região interdigital, mas permanece localmente sobre os dígitos em desenvolvimento, que continuam a se alongar. Assim, uma vez que os raios digitais começaram a se formar, o número de falanges, seu comprimento e a identidade dos dígitos são controladas pela duração da sinalização do Fgf8. Por exemplo, a manutenção da expressão do Fgf através da adição de bilhas de Shh dentro do mesênquima interdigital, ou a expressão errada de um antagonista Bmp na CEA prolonga o crescimento do membro e pode aumentar o número de falanges que se formam. Em asas de morcego em desenvolvimento, uma segunda fase de expressão de Shh prolonga o crescimento do dígipto. A degeneração da CEA é o resultado do aumento dos níveis da sinalização de

Bmp, que inibe a expressão do Fgf8 na CEA. O aumento na sinalização do Bmp é devido à perda de expressão de *Gremlin* no mesênquima do membro distal.

No embrião de galinha, a identidade de cada dígitos é modulada neste estágio tardio de desenvolvimento por diferentes níveis de sinalização de Bmp de cada região do mesênquima interdigital caudal adjacente, que expressa Bmp2, 4 e 7. Se esse mesênquima for removido, o dígitos imediatamente cranial será cranializado. Por exemplo, a remoção do mesênquima interdigital entre os dígitos 3 e 4 irá resultar na transformação morfológica do dígitos 3 para um dígitos com a identidade de dígitos 2 (*i.e.*, uma transformação homeótica). Além disso, a bissecção do dígitos três em desenvolvimento com a inserção de um pedaço de papel laminado para evitar cicatrização, resulta na formação de um dígitos ectópico: o dígitos caudal tem a identidade original (neste caso, de dígitos 3), enquanto o dígitos que surge da parte cranial do dígitos bisseccionado tem as características do dígitos 2. A sinalização de Bmp mantém uma subpopulação de células no mesênquima distal (RFF, região formadora de falange) que vai dar origem as falanges (Fig. 20-18). Cada RFF está associada com nível único de sinalização do Bmp. Refletindo o papel da sinalização do Bmp durante este estágio tardio de desenvolvimento, muitos braquidáctilos em humanos ocorrem devido a mutações genéticas que afetam diretamente (p. ex., GDF5/BMPR1B) ou indiretamente (p. ex., IHH) os níveis da sinalização de Bmp.

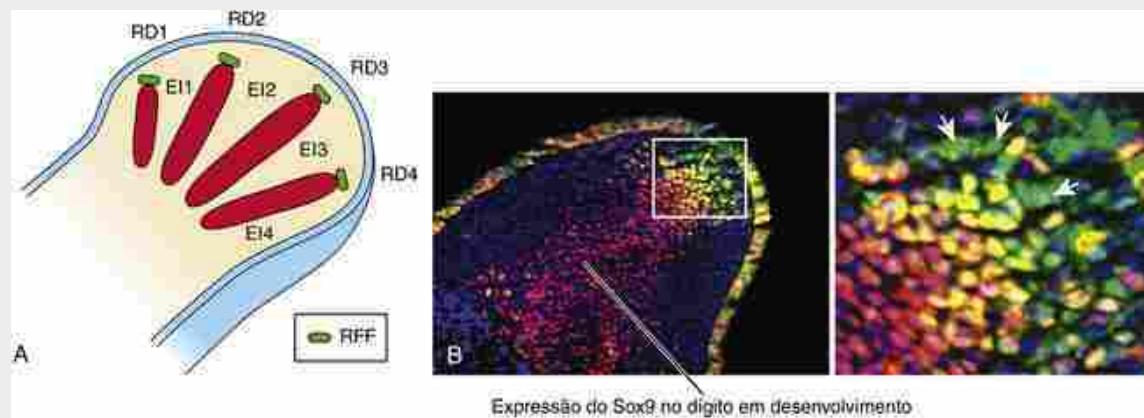


FIGURA 20-18 A Atividade Bmp na região formadora da falange (RFF; região verde em A e células verdes em B) determina a identidade do dígitos. **A**, Desenho mostrando o autópole do membro posterior do embrião de galinha. RD1-4, raios digitais 1-4; EI1-4, espaços interdigitais 1-4; os dígitos em condensação são indicados em vermelho. **B**, Secção da região distal do RD3 em um embrião E13.5 de camundongo. O quadrado tem sua área ampliada no painel à direita. A coloração verde (setas) mostra a marcação pSmad (indicando a atividade de Bmp), e a coloração vermelha mostra a expressão de Sox9 (marcador de diferenciação de cartilagem) no dígitos 3 em formação. Células que expressam Sox9 na região mais distal do dígitos em condensação mostram também atividade pSmad (amarelo).

A remoção do mesênquima interdigital envolve a **morte celular programada**, ajudando a liberar os dígitos e permitindo a mobilidade necessária para realizar tarefas especializadas. Essa remoção não ocorre na pata do pato, que é especializada para a natação, e, também, não ocorre na **sindactilia de tecido mole**, que é uma observação clínica frequente. A morte de células interdigitais requer a sinalização dos Bmps, metaloproteinases secretadas, Hoxd13 e ácido retinoico. A manipulação que aumenta a atividade do Bmp leva a um aumento da morte celular na zona necrótica interdigital (ZNI), enquanto a diminuição da atividade do Bmp em camundongos mutantes ou a expressão de receptores dominantes negativos para BMP no embrião de galinha, evita a morte de células da ZNI e leva à manutenção de uma membrana de tecido entre os dígitos. Bmps, em parte, medeiam a morte celular interdigital sinalizando para a CEA diminuir a expressão de fatores de sobrevivência celular, Fgf4 e 8. Consequentemente, o excesso de sinalização por Fgf pode resultar em sindactilia. Isto é visto na **Síndromes de Pfeiffer, Apert e Jackson-Weiss**, que acontecem devido à ativação constitutiva do receptor FGF e FGFR2. Hoxd13 regula a expressão do Raldh2, que sintetiza o ácido retinoico no mesênquima interdigital. A diminuição da expressão do Raldh2 pode contribuir para a sindactilia observada em humanos com mutações em HOXD13 (Fig. 20-23).

Outras regiões de morte celular programada são encontradas dentro da CEA, dentro do mesênquima no limite cranial da CEA e no mesênquima entre o rádio e ulna, ou entre fíbula e tibia. A função relacionada ao desenvolvimento dessas regiões de morte celular ainda não foi esclarecida, embora as regiões na margem da CEA possam determinar o comprimento da CEA e, consequentemente, o número de dígitos.

Na Clínica

Anomalias congênitas dos membros

Os seres humanos exibem uma ampla variedade de defeitos dos membros. Em geral, esses defeitos são divididos em quatro categorias. Em **defeitos de redução**, parte do membro está faltando, uma condição denominada **meromelia** (Fig. 20-19A), ou um membro inteiro está faltando, uma condição chamada **amelia** (Fig. 20-19B). Em **defeitos de duplicação**, estão presentes elementos supranumerários dos membros. Os exemplos incluem **polidactilia** (*i. e.*, a presença de dígitos inteiros extras; Fig. 20-19C) e **polegar trifalângeo**, no qual uma terceira falange está presente, em vez de apenas duas falanges (Fig. 20-19D). Em **displasias**, pode ocorrer a fusão de partes dos membros, como na **sindactilia** (ou seja, a fusão dos dígitos; Fig. 20-19E), ou o **crescimento desproporcional**, em que uma parte do membro é anormalmente maior, menor, mais longa ou mais curta, pode ser observado. Em **deformações**, quando forças físicas, por exemplo, a partir de **bandas amnióticas** danificam o membro em desenvolvimento (Fig. 20-19F). A Tabela 20-1 lista vários termos de uso comum para descrever os defeitos nos membros.

Tabela 20-1

ALGUNS TERMOS COMUNS PARA MALFORMAÇÕES DOS MEMBROS

Termo	Definição
Aqueiropodia	Ausência das mãos e dos pés
Adactilia	Ausência de todos os dígitos de um membro
Amelia, ectromelia	Ausência de um ou mais membros
Aracnodactilia	Dígitos alongados
Braquidactilia	Dígitos curtos
Camptodactilia	Contratura de flexão de um dedo (frequentemente do quarto ou quinto), que não pode ser estendido completamente
Clinodactilia	Curvatura do quinto dedo em direção ao quarto
Ectrodactilia	Divisões longitudinais do autópole em duas partes, frequentemente com ausência dos dígitos centrais (também denominada malformação da mão fendida ou pé fendido)
Meromelia	Ausência de uma parte do membro
Mesomelia	Zeugópole curto
Oligodactilia	Ausência de qualquer dedo da mão ou do pé
Focomelia	Ausência de estruturas proximais do membro
Polidactilia	Presença de dígitos extras ou de partes dos dígitos
Rizomelia	Estilópole curto
Sindactilia	Fusão dos dígitos
Sinostose	Fusão dos ossos ou dos tecidos moles intervenientes
Polegar trifalângeo	Polegar com três, ao invés de duas, falanges

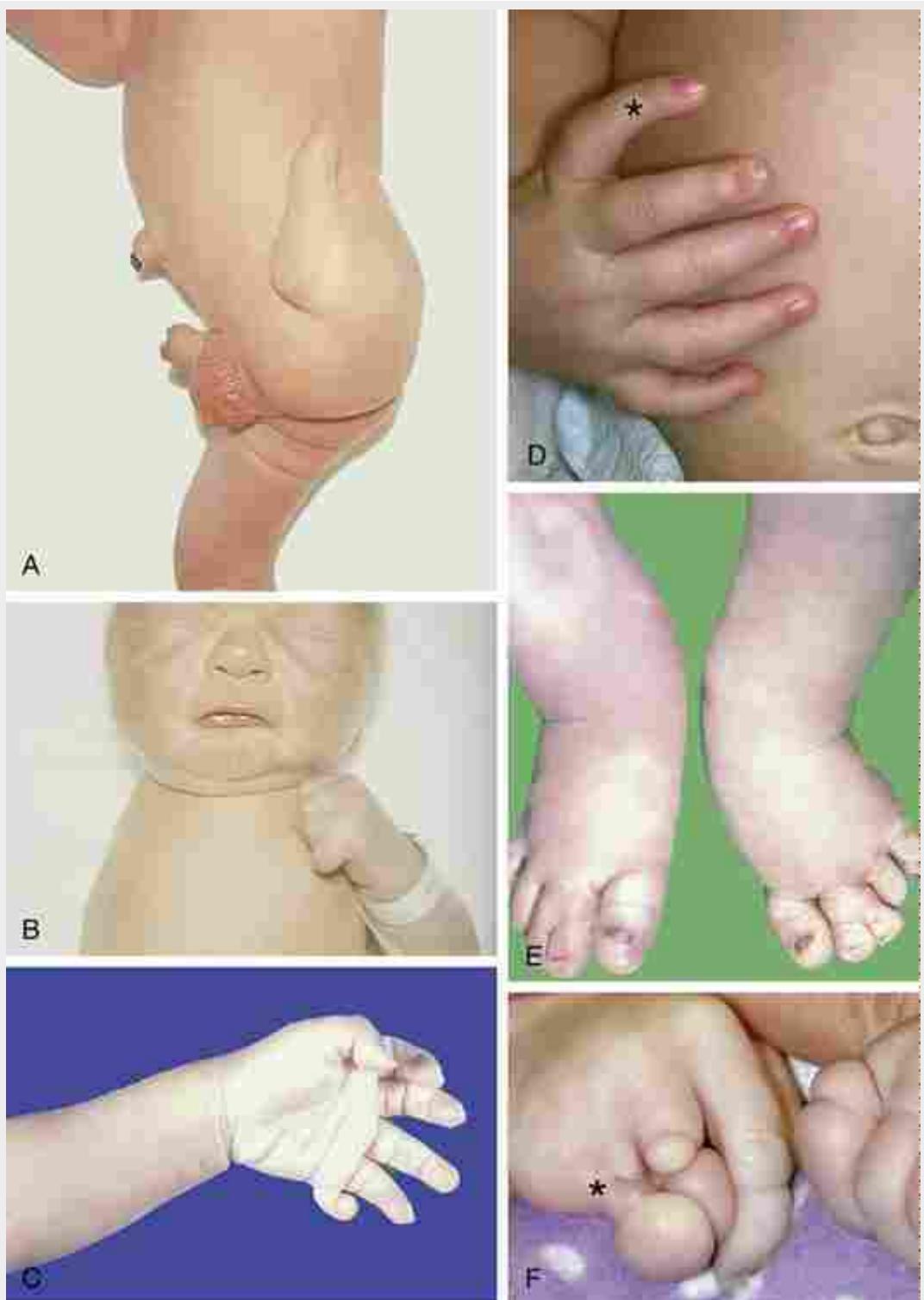


FIGURA 20-19 Defeitos dos membros em humanos. *A*, Meromelia. Neste exemplo, a extremidade distal do membro inferior esquerdo da criança não se formou completamente. *B*, Amelia. Neste exemplo, falhou a formação de todo o membro superior direito da criança. *C*, Polidactilia pós-axial (neste caso, seis dedos). *D*, Mão direita de uma criança apresentando polegar trifalângeo (asterisco; três falanges no dígito 1 em vez de duas). *E*, Pés de uma criança mostrando sindactilia; os elementos ósseos dos dedos dos pés 2 e 3 também são fusionados. *F*, Mão de uma criança com defeitos do membro terminal associados à banda amniótica. Note, na mão direita, a sindactilia (asterisco) proximal à constricção e o inchaço distal à constricção.

Adicionalmente a defeitos clinicamente significativos dos membros, tais como os que acabamos de descrever, pequenas anomalias (variações do normal) são relativamente comuns. Embora uma única **prega palmar transversa** (Fig. 20-20*A*) seja, frequentemente, vista em crianças com **trissomia do cromossomo 21** (síndrome de Down), tal variação também é encontrada em 4% dos recém-nascidos normais. A sindactilia cutânea entre os dedos 2 e 3 é considerada uma variante normal se a fusão se estende em menos de um terço do comprimento dos dedos (Fig. 20-

20B).



FIGURA 20-20 A, Uma única prega palmar transversal pode ocorrer em indivíduos com determinadas síndromes ou pode ser uma variante normal. B, Sindactilia cutânea dos dedos 2 e 3 do pé, sem fusão dos elementos ósseos. Este caso seria considerado uma variante normal porque a fusão cutânea se estende por menos de um terço do comprimento dos dedos dos pés. Compare este caso com o mostrado na [Figura 20-19E](#).

Os defeitos esqueléticos dos membros são muito evidentes durante um exame de ultrassonografia e podem indicar uma síndrome mais generalizada devido a redes de sinalização de genes compartilhadas. Por exemplo, 15% das polidactilias estão associadas a outros defeitos e podem indicar um defeito na sinalização de Shh. Uma anormalidade radial pode indicar síndrome de Holt-Oram, também caracterizada por anormalidades cardíacas, TAR (trombocitopenia e ausência de rádio), ou anemia de Fanconi. A deformidade “sandal-gap”, na qual o dedão e o segundo dedo são afastados, ocorre em 45% dos pacientes com síndrome de Down, embora também seja uma variante normal. A detecção de anomalias do membro no exame de ultrassonografia pode ser o primeiro passo em direção ao diagnóstico precoce de uma síndrome, o qual irá ajudar no aconselhamento parental e, em alguns casos, pode resultar em terapias fetais ([Cap. 6](#)).

Causas Genéticas das Anomalias nos Membros

Várias mutações genéticas que causam anomalias nos membros devido a alterações na padronização, no crescimento, ou na diferenciação celular foram caracterizadas em seres humanos. A criação de modelos animais tem também destacado a conservação das vias de sinalização em todas as espécies. Por exemplo, mutações em WNT3 (um membro da família Drosophila Wingless) foram associadas à **tetramelia** em seres humanos e em outros vertebrados, refletindo a necessidade da sinalização de Wnt na formação inicial e no crescimento do broto do membro.

Shh é o ator principal no desenvolvimento dos membros e não surpreende saber que a perda do SHH resulta em **aqueirotopodia**, um grave defeito que envolve ausência das mãos e dos pés. Isso é devido a uma enorme deleção (5-6 Kb) no gene LMBR1, que é adjacente ao gene SHH, e, muito provavelmente, perturba os elementos regulatórios que controlam a expressão de Shh na região caudal do broto do membro. A expressão de Shh na ZAP é também regulada por uma sequência reguladora da ZAP altamente conservada (SRZ), que promove a expressão de Shh na ZAP, enquanto inibe a expressão ectópica de Shh no mesênquima anterior. Mutações pontuais na SRZ que causam polidactilia, como um resultado da expansão da ZAP ou da expressão ectópica na região cranial broto do membro, foram identificadas nos seres humanos, bem como em outras espécies. Nos seres humanos, essas duplicações pré-

axiais variam desde um fenótipo mais suave de um **polegar trifalângeo**, até fenótipos mais graves de vários dígitos adicionais (**polidactilia**) nas mãos e/ou pés (um exemplo de uma duplicação grave nos seres humanos, embora sua causa genética seja desconhecida, é mostrado na Fig. 20-21).



FIGURA 20-21 Pé de uma criança com mãos e pés duplicados e espelhados (síndrome de Laurin-Sandrow). Embora a causa da duplicação seja desconhecida nessa síndrome, com base em experimentos em animais modelo, é provável que envolva a sinalização ectópica do Shh no mesenquima da região cranial do broto do membro.

Gli3, um componente da sinalização de Shh, é essencial para desenvolvimento do broto do membro. Camundongos mutantes heterozigotos e homozigotos para Gli3 têm membros polidactilos, mostrando que o nível da expressão de Gli3 controla o número de dígitos (Fig. 20-15D). Mutações em GLI3 resultam em **síndrome dacefalopolissindactilia de Greig**, **síndrome de Pallister-Hall** e **polidactilia pós-axial tipo A**, todas caracterizadas por polidactilia. A síndrome da cefalopolissindactilia de Greig caracteriza-se por polidactilia pré-axial e pós-axial dos pés e das mãos, respectivamente e é devido à perda da função de uma cópia de GLI3 (*i. e.*, haploinsuficiência). Em contraste, a síndrome de Pallister-Hall é caracterizada por polidactilia central ou isercional e acredita-se que proteínas GLI3 mutantes retêm parte da atividade repressora de GLI3.

Fatores mesenquimais que regulam a expressão de Shh também resultam em defeitos dos membros. Uma mutação em TBX3 resulta em uma doença autossômica dominante denominada **síndrome ulnar-mamária**. Nessa síndrome, o lado caudal do membro é afetado, com a redução ou a perda completa da ulna e dos dígitos posteriores, bem como defeitos nas glândulas mamárias. Este fenótipo é recapitulado no camundongo mutante

para Tbx3, onde a análise dos brotos dos membros mostrou que Shh não é expresso, explicando a perda de estruturas caudais do membro. Dois outros fatores de transcrição T-Box, Tbx4 e Tbx5, são restritos ao membro posterior e membro anterior, respectivamente; isso se reflete nas síndromes humanas resultantes de mutações nesses genes. A mutação em TBX4 causa a **síndrome da Patela Pequena**, enquanto a mutação em Tbx5 resulta na **síndrome de Holt-Oram**, que afeta o membro anterior (mas não o membro posterior) e o coração. A mutação em PITX1, que regula a expressão de TBX4, resulta no **pé torto congênito (pé equinovaro)** ([Fig. 20-25](#)), que pode incluir hipoplasia patelar e hemimelia tibial.

A indução e manutenção da CEA são essenciais para o crescimento do membro. Mutações no fator de transcrição TP73L (também conhecido como P63) resultam na **síndrome da(o) mão fendida/pé fendido tipo 4** ([Fig. 20-22A](#)). Essas mutações podem levar também à **síndrome de ectrodactilia, displasia ectodérmica e fenda labiopalatina (EEC)**, que é, em parte, também caracterizada por uma anomalia de mão fendida e pé fendido (condição referida como **ectrodactilia**). Em camundongos mutantes para p63, a CEA não se forma adequadamente e há a diminuição da sinalização de Fgf8, proporcionando um mecanismo potencial, já que a CEA (ou parte da CEA) pode sofrer degeneração prematuramente. Os fatores de transcrição Dlx5 e Dlx6 são expressos na CEA, e a anomalia da mão fendida ou pé fendido também é vista em camundongos duplo-mutantes para Dlx5/6. Nesses duplos mutantes, a análise de marcadores da CEA mostra claramente que a CEA degenera centralmente, fornecendo um mecanismo para a perda dos dígitos centrais ([Fig. 20-22B, C](#)). Mutações em DLX5 também foram identificadas em seres humanos com a síndrome da mão fendida e do pé fendido.

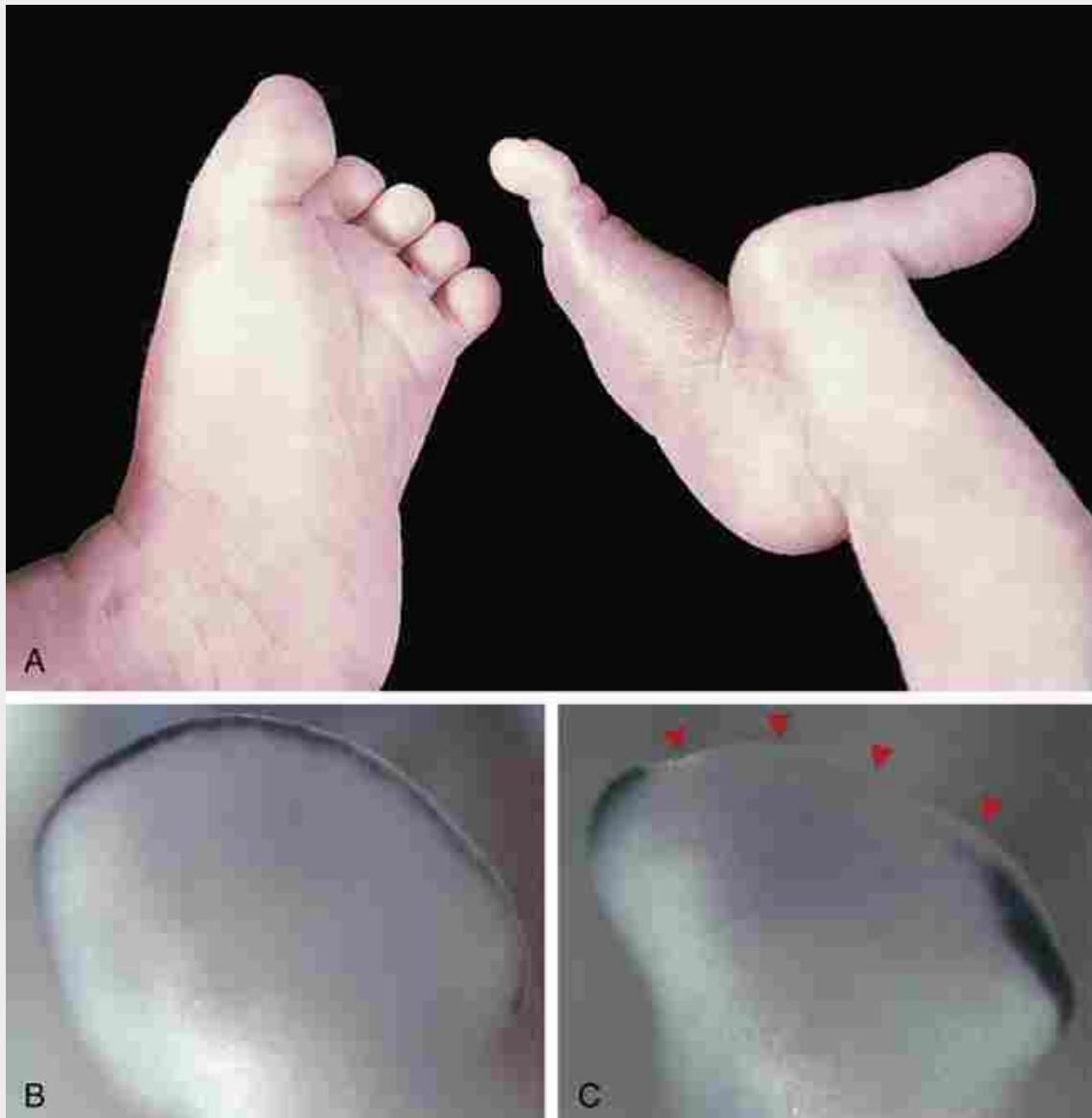


FIGURA 20-22 Anomalia do pé fendido. A, Fotografia mostrando uma criança com anomalia unilateral do pé fendido. B, C, A expressão de Fgf8 em um broto de membro de um camundongo selvagem e em um broto de membro de um camundongo duplo mutante para Dlx5/6. Note a ausência da expressão de Fgf8 na região central da crista ectodérmica apical (cabeças de seta vermelhas). É provável que a falha dessa porção da crista em se desenvolver adequadamente explique as anomalias de mão fendida e pé fendido, como mostrado na parte A.

Refletindo seus papéis no crescimento e na padronização do membro, as mutações na família de genes Hox foram identificadas em síndromes humanas. A mutação em HOXD13 resulta em **simpolidactilia** e **braquidactilia dos tipos D e E** (Fig. 20-23), enquanto a mutação em HOXA13 resulta na **síndrome mão-pé-genital**. Mutações em HOXD11 resultam em defeitos em estruturas mais proximais do membro como na **sinostose radioulnar** (fusão parcial ou completa do rádio com a ulna) com **síndrome de trombocitopenia amegacariocítica**. Os efeitos diferenciais de mutações no HOXD13 e HOXD11 sobre o autopóde e zeugópode refletem suas necessidades diferenciais na padronização e crescimento dessas regiões do membro (Figs. 20-8, 20-9 e 20-10).

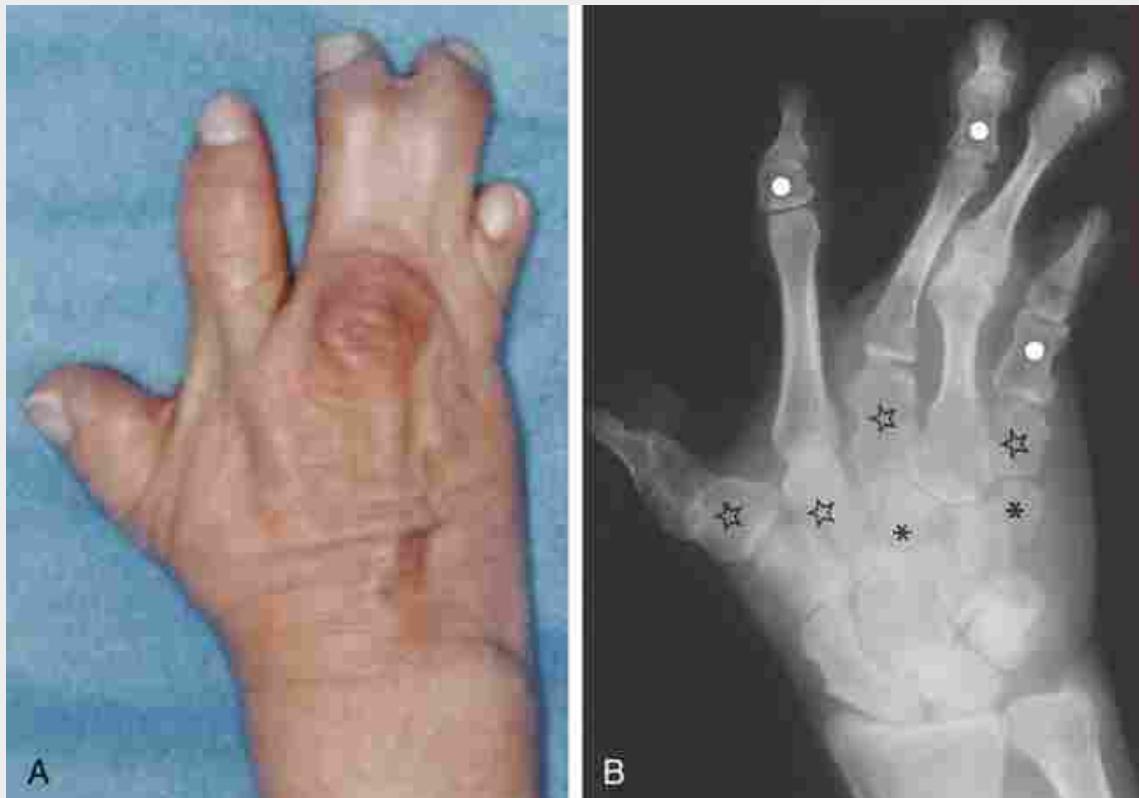


FIGURA 20-23 Mão (A) e radiografia (B) de um indivíduo homozigoto com uma mutação em HOXD13. Note a sindactilia dos dedos 3 a 5, seu nó único, a transformação dos metacarpos I, II, III e V em ossos curtos semelhantes aos ossos do carpo (estrelas), dois ossos do carpo adicionais (asteriscos) e as segundas falanges curtas (pontos brancos) nos dedos 2, 3 e 5. O rádio, a ulna e os ossos proximais do carpo parecem normais.

Uma síndrome de malformação múltipla clássica, que está associada com anomalias dos membros, é a **síndrome de Cornélia de Lange** (SCdL), primeiramente descrita em 1933. A maioria dos pacientes com esta síndrome tem anomalias nos membros superiores que variam desde mãos pequenas até uma redução severa dos membros (Fig. 20-24). Foi descoberto, recentemente, que 50% dos pacientes com SCdL apresentam mutações no gene NIPBL (ortólogo do gene de *Drosophila nipped-B-like*), que codifica para uma proteína chamada DELANGINA. A função desta proteína é obscura, mas parece regular a atividade de outros genes envolvidos no desenvolvimento, através de seu papel na regulação da organização da cromatina.



FIGURA 20-24 Defeito grave no membro superior de uma criança com a síndrome de Cornélia de Lange. O autópode termina em um único dígito (monodactilia).

Uma vez especificados, os elementos esqueléticos devem crescer adequadamente. A braquidactilia, o encurtamento das falanges, é causada por uma variedade de mutações (GDF5, ROR2, IHH) que afetam a geração e diferenciação de precursores condrogênicos na extremidade do membro pela diminuição da sinalização de Bmp (Fig. 20-18). A braquidactilia também pode ser causada por um defeito no crescimento placa que se forma nas epífises das falanges em desenvolvimento (p. ex., mutações de ganho de função de FGFR3 que diminuem o número de precursores condrogênicos proliferando dentro da placa de crescimento; o Cap. 8 fornece mais informações).

As mutações descritas anteriormente ilustram as consequências de fatores que mudam a padronização e o crescimento do broto do membro, porém a morte celular também deve ocorrer dentro do mesênquima interdigital para esculpir os membros. Falhas na morte celular resultarão em sindactilia, que pode ser simples, envolvendo apenas os tecidos moles, ou complexa, envolvendo as fusões ósseas. Todas as mutações nos fatores que controlam essa morte celular (FGFR2, HOXD13) estão ligadas à sindactilia (Fig. 20-23).

Causas Não Genéticas dos Defeitos nos Membros

Tal como acontece com outras regiões do corpo, mutações genéticas e causas ambientais podem resultar em anomalias. Foi mostrado que uma variedade de drogas e **teratógenos** ambientais podem causar defeitos nos membros em animais experimentais. Alguns desses agentes estão associados com defeitos nos membros em seres humanos. Agentes que influenciam o metabolismo celular geral ou a proliferação celular são prováveis causadores de defeitos nos membros, se administrados durante o período de morfogênese do membro. Tais agentes incluem drogas quimioterápicas como a **5'-fluor-2-desoxiuridina**, um inibidor da timidilato sintetase, e a **acetazolamida**, um inibidor da anidrase carbônica usado no tratamento do glaucoma.

Outras drogas que induzem malformações do membro em animais de laboratório e em seres humanos são os anticonvulsivantes **ácido valproico** e a **fenoína**, o anticoagulante **varfarina** e (como discutido no “Caso Clínico” deste capítulo) a droga anti-hansônica e anticancerígena **talidomida** (também usada para tratar úlceras na boca e na garganta relacionada com o HIV). Drogas não terapêuticas que podem induzir malformações em membros incluem o **álcool** e a **cocaína**. Crianças com a **síndrome alcoólica fetal** podem ter hipoplasia dos dígitos distais, contraturas articulares e defeitos radiais do membro. O abuso de cocaína durante a gravidez está associado a defeitos de redução dos membros.

Fatores ambientais maternofetais associados a defeitos no membro incluem: **diabetes gestacional**, **varicela congênita** e **hipertermia**. Os defeitos dos membros também podem resultar de fatores físicos. Por exemplo, uma constrição do útero causado por **oligoidrâmnia** (líquido amniótico insuficiente; Cap. 6) ou movimentação fetal

reduzida pode resultar na deformidade do pé torto (talipe equinovaro; [Fig. 20-25](#)), e a coleta de amostras de vilosidades coriônicas iniciais foi associada a um aumento da frequência de malformações dos membros. O comprometimento vascular no feto, devido à malformação dos vasos ou a formação de coágulos, tem sido proposto como a causa das anomalias unilaterais dos membros observadas na **anomalia de Poland**.



FIGURA 20-25 Recém-nascido com deformidade de talipe equinovaro bilateral (pé torto congênito).

As origens teciduais das estruturas dos membros

Quimeras de transplante codorna-galinha e camundongos geneticamente modificados nos quais populações embrionárias específicas (p. ex., crista neural) são permanentemente marcadas com LacZ ([Cap. 5](#)) foram utilizados para estudar populações de células que darão origem a vários tecidos dos membros. Esses estudos demonstraram que o mesoderma da placa lateral origina os **ossos**, **ligamentos**, **tendões** e a **derme** dos membros. Em contraste, a **musculatura** e as **células endoteliais** do membro migram para o broto do membro em desenvolvimento a partir dos somitos ([Cap. 8](#)), e **melanócitos** e as **células de Schwann** são derivados de células da crista neural que migram para os membros (como ocorre em outros lugares no corpo; [Cap. 4](#)).

Diferenciação dos ossos dos membros

Com a exceção da clavícula, que é, em parte, um osso membranoso, os elementos esqueléticos do membro se formam por ossificação endocondral ([Cap. 8](#)). O mesênquima dos brotos dos membros começa a se condensar na 5^a semana. Em geral, os ossos do membro superior formam-se um pouco mais cedo que os ossos no membro inferior. Os elementos proximais (ou seja, o fêmur e úmero no estilópode) se diferenciam primeiro e os elementos distais (ou seja, os dígitos no autópode) se diferenciam por último.

No fim da 5^a semana, a condensação mesenquimal que originará o esqueleto da região proximal do membro (escápula e úmero no membro superior; e ossos pélvicos e fêmur no membro inferior) é evidente. No início da 6^a semana, os rudimentos mesenquimais do esqueleto da região distal do membro são evidentes nos membros superiores e inferiores e a formação de cartilagem se inicia no úmero, ulna e rádio. No final da 6^a semana, os elementos do carpo e metacarpos também já começam a passar pela condrogênese. No membro inferior, o fêmur, a tibia e (em menor escala) a fíbula começam a sofrer condrogênese na metade da 6^a semana, enquanto os ossos do tarso e metatarsos começam próximo do fim da 6^a semana. No início da 7^a semana, todos os elementos esqueléticos do membro superior, exceto as falanges distais do 2º ao 5º dígitos, já se encontram em processo de condrogênese. No final da 7^a semana, as falanges distais da mão começaram a condrogênese e este processo também está ocorrendo em todos os elementos esqueléticos do membro inferior, exceto nas falanges distais. As falanges distais dos dedos do pé não iniciam a condrogênese antes da 8^a semana.

Os centros de ossificação primária da maioria dos ossos longos dos membros aparecem no período entre a 7^a e a 12^a semana. No início da 7^a semana começa a ossificação da clavícula, seguida do úmero, rádio e ulna no final da 7^a semana. A ossificação do fêmur e da tibia começa na 8^a semana. Durante a 9^a semana, a escápula e o ílio começam a ossificar, seguidos nas próximas três semanas pela ossificação dos metacarpos, metatarsos, falanges distais, falanges proximais e, finalmente, pelas falanges médias. O ísquio e a púbis começam a ossificar na 15^a e na 20^a semana, respectivamente, e a ossificação do calcâneo finalmente começa por volta da 16^a semana. Alguns dos ossos menores do carpo e do tarso não começam a ossificação até a primeira infância.

As **articulações sinoviais** (discutidas no [Cap. 8](#)) separam a maioria dos elementos esqueléticos. As **sincondroses** ou **articulações fibrosas**, como as que conectam os ossos da pelve, se desenvolvem a partir das zonas localizadas entre os elementos ósseos em formação, mas o mesênquima dessas zonas simplesmente se diferencia em uma única camada de fibrocartilagem.

Inervação do membro em desenvolvimento

Como descrito no [Capítulo 10](#), cada nervo espinal se divide em dois ramos principais, os ramos dorsal e ventral, pouco depois de sair da medula espinal. Os músculos do membro são inervados por ramificações dos ramos ventrais dos nervos espinais de C5 até T1/T2 (para o membro superior) ([Figs. 20-26 e 20-27](#)), e de L4 até S3 (para o membro inferior). Músculos originários da massa muscular dorsal são servidos por ramificações dorsais desses ramos ventrais (derivados dos neurônios da CLMl; discutido no próximo quadro “No Laboratório de Pesquisa”, intitulado “Especificação e Projeção dos Axônios Motores do Membro”), enquanto os músculos originários da massa muscular ventral são servidos por ramificações ventrais dos ramos ventrais (derivados dos neurônios da CLMm; também discutido no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação e Projeção dos Axônios Motores do Membro”). Assim, a inervação do músculo revela se ele foi originado na massa muscular dorsal ou ventral.

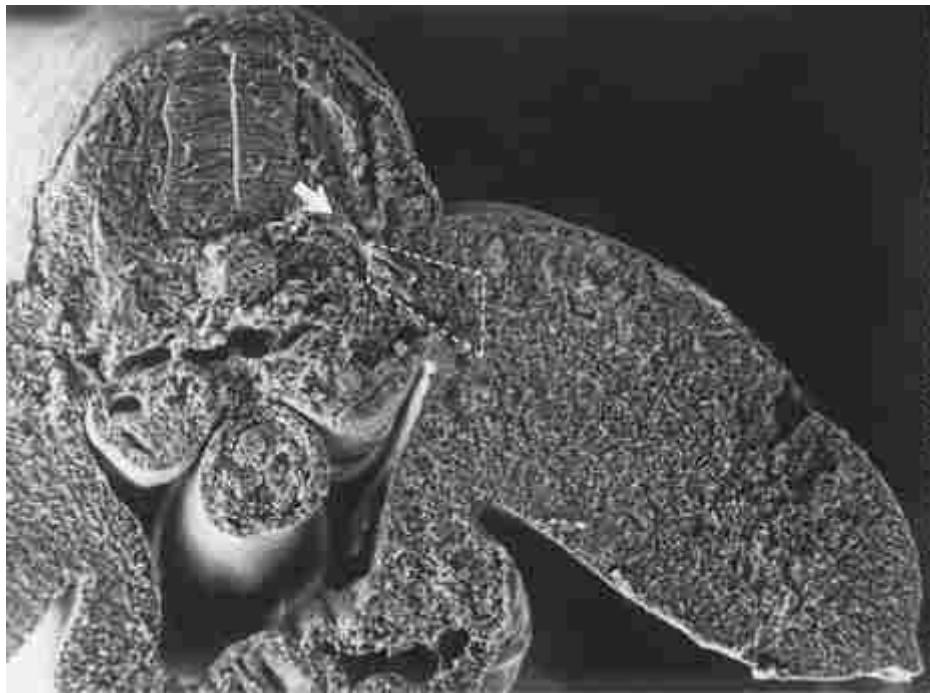


FIGURA 20-26 Imagem de microscopia eletrônica de varredura de um embrião seccionado transversalmente mostrando axônios (seta) entrando na base do broto do membro (área delimitada por linha tracejada).

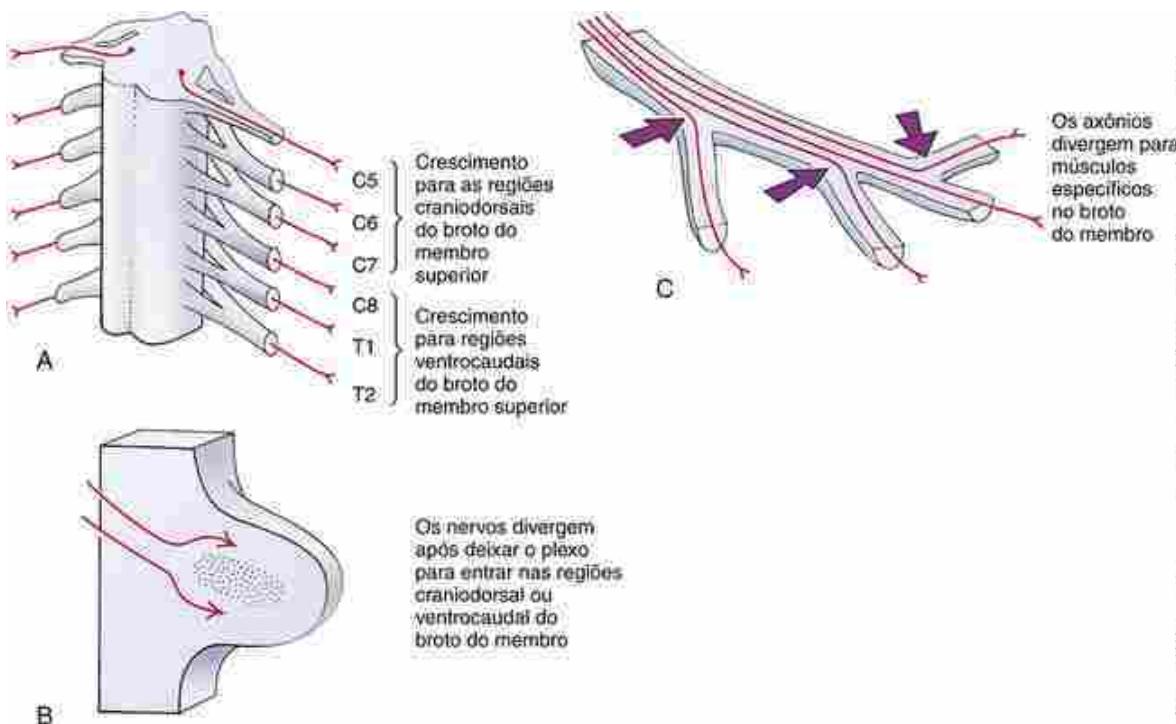


FIGURA 20-27 Crescimento dos axônios do nervo espinal para dentro dos brotos dos membros. *A, B*, Axônios crescem para dentro dos brotos dos membros ao longo das vias permissivas. À medida que os axônios de vários nervos espinais se misturam na base dos brotos dos membros para formar os plexos braquial e lombossacral, cada axônio deve “decidir” se irá crescer para dentro da massa muscular dorsal ou da massa muscular ventral. Os fatores que podem desempenhar um papel no direcionamento do crescimento axonal incluem as áreas de mesênquima denso ou mesênquima contendo glicosaminoglicanos, que são evitados por axônios em crescimento. *C*, Uma vez que os axônios crescem para dentro do broto, os pontos de decisão (setas) sob o controle de “fatores locais” podem regular a invasão de primórdios musculares específicos por axônios específicos.

Como ilustrado na [Figura 20-27](#), os axônios motores que inervam os membros realizam uma intrincada exploração

para atingir os seus músculos alvo. Esse processo não é dependente nos músculos, já que os axônios normalmente migram nos membros desprovidos de músculos. Os axônios do ramo ventral destinados para os membros, aparentemente, cursam para a base do broto do membro pelo crescimento ao longo de **vias permissivas**. Os **cones de crescimento** desses axônios evitam ou são incapazes de penetrar em regiões de mesênquima denso ou mesênquima contendo glicosaminoglicanos. Os axônios em direção ao membro inferior são desviados em torno da origem do desenvolvimento pélvico. Nos brotos dos membros superiores e inferiores, os axônios dos oriundos de nervos craniais ao broto do membro crescem em direção à sua região craniodorsal, enquanto os axônios dos nervos caudais ao broto do membro crescem em direção à sua região ventrocaudal ([Fig. 20-27](#)).

Uma vez que os axônios motores chegam à base do broto do membro, eles se misturam em um padrão específico para formar o **plexo braquial** do membro superior e o **plexo lombossacral** do membro inferior. Essa zona constitui, assim, uma **região de tomada de decisão** para os axônios (discutido no quadro “No Laboratório de Pesquisa” intitulado “Especificação e Projeção dos Axônios Motores do Membro”).

Quando os axônios se organizam nos plexos, os cones de crescimento continuam para dentro do broto do membro, presumivelmente, deslocando-se ao longo de vias permissivas que os orientam na direção do compartimento muscular adequado. Os axônios oriundos das divisões dorsais dos plexos tendem a crescer na região dorsal do broto de membro e, portanto, inervam principalmente os músculos extensores, supinadores e abdutores; axônios oriundos das divisões ventrais do plexo crescem na região ventral do broto do membro e, portanto, inervam principalmente os músculos flexores, pronadores e adutores. A respeito da parte final do caminho do axônio, a trajetória axonal, provavelmente, é regulada por estímulos produzidos pelo próprio músculo. De modo semelhante, as diferenças locais em moléculas de superfície celular entre as fibras musculares, provavelmente, direcionam a ramificação final e a distribuição dos axônios dentro dos músculos específicos.

Como mencionado anteriormente neste capítulo ([Fig. 20-11](#)), os brotos dos membros superiores e inferiores rotacionam a partir de sua orientação original: basicamente, a partir de uma orientação coronal para uma orientação parassagital. Posteriormente (entre a 6^a e a 8^a semana), eles também rotacionam em torno do seu eixo longo. O membro superior gira lateralmente, assim os cotovelos apontam caudalmente e a superfície ventral original do broto do membro torna-se a superfície cranial do membro. O membro inferior gira medialmente, assim os joelhos apontam cranialmente e a superfície ventral original do broto do membro torna-se a superfície caudal. Como mostrado na [Figura 20-28](#), essa rotação faz com que o padrão de segmentação, originalmente linear, de inervação do membro inferior gire em uma espiral. A rotação do membro superior é menos extrema que a do membro inferior e é alcançada, parcialmente, por meio da migração caudal da cintura escapular. Além disso, alguns dos dermatomos no broto do membro superior apresentam crescimento excessivo e passam a dominar a superfície do membro.

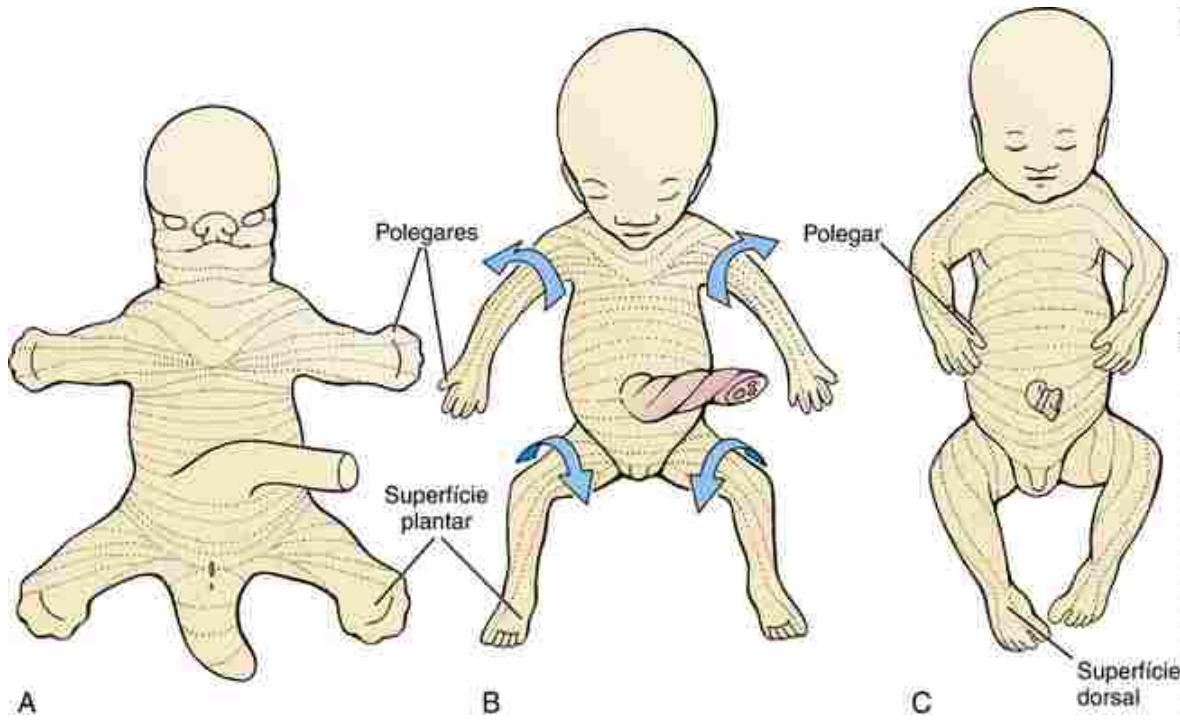


FIGURA 20-28 Rotação dos membros. A, B, C, Indicam as etapas sequenciais na rotação do membro

(setas em B). A rotação medial dramática dos membros inferiores entre a 6^a e a 8^a semana faz com que os dermátomas se organizem em espiral para baixo nos membros. A configuração dos dermátomas dos membros superiores é parcialmente modificada por uma rotação lateral mais limitada do membro superior durante o mesmo período.

No Laboratório de Pesquisa

Especificação e projeção dos axônios motores do membro

Acredita-se que vários fatores controlem a especificação axonal, migração e de projeção, incluindo as proteínas *homeobox* Hox e Lim, a sinalização de Eph/efrina, fatores de transcrição Et-S e moléculas de adesão celular, tais como as caderinas tipo II e NCAM. Os neurônios motores que inervam o broto do membro se formam nas **colunas laterais motoras** (CLM) dentro do tubo neural em resposta à sinalização por ácido retinóico proveniente do mesoderma paraxial. A CLM tem duas divisões que consistem de neurônios da CLMm (medial) e da CLMl (lateral), que se distinguem pela expressão diferencial de proteínas *homeobox* Lim e pela projeção para o mesênquima do membro ventral e dorsal, respectivamente. Neurônios da CLMm são positivos para Isl1 e Isl2, ao passo que os neurônios da CLMl expressam Lim1 e Lim2. Estudos de transplante mostraram que os axônios apresentam uma notável habilidade para alcançar seus alvos apropriados. Assim, se o tubo neural é ligeiramente deslocado ao longo do seu eixo craniocaudal, os axônios ainda são capazes de se projetar adequadamente, sendo guiados por uma combinação de sinais repulsivos/atrativos e quimioatrativos.

Os axônios da CLMm e CLMl migram ao longo de uma via comum em direção ao plexo, onde eles fazem uma pausa mudam seus vizinhos mais próximos: esse período de descanso e a temporização do crescimento para dentro do broto de membro são determinados por sinais do mesênquima do membro, como a efrina e semaforina 3A. Na junção do mesênquima que expressa Lmx1b com o mesênquima que não expressa Lmx1b, uma decisão é tomada para a penetração no mesênquima dorsal e ventral do membro (Fig. 20-29A). Os neurônios da CLMl precisam de Lim1 e seu alvo subsequente, EphA4, para se projetarem de forma adequada para o mesênquima dorsal. Os axônios EphA4 evitam o mesênquima ventral, que expressa altos níveis de efrina-A2 e efrina-A5. Na ausência de Lim1, os neurônios da CLMl se projetam aleatoriamente (Fig. 20-29B). Da mesma forma, em camundongos mutantes para EphA4, os neurônios da CLMl projetam-se de forma anormal, embora, nesse caso, todos eles entrem no mesênquima ventral do membro (Fig. 20-29C). Na situação inversa, a expressão ectópica de EphA4 faz com que os neurônios da CLMm se projetem dorsalmente. Interações repulsivas similares “forçam/guiam” os neurônios da CLMm a entrarem no mesênquima ventral: um subconjunto de neurônios da CLMm expressa o co-receptor secretado de semaforina, neuropilina 2, e, por isso, evitam o mesênquima dorsal que expressa semaforina 3F. A perda da função de Lmx1b, que controla a identidade dorsoventral dos membros

(discutido anteriormente no quadro “No Laboratório de Pesquisa” na seção intitulada “Especificação do Eixo Dorsoventral”), resulta na projeção aleatória dos neurônios tanto da CLMm quanto da CLMl (Fig. 20-29D).

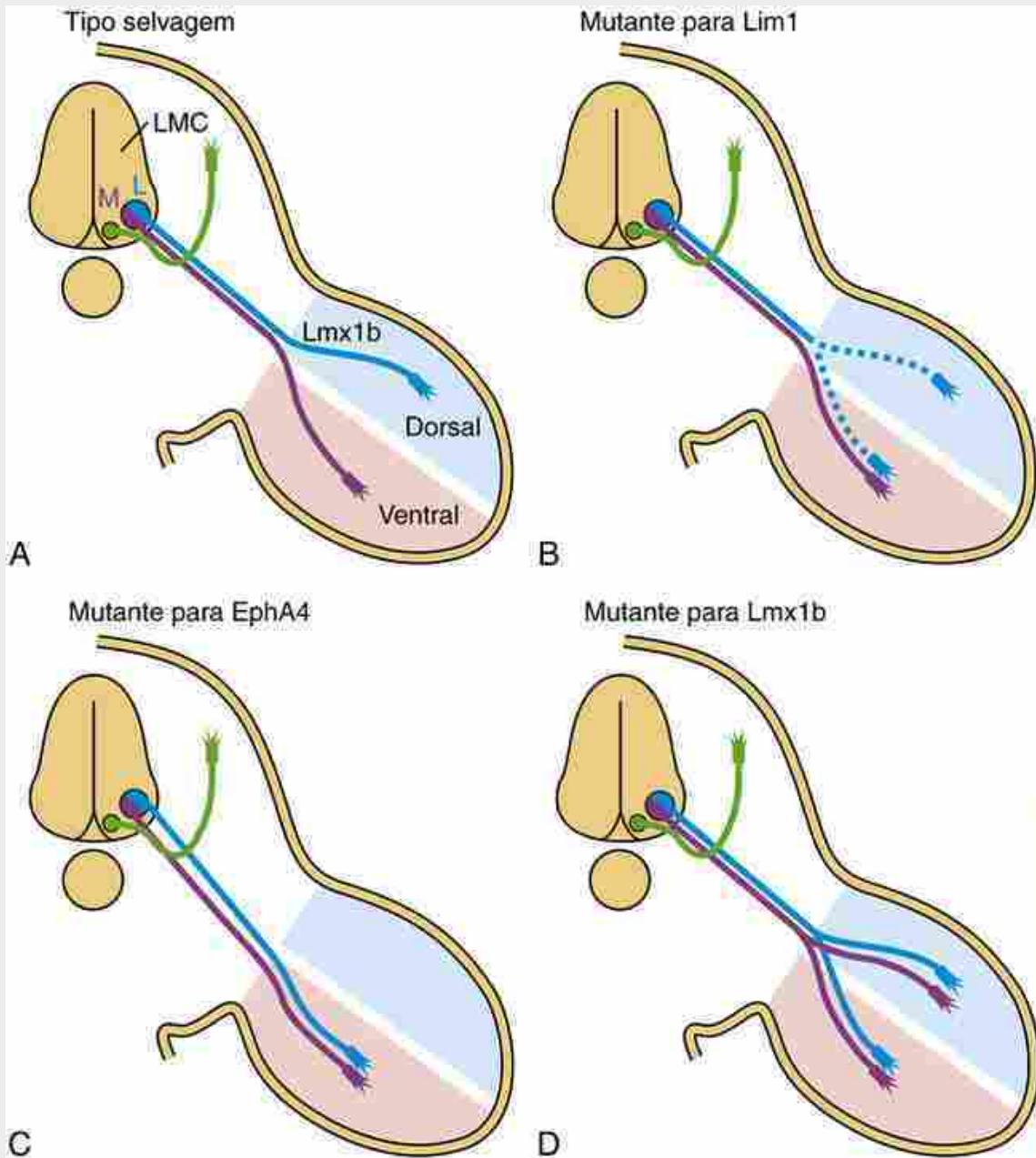


FIGURA 20-29 Colunas motoras e suas projeções axonais em camundongos selvagens e camundongos mutantes, como pode ser visto nos desenhos de secções transversais. A coluna motora mediana e as suas projeções axonais são mostradas em verde. Elas inervam os músculos (não mostrado) adjacentes à coluna vertebral e derivados a partir do miótomo somítico segmentar correspondente. A coluna motora lateral consiste em duas divisões: LMCm (roxo) e LMCI (azul), com suas projeções axonais indo para as regiões dorsais e ventrais dos membros em desenvolvimento, respectivamente. A, Camundongo selvagem. B-D, Camundongos mutantes para Lim1, EphA4 e Lmx1b, respectivamente.

Embriologia na Prática

Quando as coisas não se encaixam

Um menino de 3 anos de idade é visto na clínica de genética para avaliar anomalias de membro e cardíacas com a preocupação de que ele possa ter uma síndrome congênita. O médico solicitou uma avaliação específica do menino

para a síndrome “coração-mão”.

No exame clínico, o menino parece ter anomalias simétricas nos membros superiores ([Fig. 20-30](#)) que consiste em polegares ausentes, dedos indicadores anormais, quinto dedos curvados e curtos e falta de pregas palmares. Ambos os dedos indicadores têm a formação circunferencial de unha (isto é, as unhas envolvem as pontas dos dedos). Seus antebraços são curtos. Ele também não tem mamilos e os músculos peitorais são bilateralmente subdesenvolvidos. O exame de raios X de suas extremidades superiores mostrou ausência bilateral do rádio e de ossos do polegar e encurtamento de ambas as ulnas. O ecocardiograma mostrou, previamente, um defeito moderadamente grande no septo atrial (DSA) e um pequeno defeito no septo muscular interventricular. As suas extremidades inferiores são normais.



FIGURA 20-30 Membros superiores de uma criança com síndrome de Holt-Oram e síndrome ulnar-mamária.

Em geral, é mais comum, nos defeitos dos membros, o comprometimento dos elementos radiais *ou* dos elementos ulnares, com ambos os elementos afetados surgindo em casos raros. Adicionado a isso, é incomum a combinação de defeitos cardíacos e anomalias mamárias, que, normalmente, não cursam juntas.

Anomalias nos raios radiais com defeitos cardíacos sugerem a **síndrome de Holt-Oram** (também conhecida como “coração-mão”), causada por mutações no gene TBX5. No entanto, os mamilos ausentes e anomalias no raio ulnar não são vistas nesta síndrome e seriam mais coerentes com a síndrome ulnar-mamária, causada por mutações no gene TBX3. Os testes genéticos para um ou ambos desses genes poderiam ser considerados.

Ao discutir a abordagem diagnóstica para essa constelação de achados díspares, uma astuta colega geneticista tem uma hipótese. Olhando as informações do teste genético para os genes TBX3 e TBX5, ela percebe que eles são mapeados para a mesma banda cromossômica. Consultando um navegador, para pesquisar o sequenciamento genômico, a pesquisa mostrou que esses genes se encontram lado a lado no cromossomo 12, medindo 340 Kb de DNA.

Com esse conhecimento em mãos, em vez de testar um único gene, ela solicitou a análise citogenômica por *microarray* que descobriu uma pequena deleção neste paciente, confirmando o diagnóstico das duas síndromes, síndrome Holt-Oram e síndrome ulnar-mamária.

Leituras sugeridas

- Anderson, E., Peluso, S., Lettice, L. A., Hill, R. E. Human limb abnormalities caused by disruption of hedgehog signaling. *Trends Genet.* 2012; 28:364–373.
- Bastida, M. F., Ros, M. A. How do we get a perfect complement of digits? *Curr Opin Genet Dev.* 2008; 18:374–380.
- Fernandez-Teran, M., Ros, M. A. The apical ectodermal ridge: morphological aspects and signaling pathways. *Int J Dev Biol.* 2008; 52:857–871.
- Hernandez-Martinez, R., Covarrubias, L. Interdigital cell death function and regulation: new insights on an old programmed cell death model. *Dev Growth Differ.* 2011; 53:245–258.
- Kao, T. J., Law, C., Kania, A. Eph and ephrin signaling: lessons learned from spinal motor neurons. *Semin Cell Dev Biol.* 2012; 23:83–91.
- Polleux, F., Ince-Dunn, G., Ghosh, A. Transcriptional regulation of vertebrate axon guidance and synapse formation. *Nat Rev Neurosci.* 2007; 8:331–340.
- Rabinowitz, A. H., Vokes, S. A. Integration of the transcriptional networks regulating limb morphogenesis. *Dev Biol.* 2012; 368:165–180.
- Stricker, S., Mundlos, S. Mechanisms of digit formation: human malformation syndromes tell the story. *Dev Dyn.* 2011; 240:990–1004.

- Suzuki, T., Hasso, S. M., Fallon, J. F. Unique SMAD1/5/8 activity at the phalanx-forming region determines digit identity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105:4185–4190.
- Towers, M., Tickle, C. Growing models of vertebrate limb development. *Development*. 2009; 136:179–190.
- Zakany, J., Duboule, D. The role of Hox genes during vertebrate limb development. *Curr Opin Genet Dev*. 2007; 17:359–366.
- Zeller, R., Lopez-Rios, J., Zuniga, A. Vertebrate limb bud development: moving towards integrative analysis of organogenesis. *Nat Rev Genet*. 2009; 10:845–858.

Créditos das Figuras

Imagen da Capa. Cortesia do Dr. Robert E. Waterman e da University of New Mexico, Albuquerque.

Figura Intro-1. Adaptada a partir de Gasser RF. 1975. *Atlas of Human Embryos*. Harper and Row, New York.

Figura Intro-2. Cortesia do The Progeria Research Foundation e dos pais da criança.

Figura Intro-3. Cortesia dos Drs. Kohei Shiota e Shigehito Yamada e da senhorita Chigako Uwabe, Congenital Anomaly Research Center, Kyoto University Graduate School of Medicine.

Figura Intro-5. Adaptada a partir de Moore KL, Persaud TVN. 2003. *The Developing Human. Clinically Oriented Embryology*, Seventh Edition. Saunders, Philadelphia.

Tabela Intro-1. Adaptado amplamente de O'Rahilly R, Müller F. 1987. *Developmental Stages in Human Embryos*. Carnegie Institute, Washington, DC, Publ. No. 637.

Figura 1-1. B, C, Adaptadas a partir de Witschi E. 1948. Migration of the germ cells of human embryos from the yolk sac to the primitive gonadal folds. *Contrib Embryol* (No. 209) 32:67-80. Fonte original para digitalização fornecida cordialmente pelo Dr. John M. Optiz. **D, E,** Cortesia dos Drs. Peter Nichol e A. Shaaban.

Figura 1-4. Fotografia inserida em **B**, cortesia do Dr. Daniel S. Friend. **C**, cortesia dos Drs. Gary Schatten e Calvin Simerly.

Figura 1-7. A, De Phillips DM, Shalgi R. 1980. Surface architecture of the mouse and hamster zona pellucida and oocyte. *J Ultrastruct Res* 72:1-12. **B,** Cortesia do Dr. David M. Phillips.

Figura 1-8. B, Cortesia do Dr. Arthur Brothman.

Figuras 1-9, 1-10. A, B, Cortesia da Dra. Sarah South.

Figura 1-10. A, Cortesia do Dr. Arthur Brothman. **B,** Cortesia da Dra. Sarah South.

Figura 1-11. Cortesia da Dra. Sarah South.

Figura 1-12. B, Cortesia dos Drs. Gary Schatten e Calvin Simerly.

Figura 1-14. B, C, Cortesia do Dr. David M. Phillips.

Figura 1-15. Cortesia dos Drs. Gary Schatten e Calvin Simerly.

Figura 1-16. De Boatman DE. 1987. In vitro growth of nonhuman primate pre- and peri-implantation embryos. Em Bavister BD (ed): *The Mammalian Preimplantation Embryo*. Plenum, New York. Fotos como cortesia dos Drs. Barry Bavister e D.E. Boatman.

Figura 1-17. De Nikas G, Asangla A, Winston RML, Handyside AH. 1996. Compaction and surface polarity in the human embryo in vitro. *Biol Reprod* 55:32-37. Fotografias como cortesia do Dr. G. Nikas.

Figura 1-19. Cortesia do Dr. I. Santiago Alvarez.

Figura 1-20. Cortesia do Dr. Michael J. Tucker, Georgia Reproductive Specialists.

Figura 1-21. Cortesia do Dr. I. Santiago Alvarez.

Figura 2-7. De The Digitally Reproduced Embryonic Morphology (DREM) project, cortesia do Dr. Ray Gasser.

Figura 2-9. Cortesia do Dr. Tariq Siddiqi.

Figura 2-12. Adaptada a partir de Reik W, Walter J. 2001. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet* 2:21-32.

Figura 3-1. Adaptada a partir de Reuters.

Figura 3-5. De Sulik K, Dehart DB, Inagaki T et al. 1994. Morphogenesis of the murine node and notochordal plate. *Dev Dyn* 201:260-278.

Figura 3-6. A, Adaptada a partir de Yost HJ. 2003. Left-right asymmetry: nodal cilia make and catch a wave. *Curr Biol* 13:R808-R809. **B,** Adaptada a partir de McGrath J, Somlo S, Makova S, et al. 2003. Two populations of node monocilia initiate left-right asymmetry in the mouse. *Cell* 114:61-73.

Figura 3-7. C, De Schoenwolf GC. 2001. *Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development*. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey.

Figura 3-9. De Tamarin A. 1983. Stage 9 macaque embryos studied by electron microscopy. *J Anat* 137:765-779.

Figura 3-14. De Schoenwolf GC. 2001. *Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development*. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey.

Figura 3-17. Cortesia do Dr. Olivier Pourquie. **A-F,** Adaptadas a partir de McGrew MJ, Dale JK, Fraboulet S, Pourquie O. 1998. The lunatic fringe gene is a target of the molecular clock linked to somite segmentation in avian embryos. *Curr Biol* 8:979-982. **G-J,** Adaptadas a partir de Dubrulle J, McGrew MJ, Pourquie O. 2001. FGF signaling controls

somite boundary position and regulates segmentation clock control of spatiotemporal Hox gene activation. *Cell* 106:219-232.

Figura 3-18. Adaptada a partir de Pourquie O. 2004. The chick embryo: a leading model in somitogenesis studies. *Mech Dev* 121:1069-1079.

Figura 3-19. Adaptada a partir de Smith JL, Schoenwolf GC. 1998. Getting organized: new insights into the organizer of higher vertebrates. *Curr Topics Dev Biol* 40:79-110.

Figura 3-21. De Tamarin A. 1983. Stage 9 macaque embryos studied by electron microscopy. *J Anat* 137:765-779.

Figura 3-22. De The Digitally Reproduced Embryonic Morphology (DREM) project, cortesia do Dr. Ray Gasser.

Figura 3-23. A, Cortesia do Dr. Doug Melton. B, De Steinbeisser H, De Robertis EM, Ku M, et al. 1993. Xenopus axis formation: induction of goosecoid by injected X-wnt-8 and activin mRNAs. *Development* 118:499-507.

Figura 3-24. A, Cortesia da Dra. Mahua Mukhopadhyay. De Mukhopadhyay M, Shtrom S, Rodriguez-Esteban C, et al. 2001. Dickkopf1 is required for embryonic head induction and limb morphogenesis in the mouse. *Dev Cell* 1:423-434. B, Cortesia de William Shawlot. De Shawlot W, Behringer RR. 1995. Requirement for Lim1 in head-organizer function. *Nature* 374:425-430.

Figura 4-1. A, Cortesia da Dra. Janice L.B. Byrne. B, Cortesia do Dr. Earl Downey.

Figura 4-3. Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 4-4. A, Cortesia da Dra. Janice L.B. Byrne. B-D, Cortesia dos Drs. Peter Nichol e A. Shaaban.

Figura 4-5. B, Cortesia do Dr. Kohei Shiota. De Yamada S, Uwabe C, Nakatsu-Komatsu T, et al. 2006. Graphics and movie illustrations of human prenatal development and their application to embryological education based on the human embryo specimens in the Kyoto collection. *Dev Dyn* 235:468-477. C, Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey. Cortesia do Dr. Robert E. Waterman.

Figura 4-6. Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey. De Colas JF, Schoenwolf GC. 2001. Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev Dyn* 221:117-145.

Figura 4-8. Cortesia da Dra. Amel Gritli-Linde.

Figura 4-9. A, C, Cortesia do Dr. Takayuki Inagaki. B, Cortesia do Dr. John Carey.

Figuras 4-11. A, B; **4-12.** A, B; **4-13.** B, Cortesia do Dr. John Kestle.

Figura 4-14. A, B, Cortesia do Dr. Takayuki Inagaki.

Figura 4-16. De Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey. De Colas JF, Schoenwolf GC. 2001. Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev Dyn* 221:117-145.

Figura 4-17. Fotografia como cortesia dos Drs. Antone Jacobson e Patrick Tam.

Figura 4-21. Redesenhada a partir dos dados de D'Amico-Martel A, Noden DM. 1983. Contributions of placodal and neural crest cells to avian cranial peripheral ganglia. *Am J Anat* 166:445-468. Adaptada a partir de Baker C. 2005. Neural crest and cranial ectodermal placodes. In Rao MS, Jacobson M (eds): *Developmental Neurobiology*. Fourth Edition. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Figura 4-23. Adaptada a partir de Farlie PG, McKeown SJ, Newgreen DF. 2004. The neural crest: basic biology and clinical relationships in the craniofacial and enteric nervous systems. *Birth Defects Res C Embryo Today* 72:173-189.

Figura 4-25. Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey.

Figura 4-26. Adaptada a partir de Brand-Saberi B, Christ B. 2000. Evolution and development of distinct cell lineages derived from somites. *Curr Top Dev Biol* 48: 1-42. Cortesia do Dr. Heinz Jacob.

Figura 5-1. A, Cortesia do Dr. Max Muenke. Adaptada a partir de El-Jaick KB, Powers SE, Bartholin L et al. 2006. Functional analysis of mutations in TGIF associated with holoprosencephaly. *Mol Genet Metab* 90:97-111. B, Cortesia da Dra. Leslie Biesecker. Adaptada a partir de Biesecker LG. 2005. Mapping phenotypes to language: a proposal to organize and standardize the clinical descriptions of malformations. *Clin Genet* 68:320-326.

Figura 5-2. Cortesia da Dra. Susan Lewin e da família da criança.

Figura 5-3. Cortesia do Dr. Roger A. Fleischman.

Figuras 5-4, 5-5, 5-6, 5-7, 5-8, 5-9. Adaptadas a partir de Wolpert L. 2002. *Principles of Development*. Oxford University Press, New York.

Figura 5-10. Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Cutting, pasting and painting: experimental embryology and neural development. *Nat Rev Neurosci* 2:763-771.

Figura 5-11. A-C, Cortesia das Dras. Sophie Creuzet e Nichole Le Douarin. Adaptada a partir de Le Douarin NM. 2004. The avian embryo as a model to study the development of the neural crest: a long and still ongoing story.

Mech Dev 121:1089-1102.

Figura 5-12. Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Cutting, pasting and painting: experimental embryology and neural development. Nat Rev Neurosci 2:763-771.

Figuras 5-13, 5-14. Adaptadas a partir de Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey.

Figura 5-15. Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Cutting, pasting and painting: experimental embryology and neural development. Nat Rev Neurosci 2:763-771.

Figuras 5-16, 5-17. Adaptadas a partir de Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, Behringer R. 2003. Manipulating the Mouse Embryo. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, New York.

Figuras 5-18, 5-19. Adaptadas a partir de Wolpert L. 2002. Principles of Development. Oxford University Press, New York.

Figura 5-20. Adaptada a partir de Krumlauf R. 1993. Hox genes and pattern formation in the branchial region of the vertebrate head. Trends Genet 9:106-112.

Figura 5-21. Adaptada a partir de Kalthoff K. 2001. Analysis of Biological Development. McGraw-Hill Higher Education, New York. Com permissão do Prof. Klaus Kalthoff.

Figura 5-22. Adaptada a partir de Logan CY, Nusse R. 2004. The Wnt signaling pathway in development and disease. Annu Rev Cell Dev Biol 20:781-810.

Figura 5-23. Adaptada a partir de McMahon AP, Ingham PW, Tabin CJ. 2003. Developmental roles and clinical significance of hedgehog signaling. Curr Top Dev Biol 53:1-114.

Figura 5-24. Adaptada a partir de Massague J, Chen YG. 2000. Controlling TGF-beta signaling. Genes Dev 14:627-644.

Figura 5-25. Adaptada a partir de Wolpert L. 2002. Principles of Development. Oxford University Press, New York.

Figuras 5-26, 5-27. Adaptadas a partir de Gilbert SF. 2006. Developmental Biology. Eighth Edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Figura 5-28. Adaptada a partir de Maden M. 2002. Retinoid signalling in the development of the central nervous system. Nat Rev Neurosci 3:843-853.

Figura 6-1. Cortesia do Dr. Robert E. Waterman e da University of New Mexico School of Medicine, Albuquerque.

Figura 6-3. Adaptada a partir de Benirschke K. 1998. Remarkable placenta. Clin Anat 11:194-205.

Figura 6-4. De Castellucci M, Scheper M, Scheffen I et al. 1990. The development of the human placental villous tree. Anat Embryol (Berl) 181:117-128.

Figura 6-7. A, B, Cortesia da Dra. Janice L. B. Byrne.

Figura 6-9. A, B, Cortesia dos Drs. Peter Nichol e A. Shaaban.

Figura 6-10. Cortesia dos pais dos fetos.

Figura 6-11. Cortesia do Babies First Ultrasound, San Diego, California; www.bfiultrasound.com/default.html.

Figura 6-12. Cortesia do Dr. Gregorio Acacio, Hospital Israelita Albert Einstein, Sao Paulo, Brasil.

Figuras 6-13, 6-14. Adaptada a partir de Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL. 2006. Medical Genetics. Third Edition, Updated Edition. Mosby, St Louis.

Figura 6-15. Adaptada a partir de Harrison MR, Adzick NS, Longaker MT et al. 1990. Successful repair in utero of a fetal diaphragmatic hernia after removal of herniated viscera from the left thorax. N Engl J Med 322:1582-1584.

Figura 6-16. De Jones HW, Scott WW. 1958. Hermaphroditism, Genital Anomalies and Related Endocrine Disorders. Williams & Wilkins, Baltimore.

Tabela 6-1. Adaptada a partir de BabyCenter; <http://www.babycenter.com/general/pregnancy/1290794.html>.

Figura 7-1. Cortesia do Dr. Alan Rope.

Figura 7-2. Adaptada a partir de Holbrook KA, Dale BA, Smith LT et al. 1987. Markers of adult skin expressed in the skin of the first trimester fetus. Curr Probl Dermatol 16:94-108.

Figura 7-3. Adaptada a partir de Foster CA, Bertram JF, Holbrook KA. 1988. Morphometric and statistical analyses describing the in utero growth of human epidermis. Anat Rec 222:201-206.

Figura 7-4. Adaptada a partir de Wilson A, Radtke F. 2006. Multiple functions of Notch signaling in self-renewing organs and cancer. FEBS Lett 580:2860-2868.

Figura 7-5. Adaptada a partir de Fuchs E, Raghavan S. 2002. Getting under the skin of epidermal morphogenesis. Nat Rev Genet 3:199-209.

Figura 7-6. A, Cortesia dos Drs. John Harper e Alan Irvine. Adaptada a partir de Irvine AD, Christiano AM. 2001. Hair on a gene string: recent advances in understanding the molecular genetics of hair loss. Clin Exp Dermatol 26:59-71. **B,** Adaptada a partir de Utto J, McGrath JA. 2007. Diseases of epidermal keratins and their linker proteins. Exp Cell Res 313:1995-2009.

Figura 7-8. A, Adaptada a partir de Holbrook KA. 1988. Structural abnormalities of the epidermally derived appendages in skin from patients with ectodermal dysplasia: insight into developmental errors. Birth Defects Orig

Artic Ser 24:15-44. B, Adaptada a partir de Foster CA, Holbrook KA. 1989. Ontogeny of Langerhans cells in human embryonic and fetal skin: cell densities and phenotypic expression relative to epidermal growth. Am J Anat 184:157-164.

Figura 7-9. Adaptada a partir de Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. 1989. Gray's Anatomy. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Figura 7-10. Adaptada a partir de Mikkola JL, Millar SE. 2006. The mammary bud as a skin appendage: unique and shared aspects of development. J. Mammary Gland Biol Neoplasia 11:187-203.

Figura 7-11. Adaptada a partir de Holbrook KA. 1988. Structural abnormalities of the epidermally derived appendages in skin from patients with ectodermal dysplasia: insight into developmental errors. Birth Defects Orig Artic Ser 24:15-44.

Figura 7-12. A, Cortesia da Dra. Irma Thesleff. Adaptada a partir de Pispa J, Thesleff I. 2003. Mechanisms of ectodermal organogenesis. Dev Biol 262:195-205. B-D, Cortesia dos Drs. Elaine Fuchs e Ramanuj DasGupta. Adaptada de DasGupta R, Fuchs E. 1999. Multiple roles for activated LEF/TCF transcription complexes during hair follicle development and differentiation. Development 126:4557-4568.

Figura 7-15. A, B, C, Adaptadas a partir de Holbrook KA. 1988. Structural abnormalities of the epidermally derived appendages in skin from patients with ectodermal dysplasia: insight into developmental errors. Birth Defects Orig Artic Ser 24:15-44. D, E, F, Adaptadas a partir de Seitz CS, Hamm H. 2005. Congenital brachydactyly and nail hypoplasia. Brit J Dermatol 152:339-1342. G, H, Cortesia da Dra. Alexandra L. Joyner. Adaptadas a partir de Guo Q, Loomis C, Joyner AL. 2003. Fate map of mouse ventral limb ectoderm and the apical ectodermal ridge. Dev Biol 264:166-178.

Figura 7-16. Cortesia da Dra. Irma Thesleff. Adaptada a partir de Mikkola ML, Thesleff I. 2003. Ectodysplasin signaling in development. Cytokine Growth Factor Rev 14:211-224.

Figura 8-1. Cortesia do Dr. Lynn Jorde. De Jorde LB, Carey JC, Bamshad MJ, White RL, 2006. Medical Genetics. Third Edition, Updated Edition. Mosby, St Louis.

Figura 8-2. Cortesia do Dr. Michael Owen. Adaptada a partir de Otto F, Thornell AP, Crompton T et al. 1997. Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. Cell 89:765-771.

Figura 8-3. A, Adaptada a partir de Buckingham M, Bajard L, Chang T et al. 2003. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. J Anat 202:59-68. B, Adaptada a partir de Schoenwolf GC. 2001. Laboratory Studies of Vertebrate and Invertebrate Embryos. Guide and Atlas of Descriptive and Experimental Development. Eighth Edition. Prentice Hall, New Jersey. C, Adaptada a partir de Brand-Saberi B, Christ B. 2000. Evolution and development of distinct cell lineages derived from somites. Curr Top Dev Biol 48:1-42. Cortesia do Dr. Heinz Jacob.

Figura 8-5. Cortesia das Dras. Cathy Krull e Marianne Bronner-Fraser. Adaptada a partir de Krull CE, Lansford R, Gale NW et al. 1997. Interactions of Eph-related receptors and ligands confer rostrocaudal pattern to trunk neural crest migration. Curr Biol 7:571-580.

Figura 8-10. Adaptada a partir de Hunt P, Krumlauf R. 1992. Hox codes and positional specification in vertebrate embryonic axes. Annu Rev Cell Biol 8:227-256.

Figura 8-11. A, Adaptada a partir de Wellik DM. 2007. Hox patterning of the vertebrate axial skeleton. Dev Dyn 236:2454-2463. B, Cortesia do Dr. Mario Capecchi. Adaptada a partir de Wellik DM, Capecchi MR. 2003. Hox10 and Hox11 genes are required to globally pattern the mammalian skeleton. Science 301:363-367. C, Cortesia do Dr. Moises Mallo. Adaptada a partir de Carapuco M, Novoa A, Bobola N, Mallo M. 2005. Hox genes specify vertebral types in the presomitic mesoderm. Genes Dev 19:2116-2121.

Figura 8-12. Adaptada a partir de Conlon RA. 1995. Retinoic acid and pattern formation in vertebrates. Trends Genet 11:314-319, p. 316, Fig. 2. Lohnes D. 2003. The Cdx1 homeodomain protein: an integrator of posterior signaling in the mouse. Bioessays 25:971-980.

Figura 8-13. A, Cortesia do Dr. Peter D. Turnpenny. Adaptada a partir de Whittock NV, Sparrow DB, Wouters MA et al. 2004. Mutated MESP2 causes spondylocostal dysostosis in humans. Am. J Hum Genet 74:1249-1254. B, C, Cortesia dos Drs. Ian Krantz e Kenro Kusumi. Adaptada a partir de Pourquie O, Kusumi K. 2001. When body segmentation goes wrong. Clin Genet 60:409-416.

Figura 8-15. Adaptada a partir de Buckingham M. 2006. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. Curr Opin Genet Dev 16:525-532.

Figura 8-16. A, B, Adaptadas a partir de Kronenberg HM. 2003. Developmental regulation of the growth plate. Nature 423:332-336. B, Também adaptada a partir de Hartmann C, Tabin CJ. 2000. Dual roles of Wnt signaling during chondrogenesis in the chicken limb. Development 127:3141-3159.

Figura 8-18. Adaptada a partir de Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P et al. 1999. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. Development 126:1305-1315.

Figura 8-19. Cortesia dos Drs. Frank Luyten e J. Terrig Thomas. Adaptada a partir de Thomas JT, Kilpatrick MW, Lin

K et al. 1997. Disruption of human limb morphogenesis by a dominant negative mutation in CDMP1. *Nat Genet* 17:58-64.

Figura 8-20. Cortesia do Dr. Bjorn Olsen. Adaptada a partir de Zelzer E, Olsen BR. 2003. The genetic basis for skeletal diseases. *Nature* 423:343-348.

Figura 8-22. Adaptada a partir de Chevallier A, Kieny M, Mauger A. 1977. Limb-somite relationship: origin of the limb musculature. *J Embryol Exp Morphol* 41:245-258.

Figura 8-23. A, Cortesia do Dr. C. Birchmeier. Adaptada a partir de Brohmann H, Jagla K, Birchmeier C. 2000. The role of Lbx1 in migration of muscle precursor cells. *Development* 127:437-445. B, Adaptada a partir de Buckingham M, Bajard L, Chang T et al. 2003. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *J Anat* 202:59-68.

Figura 8-24. Adaptada a partir de Tzahor E. 2009. Heart and craniofacial muscle development: a new developmental theme of distinct myogenic fields. *Dev Biol* 327, 273-279.

Figura 8-25. Cortesia do Dr. Theodore Pysher.

Tabela 8-1. Dados de Crafts RC. 1985. A Textbook of Human Anatomy. Third Edition. Churchill Livingstone, New York.

Figura 9-2. A, B, Adaptadas a partir de Kiecker C, Lumsden A, 2005. Compartments and their boundaries in vertebrate brain development. *Nat Rev Neurosci* 6:553-564. C, Adaptada a partir de Rowitch DH. 2004. Glial specification in the vertebrate neural tube. *Nat Rev Neurosci* 5:409-419.

Figura 9-3. A, Adaptada a partir de Rakic P, 1982. Early developmental events: cell lineages, acquisition of neuronal positions, and areal and laminar development. *Neurosci Res Prog Bull* 20:439-451. B, Cortesia da Dra. Kathryn Tosney.

Figuras 9-5, 9-10. Adaptadas a partir de Williams PL, Warwick R, Dyson M, Bannister LH. 1989. Gray's Anatomy. Churchill Livingstone, Edinburgh.

Figura 9-12. Cortesia do Boston Children's Hospital, Dr. Benjamin Warf e Sra. Meghan Weber.

Figura 9-16. Adaptada a partir de Roberts A, Taylor JSH. 1983. A study of the growth cones of developing embryonic sensory neurites. *J Embryol Exp Morphol* 75:31-47.

Figura 9-18. Adaptada a partir de Lambot MA, Depasse F, Noel JC, Vanderhaeghen P. 2005. Mapping labels in the human developing visual system and the evolution of binocular vision. *J Neurosci* 25:7232-7237.

Figura 9-19. De Colello RJ, Guillory RW. 1990. The early development of retinal ganglion cells with uncrossed axons in the mouse: retinal position and axonal course. *Development* 108:515-523.

Figura 9-20. Adaptada a partir de McLaughlin T, Hindges R, O'Leary DD. 2003. Regulation of axial patterning of the retina and its topographic mapping in the brain. *Curr Opin Neurobiol* 13:57-69.

Figura 9-21. G, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 9-24. Cortesia do Dr. Andrew Lumsden.

Figura 9-27. Adaptada a partir de Bond J, Roberts E, Mochida GH et al. 2002. ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat Genet* 32:316-320.

Figura 10-1. A, B, De Bonkowsky JL, Johnson J, Carey JC et al. 2003. An infant with primary tooth loss and palmar hyperkeratosis: a novel mutation in the NTRK1 gene causing congenital insensitivity to pain with anhidrosis. *Pediatrics* 112:e237-e241. Cortesia do Dr. Josh Bonkowsky.

Figura 10-2. Cortesia da Dra. Maya Sieber-Blum.

Figura 10-3. Cortesia da Dra. Carol Erickson.

Figura 10-5. B, Cortesia dos Drs. James Weston e Michael Marusich.

Figura 10-6. Cortesia de Teri Belecky-Adams e Dra. Linda Parysek.

Figura 10-12. De Bridgman PC, Dailey ME. 1989. The organization of myosin and actin in rapid frozen nerve growth cones. *J Cell Biol* 108:95-109.

Figura 11-1. A, Cortesia dos Drs. Kelsey Branchfield, Eric Domyan e Xin Sun.

Figura 11-3. Cortesia do Dr. Kurt Albertine.

Figura 11-5. Cortesia do Dr. Ross Metzger.

Figura 11-6. Adaptada a partir de Peters K, Werner S, Liao X et al. 1994. Targeted expression of a dominant negative FGF receptor blocks branching morphogenesis and epithelial differentiation of the mouse lung. *EMBO J* 13:3296-3301.

Figura 11-7. Cortesia do Dr. Mark Metzstein.

Figura 11-15. Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 11-16. A, Cortesia da Dra. Janice L.B. Byrne. B, Cortesia do Dr. Lance Erickson.

Tabela 11-1. Adaptada a partir de Langston C, Kida K, Reed M, Thurlbeck WM. 1984. Human lung growth in late gestation in the neonate. *Am Rev Respir Dis* 129:607-613.

Figura 12-1. Adaptada a partir de Brand T. 2003. Heart development: molecular insights into cardiac specification and early morphogenesis. *Dev Biol* 258:1-19.

Figura 12-2. Adaptada a partir de Ladd AN, Yatskievych TA, Antin PB. 1998. Regulation of avian cardiac myogenesis by activin/TGFbeta and bone morphogenetic proteins. *Dev Biol* 204:407-419.

Figura 12-3. Adaptada a partir de Marvin MJ, DiRocco G, Gardiner A et al. 2001. Inhibition of Wnt activity induces heart formation from posterior mesoderm. *Genes Dev* 15:316-327.

Figura 12-5. A, Adaptada a partir de Abu-Issa R, Kirby ML. 2007. Heart field: from mesoderm to heart tube. *Ann Rev Cell Dev Biol* 23:45-2368. **D,** Adaptada a partir de Hurle JM, Icardo JM, Ojeda JL. 1980. Compositional and structural heterogeneity of the cardiac jelly of the chick embryo tubular heart: a TEM, SEM and histochemical study. *J Embryol Exp Morphol* 56:211-223.

Figuras 12-6, 12-8. Fotografias adaptadas a partir de Kaufman MH. 1981. The role of embryology in teratological research, with particular reference to the development of the neural tube and the heart. *J Reprod Fertil* 62:607-623.

Figura 12-10. Adaptada a partir de Buckingham M, Meilhac S, Zaffran S. 2005. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nat Rev Genet* 6:826-835.

Figura 12-11. Adaptada a partir de van den Hoff M, Kruithof BPT, Moorman AFM. 2004. Making more heart muscle. *BioEssays* 26:248-261.

Figuras 12-12, 12-13. De Manner J. 2000. Cardiac looping in the chick embryo: a morphological review with special reference to terminology and biomechanical aspects of the looping process. *Anat Rec* 259:248-262.

Figura 12-14. Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 12-16. A-C, Desenhadas a partir dos dados em Christoffels VM, Habets PE, Franco D. 2000. Chamber formation and morphogenesis in the developing mammalian heart. *Dev Biol* 223:266-278.

Figura 12-19. Adaptada a partir de Mjaatvedt CH, Markwald RR. 1989. Induction of an epithelial-mesenchymal transition by an in vivo adheron-like complex. *Dev Biol* 136:118-128.

Figura 12-20. Cortesia do Dr. Ray Runyan. De Person AD, Klewer SE, Runyan RB. 2005. Cell biology of cardiac cushion development. *Int Rev Cytol* 243:287-335.

Figura 12-21. B, C, Adaptadas a partir de Icardo JM. 1988. Heart anatomy and developmental biology. *Experientia* 44:910-919.

Figura 12-22. B, Adaptada a partir de Hendrix MJC, Morse DE. 1977. Atrial septation. I. Scanning electron microscopy in the chick. *Dev Biol* 57:345-363.

Figura 12-25. Cortesia da Dra. Adriana Gittenberger-DeGroot.

Figura 12-26. Adaptada a partir de Mikawa T. 1999. Cardiac lineages. In Harvey RP, Rosenthal N (eds): *Heart Development*. Academic Press, New York.

Figura 12-29. De Anderson RH, Webb S, Brown NA et al. 2006. Development of the heart: formation of the ventricular outflow tracts, arterial valves, and intrapericardial arterial trunks. *Heart* 89:1110-1118.

Figura 12-30. A, Adaptada a partir de Hurle JM, Colvee E, Blanco AM, 1980. Development of mouse semilunar valves. *Anat Embryol* 160:83-91.

Figura 12-31. Adaptada a partir de Kirby ML. 1988. Role of extracardiac factors in heart development. *Experientia* 44:944-951.

Figura 12-32. Adaptada a partir de Sizarov A, Ya J, de Boer BA et al. Formation of the building plan of the human heart: morphogenesis, growth, and differentiation. *Circulation* 123:1125-1135.

Figura 12-33. A, B, Adaptadas a partir de Manner J. 1992. The development of pericardial villi in the chick embryo. *Anat Embryol* 186:379-385.

Figuras 12-34, 12-35. Cortesia da Dra. Adriana Gittenberger-DeGroot.

Figura 12-36. B, Cortesia da Dra. Margaret Kirby e do Medical College of Georgia, Augusta. **D,** Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 12-37. B, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 13-1. A, B, Adaptadas a partir de Eichmann A, Yuan L, Moyon D et al. 2005. Vascular development: from precursor cells to branched arterial and venous networks. *Int J Dev Biol* 49:259-267.

Figuras 13-2, 13-3. Adaptadas a partir de Tavian M, Peault B. 2005. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int J Dev Biol* 49:243-250.

Figura 13-4. A, Adaptada a partir de Ody C, Vaigot P, Quéué P et al. 1999. Glycoprotein IIb-IIIa is expressed on avian multilineage hematopoietic progenitor cells. *Blood* 93:2898-2906. **B,** Adaptada a partir de Corbel C, Salaün J. 2002. AlphaIIb integrin expression during development of the murine hematopoietic system. *Dev Biol* 243:301-311. **C,** Adaptada a partir de Emmel VE. 1916. The cell clusters in the dorsal aorta of mammalian embryos. *Am J Anat* 19:5141-5146. **D,** Adaptada a partir de Dieterlen-Lievre F, Le Douarin NM. 2004. From the hemangioblast to self-tolerance: a series of innovations gained from studies on the avian embryo. *Mech Dev* 121:1117-1128.

Figura 13-6. Adaptada a partir de Pardanaud L, Luton D, Prigent M et al. 1996. Two distinct endothelial lineages in ontogeny, one of them related to hemopoiesis. *Development* 122:1363-1371.

Figura 13-8. Adaptada a partir de Dor Y, Porat R, Keshet E. 2001. Vascular endothelial growth factor and vascular

- adjustments to perturbations in oxygen homeostasis. *Am J Physiol Cell Physiol* 280:C1367-C1374.
- Figura 13-9.** Adaptada a partir de Rossant J, Howard L. 2002. Signaling pathways in vascular development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 18:541-573.
- Figura 13-10. A, B,** Adaptadas a partir de Bruckner AL, Frieden IJ. 2003. Hemangiomas of infancy. *J Am Acad Dermatol* 48:477-493.
- Figura 13-14.** Adaptada a partir de Bockman DE, Redmond ME, Kirby ML. 1989. Alteration of early vascular development after ablation of cranial neural crest. *Anat Rec* 225:209-217.
- Figura 13-22. A,** Adaptada a partir de Carlson BM. 1999. *Human Embryology and Developmental Biology*. Second Edition. Mosby St Louis. **B,** Adaptada a partir de Sadler TW (ed): *Langman's Medical Embryology*. Seventh Edition. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Figura 13-23. D,** Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.
- Figura 13-28.** Adaptada a partir de Eichmann A, Yuan L, Moyon D et al. 2005. Vascular development: from precursor cells to branched arterial and venous networks. *Int J Dev Biol* 49:259-267.
- Figura 14-5.** Adaptada a partir de Wells JM, Melton DA. 1999. Vertebrate endoderm development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15:393-410.
- Figura 14-6.** Adaptada a partir de Roberts DJ. 2000. Molecular mechanisms of development of the gastrointestinal tract. *Dev Dyn* 219:109-120.
- Figura 14-10.** Adaptada a partir de Jensen J. 2004. Gene regulatory factors in pancreatic development. *Dev Dyn* 229:176-200.
- Figura 14-12.** Adaptada a partir de Wilson ME, Scheel D, German MS. 2003. Gene expression cascades in pancreatic development. *Mech Dev* 120:65-80.
- Figura 14-17. B,** Cortesia da Dra. Natasza A. Kurpios.
- Figura 14-22.** Desenhos adaptados a partir daqueles fornecidos cordialmente pelo Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.
- Figura 14-24.** Adaptada a partir de Radtke F, Clevers H. 2005. Self-renewal and cancer of the gut: two sides of a coin. *Science* 307:1904-1909.
- Figura 14-25.** Adaptada a partir de Logan CY, Nusse R. 2004. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20:781-810.
- Figura 14-26.** Adaptada a partir de Batlle E, Henderson JT, Beghtel H et al. 2002. Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/ephrinB. *Cell* 111:251-263.
- Figura 14-27.** Adaptada a partir de Yang Q, Birmingham NA, Finegold MJ, Zoghbi HY. 2001. Requirement of Math1 for secretory cell lineage commitment in the mouse intestine. *Science* 294, 2155-2158.
- Figura 14-28.** Adaptada a partir de Sukegawa A, Narita T, Kameda T et al. 2000. The concentric structure of the developing gut is regulated by Sonic hedgehog derived from endodermal epithelium. *Development* 127:1971-1980.
- Figura 14-29.** Adaptada a partir de Le Douarin NM. 2004. The avian embryo as a model to study the development of the neural crest: a long and still ongoing story. *Mech Dev* 121:1089-1102.
- Figura 14-30.** Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.
- Figura 14-35.** Cortesia da Dra. Janice L. B. Byrne.
- Figura 15-3.** Cortesia do Dr. Thomas J. Poole.
- Figura 15-5.** Cortesia dos Drs. Odyssé Michos e Frank Constantini.
- Figura 15-9.** Adaptada a partir de Dressler G. 2002. Tubulogenesis in the developing mammalian kidney. *Trends Cell Biol* 12:390-395.
- Figura 15-18.** Adaptada a partir de Brauer PR. 2003. *Human Embryology: The Ultimate USMLE Step 1 Review*. Hanley & Belfus, Inc. (an imprint of Elsevier), Philadelphia.
- Figura 16-2.** De Evan AP, Gattone VC II, Blomgren PM. 1984. Application of scanning electron microscopy to kidney development and nephron maturation. *Scan Electron Microsc* 1:455-473.
- Figura 16-3.** Cortesia da Dra. Blanche Capel.
- Figuras 16-6, 16-9.** Cortesia dos Drs. Alex Combes e Peter Koopman.
- Figura 16-10.** De Miller A, Hong MK, Hutson JM. 2004. The broad ligament: a review of its anatomy and development in different species and hormonal environments. *Clin Anat* 17:244-251.
- Figura 16-12.** Adaptada a partir de Wilhelm D, Koopman P. 2006. The makings of maleness: towards an integrated view of male sexual development. *Nat Rev Genet* 7:620-631.
- Figura 16-13.** Cortesia do Dr. Alan Perantoni.
- Figura 16-14.** Adaptada a partir de Wilhelm D, Koopman P. 2006. The makings of maleness: towards an integrated view of male sexual development. *Nat Rev Genet* 7:620-631.
- Figura 16-16.** Cortesia da Dra. Blanche Capel. Adaptada a partir de Maatouk DM, DiNapoli L, Alvers, A et al. 2008. Stabilization of β -catenin in XY gonads causes male-to-female sex-reversal. *Human Mol Genet* 17:2949-2955.

Figura 16-17. Adaptada a partir de Uhlenhaut NH, Jakob S, Anlag K et al. 2009. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by FOXL2 ablation. *Cell* 139:1130-1142.

Figura 16-18. Adaptada a partir de Ludbrook LM, Harley VR. 2004. Sex determination: a 'window' of DAX1 activity. *Trends Endocrinol Metab* 15:116-121.

Figura 16-20. De Brauer PR. 2003. Human Embryology: The Ultimate USMLE Step 1 Review. Hanley & Belfus, Inc. (an imprint of Elsevier), Philadelphia.

Figura 16-21. B-D, Cortesia da Dra. Ashley Seifert. B, Adaptada a partir de Seifert AW, Bouldin CM, Choi K-S et al. 2009. Multiphasic and tissue-specific roles of sonic hedgehog in cloacal septation and external genitalia development. *Development* 136:3949-3957. C, D, Adaptadas a partir de Seifert AW, Harfe BD, Cohn MJ. 2008. Cell lineage analysis demonstrates and endodermal origin of the distal urethra and perineum. *Dev Biol* 318:143-152.

Figura 16-22. B, Adaptada a partir de Yamada G, Satoh Y, Baskin LS, Cunha GR. 2003. Cellular and molecular mechanisms of development of the external genitalia. *Differentiation* 71:445-460.

Figura 16-23. Cortesia do Dr. G. Yamada.

Figura 16-24. Adaptada a partir de Brauer PR. 2003. Human Embryology: The Ultimate USMLE Step 1 Review. Hanley & Belfus, Inc. (an imprint of Elsevier), Philadelphia.

Figura 16-26. D, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 16-28. A, B, C, Adaptadas a partir de Brauer PR. 2003. Human Embryology: The Ultimate USMLE Step 1 Review. Hanley & Belfus, Inc. (an imprint of Elsevier), Philadelphia.

Figura 16-29. D, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 16-30. A, De Warkany J. 1971. Congenital Malformations. Notes and Comments. Year-Book Medical Publishers. Chicago. B-D, De Jones HW, Scott WW. 1958. Hermaphroditism, Genital Anomalies and Related Endocrine Disorders. Williams & Wilkins, Baltimore.

Figura 17-1. Cortesia do Dr. Alan Rope.

Figura 17-4. A, Adaptada a partir de McBratney-Owen B, Iseki S, Bamforth SD et al. 2008. Development and tissue origins of the mammalian cranial base. *Dev Biol* 322:121-132. B, C, Cortesia da Dra. Sachiko Iseki.

Figura 17-6. A, Cortesia do Dr. David Billmire. C, Adaptada a partir de Morriss-Kay GM, Wilkie AO. 2005. Growth of the normal skull vault and its alteration in craniosynostosis: insights from human genetics and experimental studies. *J Anat* 207:637-653.

Figura 17-7. A, Cortesia do Dr. Andrew Wilkie. Adaptada a partir de Twigg SRF, Kan R, Babbs C et al. 2004. Mutations of ephrin-B1 (*EFNB1*), a marker of tissue boundary formation, cause craniofrontonasal syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:8652-8657. B, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 17-8. B, Cortesia do Dr. Eiki Koyama. C, Cortesia do Dr. Jun Doshisha. Adaptada a partir de Aoto K, Shikata Y, Imai H et al. 2009. Mouse Shh is required for prechordal plate maintenance during brain and craniofacial morphogenesis. *Dev Biol* 327:106-120.

Figura 17-9. A-C, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin. E, Cortesia do Dr. Robert E. Waterman.

Figura 17-14. A, Adaptada a partir de Lumsden A, Keynes R, 1989. Segmental patterns of neuronal development in the chick hindbrain. *Nature* 337:424-428. B, Adaptada a partir de Kontges G, Lumsden A. 1996. Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout craniofacial ontogeny. *Development* 122:3229-3242.

Figura 17-15. A, Cortesia da Dra. Abigail Tucker. B, Cortesia do Dr. Moises Mallo. Adaptada a partir de Bobola N, Carapuco M, Ohnemus S et al. 2003. Mesenchymal patterning by *Hoxa2* requires blocking Fgf-dependent activation of *Ptx1*. *Development* 130:3403-3414.

Figura 17-16. A, Cortesia dos Drs. Susan Reijntjes e Malcolm Maden. Adaptada a partir de Reijntjes S, Gale E, Maden M. 2004. Generating gradients of retinoic acid in the chick embryo: *Cyp26C1* expression and a comparative analysis of the *Cyp26* enzymes. *Dev Dyn* 230:509-517. B, Adaptada a partir de Mark M, Ghyselinck NB, Chambon P. 2004. Retinoic acid signalling in the development of branchial arches. *Curr Opin Genet Dev* 14:591-598.

Figura 17-17. A, B, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 17-18. A, C, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 17-19. A, B, Cortesia da Dra. Abigail Tucker. Adaptada a partir de Tucker AS, Lumsden A. 2004. Neural crest cells provide species-specific patterning information in the developing branchial skeleton. *Evol Dev* 6:32-40. C, Cortesia do Dr. Richard Schneider. Adaptada a partir de Eames BF, Schneider RA. 2005. Quail-duck chimeras reveal spatiotemporal plasticity in molecular and histogenic programs of cranial feather development. *Development* 132:1499-1509.

Figura 17-20. Cortesia do Dr. Michael Depew. Adaptada a partir de Depew MJ, Lufkin T, Rubenstein JL. 2002. Specification of jaw subdivisions by *Dlx* genes. *Science* 298:381-385.

Figura 17-21. D, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 17-22. B, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 17-23. Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio.

Figura 17-28. C, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 17-29. Com permissão da Dra. Robin Krimm. Adaptada a partir de Ma L, Lopez GF, Krimm RF. 2009.

Epithelial-derived BDNF is required for gustatory neuron targeting during a critical developmental period. *J Neurosci* 29:3354-3364.

Figura 17-34. Adaptada a partir de Irving D, Willhite C, Burk D. 1986. Morphogenesis of isotretinoin-induced microcephaly and micrognathia studied by scanning electron microscopy. *Teratology* 34:141-153.

Figura 17-35. E, Cortesia da Dra. Abigail Tucker.

Figura 17-36. Cortesia dos Drs. YiPing Chen e Yanding Zhang. Adaptada a partir de Zhang YD, Chen Z, Song YQ et al. 2005. Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Res* 15:301-316.

Figura 17-37. Cortesia da Dra. Abigail Tucker.

Figura 17-38. A-G, Cortesia do Dr. Martyn Cobourne. C, G, Adaptadas a partir de Cobourne MT, Sharpe PT. 2013. Disease of the tooth: the genetic and molecular basis of inherited anomalies affecting the dentition. *WIREs Dev Biol* 2:183-212.

Figura 17-39. A, B, Cortesia da Dra. Jodi L. Smith.

Figura 18-1. A, Cortesia da família. B, Cortesia dos Drs. Nancy Bonini e Derek Lessing.

Figura 18-2. A, Cortesia do Dr. Robert E. Waterman. B, G, Adaptadas a partir de Kikuchi T, Tonosaki A, Takasaka T. 1988. Development of apical-surface structures of mouse otic placode. *Acta Otolaryngol* 106:200-207.

Figura 18-4. Cortesia da Dra. Doris K. Wu. Adaptada a partir de Morsli H, Choo D, Ryan A et al. 1998. Development of the mouse inner ear and origin of its sensory organs. *J Neurosci* 18:3327-3335.

Figura 18-5. A, Cortesia da Dra. Suzanne L. Mansour e C. Albert Noyes. B, Adaptada a partir de Kelley MW. 2006. Regulation of cell fate in the sensory epithelia of the inner ear. *Nat Rev Neurosci* 7:837-849.

Figura 18-6. Adaptada a partir de Riccomagno MM, Takada S, Epstein DJ. 2005. Wnt-dependent regulation of inner ear morphogenesis is balanced by the opposing and supporting roles of Shh. *Genes Dev* 19:1612-1623.

Figura 18-8. A, B, Adaptadas a partir de Barald KF, Kelley MW. 2004. From placode to polarization: new tunes in inner ear development. *Development* 131:4119-4130. C, Adaptada a partir de Frolenkov GI, Belyantseva IA, Friedman TB, Griffith AJ. 2004. Genetic insights into the morphogenesis of inner ear hair cells. *Nat Rev Genet* 5:489-498. D, Adaptada a partir de Kelley MW. 2006. Regulation of cell fate in the sensory epithelia of the inner ear. *Nat Rev Neurosci* 7:837-849.

Figura 18-10. Adaptada a partir de Kelley MW. 2006. Regulation of cell fate in the sensory epithelia of the inner ear. *Nat Rev Neurosci* 7:837-849.

Figura 18-11. A, Cortesia do Dr. Gregory Frolenkov. Adaptada a partir de Frolenkov GI, Belyantseva IA, Friedman TB, Griffith AJ. 2004. Genetic insights into the morphogenesis of inner ear hair cells. *Nat Rev Genet* 5:489-498. B, C, Cortesia da Dra. Jenny Murdoch. Adaptadas a partir de Curtin JA, Quint E, Tsipouri V et al. 2003. Mutation of Celsr1 disrupts planar polarity of inner ear hair cells and causes severe neural tube defects in the mouse. *Curr Biol* 13:1129-1133.

Figura 18-12. Adaptada a partir de Dahlen RT, Harnsberger HR, Gray SD et al. 1997. Overlapping thin-section fast spinecho MR of the large vestibular aqueduct syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol* 18:67-75.

Figura 18-13. Adaptada a partir de Steel KP, Kros CJ. 2001. A genetic approach to understanding auditory function. *Nat Genet* 27:143-149.

Figura 18-14. A, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 18-15. A, B, C, D, F, Cortesia do Dr. Roger E. Stevenson. Adaptadas a partir de Carey JC. 2006. Ear. Em Stevenson RE, Hall JG (eds): *Human Malformations and Related Anomalies*. Second Edition. Oxford University Press, London, pp. 327-371. E, Cortesia do Dr. John C. Carey and Meg Weist. Adaptada a partir de Kumar S, Marres HA, Cremers CW, Kimberling WJ. 1998. Autosomal-dominant branchio-otic (BO) syndrome is not allelic to the branchiooto-renal (BOR) gene at 8q13. *Am J Med Genet* 76:395-401.

Figura 19-1. A, Cortesia do Dr. Robert E. Waterman. C, Adaptada a partir de Morrissey-Kay GM. 1981. Growth and development of pattern in the cranial neural epithelium of rat embryos during neurulation. *J Embryol Exp Morphol* 65 Suppl:225-241. E, Adaptada a partir de Garcia-Porrero JA, Colvee E, Ojeda JL. 1987. Retinal cell death occurs in the absence of retinal disc invagination: experimental evidence in papaverine-treated chicken embryos. *Anat Rec* 217:395-401. I, Adaptada a partir de Morse DE, McCann PS. 1984. Neuroectoderm of the early embryonic rat eye. Scanning electron microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25:899-907.

Figura 19-3. A, B, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

Figura 19-6. A, B, Cortesia da Dra. Sabine Fuhrmann. C, Adaptada a partir de Martinez-Morales JR, Rodrigo I, Bovolenta P. 2004. Eye development: a view from the retina pigmented epithelium. *Bioessays* 26:766-777. D, Adaptada a partir de Ashery-Padan R, Gruss P. 2001. Pax6 lights-up the way for eye development. *Curr Opin Cell Biol* 13:706-714.

Figura 19-7. B, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin.

- Figura 19-8.** Adaptada a partir de Traboulsi EI. 2006. Eye. Em Stevenson RE, Hall JG (eds): *Human Malformations and Related Anomalies*. Second Edition. Oxford University Press, London, pp. 297-325.
- Figura 20-1.** Cortesia de Freddie Astbury. Adaptada a partir de Thalidomide UK (www.thalidomideuk.com).
- Figura 20-2.** A, Cortesia do Dr. Robert E. Waterman. B-D, Adaptadas a partir de Kelley RO. 1985. Early development of the vertebrate limb: an introduction to morphogenetic tissue interactions using scanning electron microscopy. *Scan Electron Microsc* (Pt 2):827-836.
- Figura 20-3.** A, C, Adaptadas a partir de Alberts B, Johnson, A, Lewis J et al. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Fourth Edition. Garland Science, New York.
- Figura 20-4.** Adaptada a partir de Mariani FV, Martin GR. 2003. Deciphering skeletal patterning: clues from the limb. *Nature* 423:319-325.
- Figura 20-5.** Cortesia dos Drs. Sheila Bell e W. Scott.
- Figura 20-6.** B, Cortesia do Dr. Martin J. Cohn. Adaptada a partir de Cohn MJ, Izpisua-Belmonte JC, Abud H et al. 1995. Fibroblast growth factors induce additional limb development from the flank of chick embryos. *Cell* 80:739-746.
- Figura 20-7.** Adaptada a partir de Mariani FV, Martin GR. 2003. Deciphering skeletal patterning: clues from the limb. *Nature* 423:319-325.
- Figura 20-8.** Adaptada a partir de Izpisua-Belmonte JC, Duboule D. 1992. Homeobox genes and pattern formation in the vertebrate limb. *Dev Biol* 152:26-36.
- Figura 20-9.** Adaptada a partir de Davis AP, Witte DP, Hsieh-Li HM et al. 1995. Absence of radius and ulna in mice lacking hoxa-11 and hoxd-11. *Nature* 375:791-795.
- Figura 20-10.** Cortesia do Dr. Mario Capecchi. Adaptada a partir de Wellik DM, Capecchi MR. 2003. Hox10 and Hox11 genes are required to globally pattern the mammalian skeleton. *Science* 301:363-367.
- Figura 20-12.** A, Cortesia do Dr. Arnold Tamarin. B, C, Cortesia do Dr. Robert E. Waterman.
- Figura 20-13.** Adaptada a partir de Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Fourth Edition. Garland Science, New York.
- Figura 20-14.** A, Cortesia do Dr. Rolf Zeller. Adaptada a partir de Panman L, Zeller R. 2003. Patterning the limb before and after SHH signalling. *J Anat* 202:3-12. C, D, Cortesia do Dr. Cliff Tabin. Adaptada a partir de Harfe BD, Scherz PJ, Nissim S et al. 2004. Evidence for an expansion-based temporal Shh gradient in specifying vertebrate digit identities. *Cell* 118:517-528.
- Figura 20-15.** Cortesia do Dr. Rolf Zeller. Adaptada a partir de Welscher P, Zuniga A, Kuijper S et al. 2002. Progression of vertebrate limb development through SHH-mediated counteraction of GLI3. *Science* 298:827-830.
- Figura 20-16.** Adaptada a partir de Chan DC, Laufer E, Tabin C, Leder P. 1995. Polydactylous limbs in Strong's Luxoid mice result from ectopic polarizing activity. *Development* 121:1971-1978.
- Figura 20-18.** B, Cortesia do Dr. Sigmar Stricker. Adaptada a partir de Stricker S, Mundlos S. 2011. Mechanisms of digit formation: human malformation syndromes tell the story. *Dev Dyn* 240:990-1004.
- Figura 20-19.** A, B, C, E, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio. D, Cortesia do Dr. David Vischokil. F, Cortesia do Dr. John C. Carey.
- Figuras 20-20, 20-21.** Cortesia da Dra. Irene Hung.
- Figura 20-22.** A, Cortesia do Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, Ohio. B, C, Cortesia do Dr. Thomas Lufkin. Adaptadas a partir de Kraus P, Lufkin T. 2006. Dlx homeobox gene control of mammalian limb and craniofacial development. *Am J Med Genet A* 140:1366-1374.
- Figura 20-23.** Cortesia de Muragaki Y, Mundlos S, Upton J, Olsen BR. 1996. Altered growth and branching patterns in synpolydactyly caused by mutations in HOXD13. *Science* 272:548-551.
- Figuras 20-24, 20-25.** Cortesia da Dra. Irene Hung.
- Figura 20-26.** Adaptada a partir de Tosney KW, Landmesser LT. 1985. Development of the major pathways for neurite outgrowth in the chick hindlimb. *Dev Biol* 109:193-214.
- Figura 20-27.** Adaptada a partir de Tosney KW, Landmesser LT. 1984. Pattern and specificity of axonal outgrowth following varying degrees of chick limb bud ablation. *J Neurosci* 4:2518-2527.
- Figura 20-29.** A, B, D, Adaptadas a partir de Kania A, Johnson RL, Jessell TM. 2000. Coordinate roles for LIM homeobox genes in directing the dorsoventral trajectory of motor axons in the vertebrate limb. *Cell* 102:161-173. C, Adaptada a partir de Shirasaki R, Pfaff SL. 2002. Transcriptional codes and the control of neuronal identity. *Annu Rev Neurosci* 25:251-281.

Índice

Números de página seguidos por *f* indicam figura; *t*, tabelas; *q*, quadros

A

Abdome

- inervação simpática do, 244, 244*f*
- inferior, inervação parassimpática do, 244, 245*f*

Abdutores, dos membros inferiores, 192, 192*t*

Abóbada (calota) craniana, 434

Abordagem genética direta, 110

Abordagem genética reversa, 114–115

Abortivo, RU-486 como, 38*q*–41

Aborto, espontâneo, anormalidades cromossômicas e, 28*q*

Accutane®, teratogenicidade do, 131

Acetazolamida, 514*q*

Ácido desoxirribonucleico (DNA), 19

- replicação e recombinação do, na meiose, 20–21*t*, 22

Ácido fitânico, na doença de Charcot-Marie-Tooth, 242*q*

Ácido fólico, suplementação, para reduzir a incidência de DTNs, 92*q*

Ácido gama-aminobutírico (GABA), orientação axonal e, 245*q*

Ácido hialurônico, no estroma, 496

Ácido retinoico, regulação do gene Hox pelo, 180*q*

Ácido valproico, 514*q*

- defeitos do tubo neural e, 92*q*

Acondroplasia, 173*q*, 174*f*, 190*q*

Acromegalia, 190*q*

Acrossômica, 24

Activina A, retina neural e, 494*q*

Activina B, regionalização do tubo intestinal e, 345*q*

Activina(s), células progenitoras cardíacas, especificação da, 269*q*

ADAM2, na fertilização, 33

ADAM, na fertilização, 33

Adenocarcinoma de células claras, da vagina, 413*q*–415

Adeno-hipófise, 225

Adenoides, 463

Adenose vaginal, 413*q*–415

Adesão célula-célula, 67*q*–68

- na transformação epitélio-mesenquimal, 67*q*–68

Adesão célula-matriz extracelular, 67*q*–68

Adesões intertalâmicas, 217–218, 219*f*

Adutores, dos membros inferiores, 192, 192*t*

Afadina, na transformação mesênquima-epitelial, 67*q*–68

Afaquia, 490q
Agenesia anal, 373q, 374f
Agenesia caudal, 76q–77q
Agenesia pulmonar, 256q–258q
Agenesia renal, 144
 bilateral, 375q, 381, 383q–385q
 e displasia, 385q–386
 unilateral, 385q–386
Agenesia sacral, 76q–77q, 77f
Agiria, 228q
Alantoide, 84, 85f, 371, 372f
Ala orbitalis, 434
Ala temporalis, 434
Albinismo, 104q
Albumina, especificação e destino do hepatoblasto e, 350q
Alça cervical, 468–469
Alça intestinal, primária, 341, 357–358f–359f, 364
Alças jeunoileais, 357, 358f
Álcool, 514q
 anormalidades craniofaciais devido ao, 465q
 holoprosencefalia e, 438q
 síndromes devidas ao, 109–109f, 110
Alfafetoproteína do soro materno (MS AFP), defeitos do tubo neural e, 92q
Alfafetoproteína, maternal, 146
 defeitos do tubo neural e, 92q
Alisfenoide, 434, 441, 442f
Alk1
 angiogênese e, 311q–312q
 telangiectasia hemorrágica hereditária e, 313q
Alk5
 angiogênese e, 311q–312q
 telangiectasia hemorrágica hereditária e, 313q
Almofadas tátteis, 506
Alvéolo(s), 469
 diferenciação do, base molecular e celular do, 258q
 primitivo, 251, 254–255
Amelia, 514q
Ameloblastos, 468
Amelogênese imperfeita, 469q–471
Amh, 401, 401q–402, 403f
 matriz metaloproteinase tipo 2 (MMP2) e, 401q–402
 síndrome do ducto mülleriano persistente e, 401q–402
Amígdala(s)
 faríngeas, 463
 linguais, 463
 palatinas, 458
 tubárias, 463
Âmnio, 46f, 47–48
Amniocentese, 28q, 135q, 149–149f, 150
 defeitos do tubo neural e, 92q
Amostragem de vilosidades coriônicas (CVS), 28q, 150, 150f, 514q

Ampola, 477–478
do oviduto, 24
ureteral, 379

Ampola de Vater, 354

Anáfase
meiótica, 20f, 21–21t, 22
mitótica, 20f, 21t

Anágenos, 165

Análise cromossômica, 28q
Análise do sequenciamento completo do genoma, 132q

Anéis vaginais, 38q–41

Anéis vasculares, 324q, 326f–328f

Anel fibroso, 179, 180f

Anel umbilical, 133, 138, 251

Anencefalia, 92q

Angioblastos, 309

Angiogênese, 304, 309–310f, 312, 312f–313f
por brotamento, 310, 310f
por intussuscepção, 310, 310f

Angiomas, 313q

Angiopoietina-1 (Ang1), angiogênese e, 311q–312q

Animais experimentais, teratógenos na, 142

Animais transgênicos, 112–114
camundongos como, 114–115, 120, 120f
condicional, 120–121
transitório, 121–122

Aniridia, 498q–499q

Anoftalmia, 488q, 490q

Anomalia de Duane, 195q, 498q–499q

Anomalia de Poland, 195q, 514q

Anomalia Klippel-Feil, 184q–185q

Anomalias craniofaciais, causas de, 465q, 466f

Anomalias da coluna, 107q

Anomalias urogenitais, 391f

Anomalias vasculares, provenientes de erro na remodelação de grandes vasos, 324q

Anormalidades cromossômicas, 28q
aborto espontâneo devido a, 28q
desenvolvimento anormal decorrente de, 28q
surgindo durante a gametogênese e clivagem, 28q

Anormalidades multifatoriais, 298q–302q

Anosmia, na síndrome de Kallmann, 229q

Anotia, 485q–487q

Anquiloglossia, 459–460

Antebraço, 506

Antecipação genética, 215q

Antennapedia, 124

Antibióticos, aminoglicosídeos, perda auditiva e, 482q

Antígeno nuclear da célula germinativa 1 (Gcna), 16q

Anti-hélice, 485

Antitrágus, 485

Antro, 25–26

Antro mastóideo, 485

Ânus

deslocado anteriormente (ânus ectópico anterior), 373q

imperfurado, 373q, 374f, 393q

recoberto, 373q

Aorta

artérias umbilicais e, 322

ascendente, 298, 318

cavalgamento (sobreposição), tetralogia de Fallot, 298q–302q

coarcação da, 324q, 328f

descendente, 318

dorsal, 279, 314–315, 320–327

sistema vitelino e, 320, 321f

ramos intersegmentares da, 320–322

ramos laterais da, 320, 322f

remodelação dos ramos da artéria intersegmentar e, 322–325f, 327

Aparato faríngeo, 440

linha do tempo do desenvolvimento do, 430f

Aparelho vestibular, 474–475

Apêndice

epidídimo, 405–406

testículo, 400f, 401

vermiforme, 357, 358f

Apêndice endolinfático, 475–476, 477f

Apêndices pré-auriculares, 485q–487q, 486f

Apêndice vermiciforme, 357, 358f

Aplasia bilateral congênita dos canais deferentes (CBAVD), 406q–407q

Aplasia de Michel, 482q

Aplasia labiríntica, 482q

Apoptose, 67q–68, 111

de células germinativas primordiais, 16q

Aqueduto cerebral (de Sylvius), 200–202, 216f–217f, 217

Aqueduto vestibular, grande, 482q, 483f

Aquiropodia, 514q

Aracnoide, na espinha bífida, 92q

Arco aórtico cervical, 431q

Arco palmar, 322, 325f

Arco(s) aórtico (s)

cervical, 413q

defeitos do, 324q, 326f–328f

do lado direito (à direita), 324q, 327f

duplo, 324q, 326f

interrompido, 324q, 327f

primeiro, formação do, 271f

Arcos branquiais, 314

Arcos faríngeos, 99, 314, 440–441f, 449

elementos cartilaginosos e esqueléticos dos, 440–442, 442f, 443t

Arco vertebral, formação do, 175–176

Área cardiológica, 84

Área de estágio da migração, 97q–99

Aromatase, gonadogênese feminina e, 409q–411q

Artéria aorta, 271f
Artéria axial (áxis), 322, 324f–325f
Artéria braquial, 322, 325f
Artéria braquiocefálica, 316f–317f, 318
Artéria celíaca, 320, 321f, 341
Artéria coronária, 298q–302q, 302f, 318
Artéria coronária esquerda (ACE), anômala, 302q
Artéria do arco aórtico, desenvolvimento da, 315f
Artéria estapedial, 315–316f–317f, 318
Artéria fibular (peroneal), 322
Artéria hialoide, 488, 496
Artéria isquiática, 322
Artéria nutriente, 187–188
Artéria poplítea, 322
Artéria pulmonar, 267
Artéria subclávia
direita, 318
aberrante, 324q, 326f
esquerda, 318
Artérias carótidas
comum, 316f–318f, 318, 332, 443–444
externa, 316f–318f, 318, 332, 443–444
interna, 316f–318f, 318, 332, 443–444
Artérias cervicais, 322
Artérias epigástricas, 322
Artérias espirais, 138
Artérias gonadais, 320, 322f
Artérias ilíacas, 322, 324f
Artérias intercostais, 320
superiores, 322
Artérias interósseas, anteriores, 322
Artérias intersegmentares, 304
cervical, 318
ramos das, artérias dos membros formadas pela remodelação de, 322–324f–325f, 327
Artérias maxilares, 315–316f–317f, 318
Artérias medianas, 322, 325f
Artérias mesentéricas, 320, 321f, 341, 345
Artérias radiais, 322, 325f
Artérias renais, 320, 322f
acessórias, 386–387
Artérias sacrais, 320
Artérias suprarrenais, 320, 322f
Artérias, *vs.* veias, 312
formação das, 312q–313q, 313f
Artérias torácicas, internas, 322
Artérias ulnares, 322, 325f
Artérias umbilicais, 304, 321f, 322, 324f
Artérias vertebrais, 322, 323f
Artérias vitelinas, 304, 320, 321f
Articulação(ões)
desenvolvimento da, 187–189f, 191

regulação molecular da, 189f, 188q–190q
diartrodial (sinovial), 188
sincondrose (fibrosa), 188, 519
sinovial, 519

Articulação temporomandibular (ATM), 442–443
Árvore de vilosidade placentária, 136–137
Árvore respiratória
anormalidades do desenvolvimento da, 256q–258q, 257f
desenvolvimento da, 252–260
indução da, 255q
linha do tempo do desenvolvimento, 252f

Assimetria das mãos, 60q–64
Assinaturas neurocutâneas, 92q
Associação VACTERL, 76q–77q, 184q–185q, 256q
Associação VATER, 76q–77q, 184q–185q, 256q
Associação WAGR, 498q–499q

Astrócitos, 204
Ataxia, 215q
Ataxia de Friedreich, 215q
Ataxia-telangiectasia, 215q, 498q–499q
Atresia anal, 373q
Atresia esofágica, 256f, 256q
Atresia pilórica, 130
Átrio esquerdo, veia oblíqua do, 330f, 333
Átrios
esquerdo, veia oblíqua do, 330f, 333
primitivos, 271–275
septação inicial dos, 286f

Atriquia, 166q
Atrofia olivopontocerebelar, 215q
Aurícula (átrio)
direita, 281
esquerda, 281
Ausência de célula germinativa (Gcl-1), desenvolvimento da célula germinativa primordial e, 16q
Autócrino, 509q
Autópole, 514f
Autossomos, 19, 396
Axônio(s)
das células ganglionares da retina
direcionamento espacial do, 220q, 221f
ultrapassando a linha média de, 220q, 222f–223f
doença de Charcot-Marie-Tooth, 242q
Azoospermia, 406q–407q, 423q–427

B
Baço, 341
acessório, 356
desenvolvimento do, 356
Bainhas epidérmicas da raiz, externas, 165, 165f
Banco de sangue de cordão, 153
Banda(s) amniótica(s), 514q

Bandas de Ladd, 360q
Barbatana nasal, 453, 454f
Barra esternal, 179–180, 181f
Barra palato-pterigo-quadrado, 440–441
Barreira hematonervosa, 242q
Bastonetas, 492
Bastonetas fotorreceptores, 492–494
BDNF (fator de crescimento derivado do cérebro), sobrevida e diferenciação do neurônio periférico e, 103q–104q
Bebê colódio, 156
Bebês prematuros, sobrevida dos, maturação pulmonar e, 256q–258q
Bexiga
 extrofia, 86q, 360q, 388q–389
 presuntiva, 387
 trígono da, 387
Bf1/Bf2, subdivisão das vesículas ópticas e, 220q
Bf1, padronização da placa e do tubo neural e, 202q
Bigorna, 441, 442f, 473–475, 485
Biologia celular, 108, 116
Biologia molecular, 108, 116
Blaschko, linhas de, 159q, 160f
Blastema glenoide, 442–443
Blastocele, 37
Blastocisto
 aderência ao epitélio uterino, implantação e, 46q–47q
 eclosão do, 37
 transformação da mórula em, 37
Blastoderme, bilaminar, 47
Blastômeros, 35
 diferenciação dos, 36q
Blefarofimose, 498q–499q
Bmp2
 células progenitoras cardíacas, especificação das, 269q
 delaminação de células da crista neural e, 96q
Bmp4
 broto uretérico e, 383q–385q
 delaminação de células da crista neural e, 96q
 desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f
 formação da genitália externa e, 417q–418, 418f
 no desenvolvimento da linha germinativa, 16q
 proeminência facial e, 450q–453
 subdivisões do somito e, 104q
Bmp7
 broto uretérico e, 383q–385q
 desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f
Bmpr, 127
Bmpr2, 127
Bmp(s) (proteínas morfogenéticas ósseas)
 condrogênese e, 188q–190q
 especificação e destino do hepatoblasto e, 350q
 formação da linha primitiva e, 60q–64
 indução neural e, 77q–80

morfogênese branquial do pulmão e, 258q
na neurulação, 90q–92q, 91f
orientação axonal e, 245q
padronização da placa e do tubo neural e, 202q
padronização da retina neural e, 220q
subdivisões mediolaterais da mesoderma e, 67q–68
vasculogênese e, 311q–312q

Boca, formação da, 69–70

Bolsa de Rathke, 225, 226f

Bolsas faríngeas, 440, 462–463f–464, 464f
quinta, 463–464

BOR *See* Síndrome brânquio-otorrenal (BOR)

Botões gustativos, 458–459, 460f, 461q, 462f
distais, 458–459, 460f

Brachiyury, formação da linha primitiva e, 60q–64

Braço, 506

Braquidactilia, tipos C e A2, 190f–191f, 190q

Bronquíolos
respiratórios, 251, 254–255
terminais, 251, 254–254f, 255

Brônquios, primários, 252–254

Brotamento dentário, 466

Brotamentos trofoblásticos, 136

Broto brônquico
primário, 251–254
secundário, 251–254

Broto caudal, formação do, 80–81

Broto pancreático, 352, 352f

Brotos dos membros, 501
inervação dos, 519–520f, 521
padronização dos, 503q, 504f–508f

Brotos pulmonares, 251

Brotos uretéricos, 375, 379, 379f
brotamento de, 383q–385q
indução e, 383q–385q
formação do nefro, 383q–385q
ramificação, 380f

Bulbos olfatórios, 217

Bulbos sinovaginais, 413

C

Cabeça
do espermatozoide, 23f, 24
formação da, 77q–80, 80f
linha do tempo do desenvolvimento da, 430f
origem da, 434q

Cabelo(s), 162
anomalias do, 166q
desenvolvimento do, 163–165f–166f, 167
padronização e diferenciação da regulação do, 165q–166q, 166f
terminal, 165

Cadeias pesadas de miosina. Ver MyHCs

Caderina(s)

- conversão mesênquima-epitelial, [383q–385q](#)
- transformação da mórlula em blastocisto na, [37](#)
- transformação epitélio-mesenquimal e, [67q–68](#)

Cálices

- principais, [379–380, 381f](#)
- secundários, [379–380, 381f](#)

Calvária, [434](#)

- Camada basal, da pele, [156, 157f](#)
- Camada compacta, do miocárdio, [289q, 290f](#)
- Camada córnea, da pele, [157, 158f](#)
- Camada cornificada, da pele, [157, 158f](#)
- Camada de células de Purkinje, [213–213](#)
- Camada de células ganglionares, [488](#)
- Camada do estroma, [496](#)
- Camada espinhosa, da pele, [157, 158f](#)
- Camada fibrosa, da retina, [492–494](#)
- Camada germinativa, da pele, [156–157](#)
- Camada germinativa, do cerebelo, [213, 213f](#)
- Camada granulosa
 - da pele, [157, 158f](#)
 - do córtex, [213–213, 213f](#)
- Camada intermediária, da pele, [156–157, 157f](#)
- Camada molecular, do córtex cerebelar, [213–213](#)
- Camada neuroblástica, [492, 494f](#)
- Camada nuclear, [488](#)
- Camada papilar, [161](#)
- Camada pós-epitelial, acelular, [496](#)
- Camada reticular, [161](#)

Camadas de tecidos embrionários, dos olhos, [489](#)

Câmara anterior, do olho, [488, 496, 497f](#)

Câmara posterior, do olho, [488, 497f](#)

Campos cardíacos

- primeiro, [267, 269, 269f](#)
 - mutações genéticas direcionando, [276q](#)
 - segmento de saída do coração, [276q](#)
 - segundo, [269, 269f, 273–275](#)
 - mutações genéticas direcionando, [276q](#)

Campo ungueal, [169](#)

camundongo, [114–115, 115f](#)

- células-tronco embrionárias e, [131–132](#)
 - clonagem e, [131–132](#)
 - mecanismos da, [108–132](#)
 - princípios da, [108–132](#)
 - técnicas experimentais na, [115–122](#)
 - embriologia experimental clássica como, [116–116f–117, 118f](#)
 - manipulação da expressão gênica e, [119–119f, 122](#)
 - visualização da expressão gênica e, [117–119](#)
 - vias de sinalização na, [122–131](#)
- Drosophila*, [122–125](#)

embrião vertebrado, 125–125f, 131
Camundongos “splotch”, 192q
Canal anorrectal, 371, 387
 dorsal, 341
Canal atrioventricular, 286–287
 persistente, 298q–302q
 septação dos átrios e divisão do, 285–288
Canal auditivo, externo, 473–475, 487q
Canal deferente, 24, 400f, 405–406, 406q–407q
 aplasia bilateral congênita do, 406q–407q
 regulador da condução transmembrana na fibrose cística, 406q–407q
Canal genital, 413, 414f
Canal hialoide, 496
Canalículos biliares, 350
Canal neuroentérico, 71, 72f
Canal retocloacal, 388q–389
Canal uterovaginal, 413, 414f
Canais deferentes, 394
Canais inguinais, 394, 419–419f, 421
 anel profundo do, 419–419f, 421
 anel superficial do, 419–419f, 421
Canais iônicos, 482q
Canais pericardioperitoneais, 251, 260–262
Canais semicirculares, 473–475
Câncer
 cervical, 56q
 do cólon, 56q
 sinalização Wnt defeituosa e *turnover* da β -catenina, como prenúncio de, 366f, 366q
Cantrell, pentalogia de, 360q
Capacitação, de espermatozoides, 24
Cápsula articular, 188
Cápsula de Bowman, 377, 378f
Cápsula interna, 225
Cápsula ótica, 433, 473, 480
Cápsulas sensoriais, 431–432
Capuz epitelial, 501
Carcinoma cervical, 56q
Cárdia bífida, 271–273
Cardiomegalia, 267q
Cariótipo, 28q
Cartilagem aritenoide, 442
Cartilagem articular, 188
Cartilagem cuneiforme, 442
Cartilagem de Meckel, 440–441, 442f
Cartilagem de Reichert, 441–442, 442f
Cartilagens costais, 179
Cartilagens cricoides, 442, 442f
Cartilagens epiglóticas, 442
Cartilagens hipofisárias, 434
Cartilagens paracordais, 433
Cartilagens pré-cordais, 432

Cartilagens secundárias, dos arcos faríngeos, 443
Catágena, 165
Cataratas, congênitas, 498q–499q
 β -Catenina
atividade “pró-ovariana” do, 411f
microcefalia e, 231q–232q
transformação mesênquima-epitelial e, 67q–68
turnover da, como prenúncio de câncer de cólon, 366f, 366q
Catenina(s)
conversão mesênquima-epitelial e, 383q–385q
Catepsina K, picnodisostose e, 190q
Cauda, do espermatozoide, 23f, 24
Cauda em círculo, na neurulação, 90q–92q
Caudalização, dos segmentos vertebrais, 180q, 184f
Cavidade amniótica, 47–48
desenvolvimento da, 47–48
Cavidade coriônica, 260
desenvolvimento da, 48–51
Cavidade do blastocisto, 37
Cavidade exocelômica, 46f, 48, 48f
Cavidade nasal, 453–454f, 457
Cavidade pericárdica, 251
definitiva, 261–262
futura, 260
primitiva, 251, 260–261, 262f
revestimento visceral da, 273
Cavidade peritoneal, 251, 260–261, 343
saco maior do, 349–350
saco menor do, 349–350
recesso inferior do, 349–350
recesso superior do, 349–350
Cavidade pleural, 251, 260–262
Cavidades corporais, desenvolvimento das, 251–266
linha do tempo das, 252f
Cavidade sinovial, 188
Cavidade timpânica, 458, 485
Cavidades orais, 453–454f–455f, 457
Cdx1, regionalização do tubo intestinal e, 345q
Cdx2
diferenciação do blastômero e, 36q
regionalização do tubo intestinal e, 345q
Cdx4, regionalização do tubo intestinal e, 345q
C/EBP α , função hepática e, 350q
Ceco, 341
Cefalopolissindactilia de Greig, 438q, 514q
Celoma, 85
dobramento do corpo e, 343
extraembrionário, 48, 260
intraembrionário, 82, 84–85, 85f, 260, 260f–261f
CELSR1, na neurulação, 90q–92q
Células acinares pancreáticas, 353

Células alfa, 354q
Células amácrinas, 492–494
Células beta, 354q
Células bipolares, 492–494
Células cardíacas da crista neural, 295f
Células ciliadas, 476–477, 482q
da orelha interna, 480, 483f
especificação das, 482f
externas, 480
presuntivas, 480q–482q
Células corticais suprarrenais, fetais, 388q–389
Células cromafins, 391
Células da crista neural, 77, 82, 89f, 96–100f, 105, 174, 234, 473
como células-tronco, 237q
craniais, 99–102, 234
provenientes do mesencéfalo, 99
rombencefálicas, 99–101, 101f
defeitos das, doença de Hirschsprung e, 370q–371
delaminação das, 96q
derivadas das, 99–101f–102f, 104f–105, 105f
formação das, transformação epitélio-mesenquimal nas, 95, 96q
formação do broto caudal e, 80
membrana timpânica e, 485
migração das, 96–99, 100f
fatores locais que orientam, 97q–99
mecanismos da, 97q–99
neurocristopatias, 104q
plasticidade das, 237q
prospectivas, 71
sacrais/lombossacrais, 103–104, 105f
tronco, 102–102f, 103, 104f
vagais, 102

Células da crista, neural, 82, 89f
Células da decidua, 37, 136
Células da ilhota, regulação do número de, 356q
Células da somitocèle, 175–176, 176f
Células de Cajal-Retzius, 227–228
Células de Golgi, 213
Células de Langerhans, na epiderme, 161, 161f
Células de Leydig, 394
diferenciação das, 404–405, 405q
Células de Meckel, na epiderme, 161
Células de Paneth, 364, 365f
Célula(s) de Purkinje, 213
Células de Schwann
desenvolvimento dos membros e, 519
mielinização dos axônios do sistema nervoso periférico e, 242q
Células de Sertoli, 16, 394
como principais organizadoras do testículo, 399q–401q, 402f–404f
diferenciação das, 399f–401f, 401
espermatozogênese e, 23f, 24

Células diploides, 19
Células do epiblasto, local de origem e destino de, 68–70f, 71
Células em cesto, 213
Células endoteliais, 306
hemogênicas, 308q
origem tecidual das, 519

Células enteroendócrinas, 364, 365f

Células ependimárias, 204

Células estreladas, 213

Células foliculares, 394, 408

Células ganglionares da retina (CGRs), 220q, 495
axônios das
direcionamento espacial do, 220q, 221f
ultrapassando a linha média pelos, 220q, 222f–223f
mapeamento do espaço visual pelas, 220q, 222f

Célula(s) germinativa(s), 389, 394
primordiais *See Gonócitos Células germinativas primordiais (CGPs)*

Células germinativas primordiais (CGPs), 16q *See also Gonócitos*
apoptose das, 16q
desenvolvimento das, regulação molecular da, 16q
estimulação da formação da gônada pelas, 16–18
migração para a parede dorsal do corpo, 16, 17f
no saco vitelínico, 16, 51
origem das, 16q
proliferação e sobrevida das, 16q

Células gliais, radial, 227

Células granulosas, 227
cerebelares, 210
do córtex cerebelar, 213

Células-guia (*tip cells*), 311q–312q

Células haploides, 19

Células horizontais, 492–494

Célula(s) *Ver Tipos específicos de células*
alongamento da, na neurulação, 90q–92q
comportamento da, 108
alterações na, movimentos morfogenéticos, 67q–68
crescimento diferencial e, 109
morfogênese e, 109
diploide, 19
forma das, na transformação epitelio-mesenquimal e, 67q–68
haploide, 19
número N, 19
ploidia das, 19

Células lúteas, 33

Células mastóideas, 485

Células mesangiais, 385q–386

Células mesenquimais derivadas do endocárdio, 286f

Células mesenquimais derivadas do epicárdio, 283

Células mioepiteliais, 167

Células mucosas, 364

Células musculares, comprometimento das, 194

Células pancreáticas endócrinas, 353
Células parafoliculares, 463–464
da tireoide, 99
Células pedunculares, 311q–312q
Células piramidais, 227
Células precursoras do endotélio, 304, 306
Células pré-Sertoli, 394
Células progenitoras cardíacas, 269, 269q
especificação das, 269q
Células progenitoras da retina, proliferação e diferenciação, regulação da, 494q
Células progenitoras, hematopoiéticas, 304, 306
Células satélites, 175, 175q, 234
Células somáticas de suporte, 16, 17f, 394, 396, 408
Células tecais, 413
Célula(s)-tronco, 108
células da crista neural e suas derivadas como, 237f, 237q
definição, 131
mesenquimais, 174
na pele, 158q–159q, 159f
pluripotência, 131
totipotência, 120, 131
Células-tronco embrionárias (TE), 120, 131
Células-tronco hematopoiéticas (CTHs), 97q–99
definitivas, 304, 306
fonte secundária de, 308f, 308q
intraembrionárias, como fonte da medula óssea adulta, 308q, 309f
linha do tempo das, 307f
primitivas, 304
Células-tronco pluripotentes induzidas (iPS), 131
Cimento, 469
Cementoblastos, 469
Centro de Nieuwkoop, 67q–68, 77q–80
Centro de ossificação primário, 187–188
Centrómero, 20
Centros de *imprinting*, 53q–54
Centros de organização, 77q–80
Centros de ossificação, secundários, 188
Centros de sinalização, 202q
Cerberus, 126
indução neural e, 77q–80
subdivisões mediolaterais da mesoderma e, 67q–68
Cerebelo, 204–205, 210, 211f
citodiferenciação do, 213f
displasias do, 215q
fissuras do
pré-piramidal, 211f, 212–213
secundário, 211f, 212–213
folia do, 211f, 212–213
heterotopias do, 215q
hipoplasias do, 215q
lobos do, 211f, 212–213

lóbulos do, 212–213
malformações e disfunção do, base celular e molecular do, 215q
substância cinzenta do, 213

Cérebro

citodiferenciação do tubo neural e, 204, 205f
crescimento do, 231–233
diferenciação do, 204–231
flexuras, formação do, 202–204
presuntivo, placa neural e, 77
tamanho do, 231q–232q, 232f
vesículas primárias do, subdivisão do, 200–201f, 202
vesículas secundárias do, 200–202

Cerron, Milagros, 59f, 59q

CGPs *See Células germinativas primordiais (CGPs)*

Chordin

especificação das células progenitoras cardíacas e, 269q
formação da linha primitiva e, 60q–64
indução neural e, 77q–80
na neurulação, 90q–92q
subdivisões mediolaterais da mesoderma e, 67q–68

Chx10, retina neural e, 494q

Cianose, diferencial, 324q

Ciclo de spin, na neurulação, 90q–92q

Ciclo menstrual, 33

hormônios e, 25, 25f

Ciclopia, 490q

Cílio, imóvel, 251q

Circulação uteroplacentária, desenvolvimento durante a 2^a semana, 51–51f, 52

Cirurgia fetal, 135q

Cisto cervical, 458, 459f

Cisto onfalomesentérico, 360q, 363f

Cisto(s)

cervical, 458, 459f
de Gartner, 413, 414f
onfalomesentérico, 360q, 363f
otocisto e, 473
tireoglosso, 461–462

Cistos de Gartner, 413, 414f

Cisto tireoglosso, 461–462

Citocinas, implantação e, 46q–47q

Citocinese

na meiose, 21–21t, 22
na mitose, 21t
na neurulação, 90q–92q

Citoesqueleto, na transformação epitélio-mesenquimal, 67q–68

Citomegalovírus (CMV), 141

perda auditiva e, 482q

Citotrofoblasto, 45, 45f

Clavícula, 431

Clitóris, 416, 417f

Clivagem, 35–36f, 37

segregação do blastômero na, 35–36f, 37
transformação da mórula em blastocisto na, 37

Cloaca, 341, 371, 372f
extrofia da, 86q–360q–364
particionamento defeituoso da, 388q–389

Clonagem, terapêutica e reprodutiva, 132

CMT1, 242q
CMT2, 242q
CMT4, 242q
CMTX, 242q

Coana
definitiva, 454, 455f
primitiva, 453, 454f

Cocaína, 514q
teratogênicos atravessam a placenta, 142

Cóclea, 474–475, 479f, 485

Código de combinação, 180q

Código Dlx, arco faríngeo e, 450q–453, 453f

Colágeno
conversão mesênquima-epitelial, 383q–385q
migração de células da crista neural e, 97q–99
no estroma, 496
tipo II, 175q

Colar ósseo primário, 188

Colículos, 216–216f, 217, 220q

Colinearidade temporal e espacial, 503q

Coloboma, 498f, 498q–499q

Colon
ascendente, 341
câncer de, 56q
sinalização Wnt defeituosa e *turnover* da β -caterina, como prenúncio de, 366f, 366q
descendente, 341
sigmoide, 341
transverso, 341

Coluna motora, 206

Columnas de células intermediolaterais, 204

Columnas motoras laterais (CML), 521q

Columnas renais, 382

Coluna vertebral, formação da, 175–176

Comissura anterior, 230–231, 231f

Comissura hipocampal, 230–231, 231f

Comissuras
anterior, 230–231
hipocampal (fórnix), 230–231
posterior, 218

Comissuras habenulares, 218

Comissuras posteriores, do epítalamo, 218

Compactação, 35–36, 36f
Compensação de dosagem, 53q–54
Compensação, genes *knockout* e, 120

Competência, 117, 202q

Complexo da parede do membro-corpo (LBWC; síndrome dos feixes amnióticos), 86q
Complexo ES (EDTA solúvel), formação da célula do coxim endocárdico, 283q
Complexo homeótico (Hom-C), 123–124, 124f
Complexos tubulobulbares, 24
Comunicação intercelular, 122
Concepto, falta de rejeição pela mãe do, 46q–47q
Concha cimba, 485
Côndilo mandibular, 442–443
Condom, masculino e feminino, 38q–41
Condrócitos, 174, 187, 187f
 hipertróficos, 187
Condrocrânio, 431–432
Condrodisplasia de Blomstrand, 169q
Condrodisplasia tipo Grebe, 190f, 190q
Condrodisplasia tipo Hunter-Thompson, 190q
Condrogênese, regulação molecular da, 188q–190q
Cone arterioso, 273–275
Cone(s), 492
Cones de crescimento, 220q, 224f, 520
 axonal, 241, 246f
 “pioneiro”, 245q
Cones fotorreceptores, 492–494
Conexões topográficas neurais, células retinianas e, 220q
Constituição genética, teratogenicidade da, 142
Constrição apical, na neurulação, 90q–92q
Constritores, da faringe, 445
Contracepção, 38q–41
 contraceptivos de barreira para, 38q–41
 dispositivos intrauterinos para, 38q–41
 eficácia da, 38q–41
 eficiência reprodutiva e, 38q–41
 pílulas para, 38q–41
 preparações de progesterona *depot* para, 38q–41
 RU-486, 38q–41
Contraceptivos de barreira, 38q–41
Controle de natalidade, método rítmico de, 82q
Convergência, 279
 na gastrulação, 67q–68
Cópula, 459–460, 460f
Coração
 câmaras primitivas, realinhamento, 288, 289f
 células progenitoras cardíacas, 269
 especificação da, 267–303
 circulações sistêmica e pulmonar, 280–283
 desenvolvimento do, 267–303
 epicárdio, desenvolvimento do, 296–303
 formação da célula do coxim endocárdico e transformação epitelio-mesenquimal durante, 283q
 formação do, 268f, 295–296
 formação dos vasos sanguíneos primitivos e, 279–280
 inervação simpática do, 244
 looping cardíaco e, 276–277f, 278

malformações, deleções do 22Q11.2 e, 298q–302q
marca-passo do, 295–296
mesentério dorsal do, 275
segmento de saída do, 276q
septação do, 283–295

- átrios e divisão do canal atrioventricular, 285–288
- via de saída e conclusão da, 291–292
- sub-regiões do, 279q
- valvas semilunares, desenvolvimento das, 292–295

Cordão do hipoglosso, 445

Cordão medular, 95

- formação de células da crista neural e, 95

Cordão umbilical, 133, 138, 140f, 251

- desenvolvimento do, 138
- gênese do, 140f

Corda timpânica, 460

Cordas tendíneas, 291

Cordões testiculares, 16, 394, 398, 400f–401f

Coriocarcinoma, surgindo proveniente de molas hidatiformes, 52q–53q

Cório *See* Derme

Córion, 48, 137

- fliso, 136
- frondoso, 133, 136
- Córion leve, 136
- Córnea, formação da, 496
- Cornificação, 157
- Corno do seio, 273–275
- Coroide, 488, 496
- Corpo caloso, 230–231
- Corpo ciliar, 488, 497
- Corpo estriado, 225
- Corpo lúteo, formação do, 33
- Corpo primário, desenvolvimento do, 81
- Corpora bigemina, 216–216f, 217
- Corpo secundário, desenvolvimento do, 81
- Corpo vertebral, formação do, 175–176
- Corpo vítreo, primário, 490
- Corpos polares, 19
- primeiro, formação do, 21–22
- Corpos ultimobranquiais, 463–464f
- Corpúsculo de Barr, 53q–54
- Corpúsculos de Hassall, 463
- Corpúsculos renais, 377
- Correlações genótipo-fenótipo, 190q, 399q–401q
- Côrtez cerebelar, 213
- Côrtez cerebral, 225, 227f

 - heterotopia do, 228q
 - malformações congênitas do, 228q

- Côrtez visual, primário, 220q, 221f
- Corti, órgão de, 480–481
- Costelas

falsas, 179
formação das, 175–176
verdadeiras, 179

Cotilédones, 133, 138

Coxa, 506

Coxins da via de saída derivados do endocárdio, 292

Cranialização, de segmentos vertebrais, 180q, 184f

Crânio, 431–432f–433f, 435f, 440

Craniorraquisquise, 92q

Craniosquise, 92q

Craniosinostose, 128, 190q, 191f, 434q–437f, 438, 471q, 472f

Crash, na neurulação, 90q–92q

Cre recombinase, 121

Crescente cardíaco, 267, 269, 275f, 276q

Crescente ventrotemporal, 220q, 223f

Crescimento, 67q–68
diferencial, 108–109
comportamento celular e, 109
fetal, 136t
restrição ao crescimento intrauterino e, 143

Crescimento desproporcional, 514q

Crescimento proximal-distal, 503q

Cri du chat (síndrome do miado do gato), 215q

Cripta
formação da linha primitiva e, 60q–64
na formação endodérmica, 47q

Criptas anais, 372, 373f

Criptas tonsilares, 462

Crioptalmia, 498q–499q

Criotorquidismo, 401q–402, 421, 421q

Crista ectodérmica apical (CEA), 501, 503

Cristalino, 488
diferenciação do, 493f
formação do, 490
morfogênese, 490q
vascularização do, 492f, 496

Cristalino, cataratas e, 498q–499q

Cristas epidérmicas, 161

Cristas genitais, 16, 396, 397f–398f

Cristas mamárias, 167, 168f

Crista terminalis, 281

Crista urogenital, 377, 383f

Cromátides, 20

Cromossoma, inativação do, 53q–54
doença congênita hereditária e, 56q

Cromossoma em anel, 28q

Cromossoma(s)
anel, 28q
materno, regulação do desenvolvimento do embrioblasto por, 53q–54
paterno, regulação do desenvolvimento do trofoblasto por, 53q–54
sexo, 19

Cromossomas sexuais, 19
 Crossing over, 20–21
Crura (pilares), direita/esquerda, do diafragma, 263
Cultura de órgão, para estudo do desenvolvimento pulmonar, 258q
Cúmulo oóforo, 26–26f, 27
expansão na resposta a surto de ovulação, 32
Cúpula, 480
Curva dose-resposta, teratogênicos, 142
Cúspide septal, 291
Cxcl12 (fator derivado da célula estromal-1), desenvolvimento da célula germinativa primordial e, 16q

D

Daltonismo, 494
Dax1
gonadogênese feminina e, 409q–411q, 412f
hiperplasia adrenal congênita, 392q
Decídua, 133, 136, 137f
Decídua basal, 133, 136
Decídua capsular, 133, 136
Decídua parietal, 133, 136
Decussação, 221f
Defeitos da parede abdominal, 360q
Defeitos da parede corporal anterior, 86q, 87f
Defeitos de duplicação, 514q
Defeitos de redução, 514q
Defeitos do septo atrial, 298q–302q, 299f
Defeitos do tubo neural (DTNs), 90q–92q, 93f–97f *See also Espinha bífida*
causa de, 92q
detecção precoce de, 92q
prevenção de, 92q
rastreamento do soro materno para, 146
tratamento de, 92q
Defeitos septais ventriculares, 298q–302q, 299f
tetralogia de Fallot, 298q–302q
Deficiência da 21-hidroxilase, 392q
Deficiência de pigmentação, 110f
Deficiência hereditária da proteína B surfactante, 256q–258q
Deformações, 108–109, 514q
Deformidade do pé torto, 514q, 519f
Dentes
anomalias dos, 469q–471, 471f
desenvolvimento dos, 466–467f–468f, 472
indução dos, 469q
primários (decíduos ou de leite), 469
secundários (permanentes), 469
Dentinogênese imperfeita, 469q–471
Dermamiótomo, 82, 105–106, 106f, 175–176, 176f
desenvolvimento do, 185q, 186f
Derme, 162f
formação da, 161, 162f
origem tecidual da, 519

Dermoides, epibulbares, 498q–499q
Descamação, da placa vaginal, 413
Desconforto respiratório, 267q
Desenvolvimento fetal, 133–134f, 154
avaliação diagnóstica pré-natal da saúde do bebê por nascer, 146–150
amniocentese, 149–149f, 150
amostragem de vilosidades coriônicas, 150, 150f
rastreamento do soro materno, 146
ultrassonografia para, 146–149
comprimento craniocaudal e, 135
desenvolvimento do cordão umbilical do, 138
desenvolvimento placentário e, 136–138
diabetes e obesidade maternos e, 143
durante o período fetal, amadurecimento dos sistemas orgânicos e crescimento fetal, 135–136, 136q
geração de gêmeos e, 144–146
líquido amniótico, produção e reabsorção do, 144
prematuro, 153–154, 154q
produção placentária de hormônios importantes, 143–144
sangue materno e fetal na placenta, troca do, 138–142
eritroblastose fetal, 138–140
patógenos virais e bacterianos, 141
teratógenos através da placenta, 142
transferência do DNA de células fetais para o plasma materno, 140–141
transmissão do HIV através da placenta, 141–142
tratamento do feto no útero, 150–151f–152f, 153

Desenvolvimento pré-natal, 3f
7-desidrocolesterol redutase (Dhcr7), síndrome de Smith-Lemli-Opitz e, 438q
Desidroepiandrosterona (DHEA), 391
Desmossomos, 37, 157
Destino do alantoide, 390f
Destino prospectivo, de células epiblásticas, 68–69
Determinação sexual, primária, 396
Deutanopia, 494, 495f
Dexametasona, 153
Dextrocardia, 60q–64
Dhh, diferenciação da célula de Leydig e, 405q
Diabetes
e obesidade, 143
início na maturidade, 354q
materno
defeitos do tubo neural e, 92q
holoprosencefalia e, 438q
tipo I, 356q
tipo II, 354q
Diabetes gestacional, 514q
Diáfise, 187–188
Diafragma, 263
defeitos do, 263q–265q
formação do, 260–264f, 266
Diagnóstico genético pré-implantação (DGPI), 38q–41
Diagnóstico pré-natal avalia a saúde do bebê por nascer, 146–150

amniocentese, 149
amostragem de vilosidades coriônicas, 150, 150f
rastreamento do soro materno, 146
ulassonografia para, 136, 146–149

Diencéfalo, 200–201f, 202, 217–218f, 225
nervo craniano associado ao, 206t

Dietilestilbestrol (DES), anomalias reprodutivas decorrentes de, 413q–415

Digoxigenina (DIG), 118–119

Di-hidrotestosterona, 405

Dineínas, síndrome de Kartagener e, 60q–64

Discinesia ciliar primária (DCP), 251q

Disco embrionário
bilaminar, 47
trilaminar, 65–66

Disco interarticular, 442–443

Disco óptico, 220q, 221f, 475

Discos nasais, 450

Disfagia, 324q

Disgenesia do segmento anterior do globo ocular, 498q–499q

Dishevelled 1/2, 90q–92q

Dismorfogênese, 108–132

Disostose mandibulofacial, 465q

Displasia broncopulmonar, 256q–258q

Displasia campomélica, 175q, 399q–401q

Displasia caudal, 76q–77q

Displasia cleidocraniana, 175q, 469q–471

Displasia craniofrontonasal, 129, 436q–438

Displasia da retina, 498q–499q

Displasia de Mondini, 482q

Displasia ectodérmica, hipo-hidrótica, 159q, 166q, 167

Displasias, 514q Ver Displasias específicas

Displasia septo-óptica, 498q–499q

Displasia tanatofórica, 128
tipo I, 190q
tipo II, 190q

Displasia unha-dente, 162q–162q

Displasia vestibulococlear, 482q

Dispneia, 324q

Dispositivos intrauterinos (DIUs), 38q–41

Disrafismo, 92q

Distocia, 413q–415

Distrofia muscular, 195q

Distrofia muscular de Duchenne, 195q
herança de, 56q

Distrofia muscular oculofaríngea, 195q

Distúrbio do espectro alcoólico fetal, 109–110

Distúrbios do desenvolvimento sexual, 423q–427
ovotesticulares, 411q

Distúrbios por poliglutamina, 215q

Divertículo, 341

Divertículo de Meckel, 360q, 363f

Divertículo hepático, 350
Divertículo respiratório, 251–253f, 254
Divisão celular orientada, 72q
Divisão parassimpática, do sistema nervoso autônomo, 103, 200, 204
Divisão simpática, do sistema nervoso autônomo, 200
gânglios em cadeia, 103
neurônios periféricos (pós-ganglionares), 103

DNA *See* Ácido desoxirribonucleico (DNA)

Dobra bulboventricular, 273–275

Dobra da cabeça, 260–261

Dobramento do corpo, 251, 261f, 343, 344f, 345t
celoma e, 343

Dobras de Rathke, 371–372

Dobra(s) do corpo
caudal, 83–84
cranial, 83–84
lateral, 83–84
plano corporal tubo-dentro-de-um-tubo, 83–85f–86f, 87

Dobras epicânticas, 498q–499q

Dobras labioescrotais, 394

Dobras pleuropéricardicas, 251
formação da cavidade pleural pelas, 261–262

Dobras urogenitais, 372, 372f, 394, 415, 417f

Doença da membrana hialina, 256q–258q

Doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT), 104

Doença de Hirschsprung, 104q, 369q–370q, 370f
defeitos das células da crista neural e, 370q–371

Doença de Milroy, 334q

Doença de Norrie, 498q–499q

Doença de Osler-Weber-Rendu, 306q

Doença de Refsum, 242q

Doença de von Hippel-Lindau, 313q, 314f

Doença de von Recklinghausen, 104q

Doença hemolítica do neonato, 138–140

Doença renal policística autossômica dominante (DRPAD), 385q–386

Doença renal policística autossômica recessiva (DRPAR), 385q–386

Doença renal policística (DRP)
congênita
tipo 2, 60q–64, 65f

Doença trofoblástica, persistente, surgindo proveniente de molas hidatiformes, 52q–53q

Dolly, 132

Double-cortin, malformação do córtex cerebral e, 228q

Drogas recreacionais, teratogênicas, 142

Drogas, teratógenos, 142

Ducto arterioso, 318, 324q, 337f, 339

Ducto arterioso patente (DAP) e, 267q, 298q–302q, 339q
insuficiência cardíaca com, 339q

Ducto biliar, comum, 352f, 353–354

Ducto cístico, 341, 350

Ducto coclear, 473, 476–477, 478q–480q

Ducto de Stensen, 464

Ducto ejaculatório, 406
Ducto endolinfático, 473, 475–476
Ducto lacrimal, 450
Ducto nasolacrimal, 450
Ducto pancreático
 acessório, 354
 principal, 354
Ducto parotídeo, 464
Ducto perilinfático, 478q–480q
Ducto reuniens, 476–477
Ductos de Wollf, 375, 377
Ductos espermáticos, 398
Ductos hepáticos, 350, 352f
Ductos lactíferos, 167, 168f
Ductos mesonéfricos, 375, 376f, 377, 379f, 388f
Ductos müllerianos, 385q–386, 394, 396, 397f
 persistentes, 401q–402
 nos indivíduos XY, 403q–405f
Ductos néfricos, 375, 377
Ductos paramesonéfricos, 388q–389, 390f, 394, 396, 397f, 413q
 regressão dos, 401q–402
Ducto tireoglosso, 461
Ducto torácico, 334, 335f–335f
Ducto venoso, 304, 330, 336–337f, 339
 anastomose da veia umbilical esquerda com, 330–332
Ducto vitelino, 82, 84, 85f, 343
Dúctulos eferentes, 377, 405–406
 dos testículos, 394
Duodeno, 341
Dura-máter, na espinha bífida, 92q

E

Eclosão assistida, 38q–41
Ecocardiografia, 298q–302q
 fetal, 149
Ecocardiograma, 306q
Ectoderma
 epiblasto consistindo em, 65–66
 formação da, 65–67f, 68
 placoidal, prospectiva, 71
 primitiva, 65–66
 superfície, 65–66, 77q–80, 82, 87, 89f
 prospectiva, 71
Ectopia cordis, 86q
Eda/Edar, desenvolvimento pulmonar e, 258q
Edemas labioescrotais, 415, 417f
Edemas linguais, laterais, 458–459, 460f
Eficiência reprodutora, 38q–41
Eflúvio telógeno, 166q
Efnb1, displasia craniofrontonasal e, 436q–438
Efrina(s), 128–129

células ganglionares da retina e, 220q
decussação de axônios ganglionares da retina e, 220q
desenvolvimento da genitália externa e, 417q–418
diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal e, 366q, 367f
mapeamento da retina e, 220q
migração de células da crista neural e, 97q–99
orientação axonal e, 245q
remodelação vascular e, 312q–313q, 313f
vasculogênese e, 312q–313q

Egf, desenvolvimento pulmonar e, 258q
Eixo craniocaudal, 503q
especificação do, 509q, 511f–513f

Eixo craniocaudal, formação da linha primitiva e, 59–60

Eixo dorsiventral, 47
especificação do, dos membros, 509q, 513f
formação da linha primitiva e, 59–60

Eixo esquerdo-direito
desenvolvimento do
defeitos no, 190f–191f, 190q
regulação molecular do, 189f, 188q–190q
estabelecimento do, 60q–64
formação da linha primitiva e, 59–60

Eixo mediolateral, formação da linha primitiva e, 59–60

Eixo proximal-distal, 501, 503q
Eixo radial, 364

Eixos do corpo, 9–9f, 10, 57–81
formação da linha primitiva e, 59–60

Ejaculação, de oviduto, 24

Elementos de resposta ao ácido retinoico (RAREs), *hindbrain* (rombencéfalo) e, 447q–448, 449f

Elementos do esqueleto, 501

Eletromotilidade, 480

Eletroporação, 120
embrião inteiro, 122

Embolia, 67q–68
Embolia, gemelar e, 144

Embrião
humano, 135f
partenogenético, 53q–54

Embrioblasto, 36
desenvolvimento do, regulação pelos cromossomos maternos, 53q–54
reorganiza-se no epiblasto e hipoblasto, 47

Embriões com monossomia do 21, 28q

Embriologia descritiva, 115–116

Embriologia experimental, 116
clássica, 116–116f–117, 118f

Embriologia experimental de corte e colagem, 108, 118f–119f, 122f, 278q

Embriologia humana, 14

Eminência caudal, formação da, 80

Eminência hipofaríngea, 459–460, 460f

Eminências ganglionares, 225

EMT *See* Transformação epitelio-mesenquimal (EMT)

Emx2, formação da gônada indiferenciada e, [399q–401q](#)

Encefalocele, [92q](#), [94f–95f](#)

Endocardite, ducto arterioso patente e, [339q](#)

Endoderma

definitivo, [65](#)

formação do, [65](#), [66f](#)

formação do, iniciação do, [47q](#)

intestino prospectivo, [69–70](#)

primitiva, [45f](#), [47](#)

visceral, anterior, [77q–80](#)

formação da linha primitiva e, [60q–64](#)

Endoderma do intestino posterior, para o trato urinário, [387–389](#)

Endoderma intestinal prospectiva, [70f](#)

Endoderma visceral anterior, [77q–80](#)

Endoglina *See Eng*

Endoneuro, [242q](#)

Endossonografia, [148](#)

Endotelina(s)

ducto arterioso patente e, [339q](#)

remodelação da artéria do arco aórtico e, [319q](#)

Endotélio corneano, [496](#)

Eng

angiogênese e, [306q](#)

na telangiectasia hemorrágica hereditária, [306q](#), [313q](#)

Engrailed, mapeamento da retina e, [220q](#)

Enterócitos, [364](#), [365f](#)

Enzima conversora de endotelina-1 (Ece1), remodelação da artéria do arco aórtico e, [319q](#)

Eomes (eomesoderrina)

diferenciação do blastômero e, [36q](#)

na formação da endoderma, [47q](#)

Eph

células ganglionares da retina e, [220q](#)

decussação de axônios ganglionares da retina e, [220q](#)

diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal e, [366q](#), [367f](#)

mapeamento da retina e, [220q](#)

vasculogênese e, [312q–313q](#)

Epiblasto, [45f](#), [47](#)

formação proveniente do embrioblasto, [47](#)

Epibolia, [67q–68](#)

Epicanto inverso, [498q–499q](#)

Epicárdio, [267](#), [273](#)

desenvolvimento do, [296–303](#)

formação do, [297f](#)

Epiderme, [162f](#)

formação da, [156–157f](#), [160](#)

origem da, [156–161](#)

tipos de células da, [160–161](#)

Epidermólise bolhosa simples (EBS), [130](#), [159q](#)

Epidídimos, [33](#), [398](#), [405–406](#), [406q](#)

Epífise, [187–188](#)

Epiglote, [459–460](#), [460f](#)

Epímero, 185, 241
Epineuro, 242q
Epispádia, 388q–389
Epítalamo, 217
Epitélio, 65
 corneano, anterior, 496
 diferenciação do trato gastrointestinal, 366q, 367f–368f
 endodérmico, do intestino, citodiferenciação do, 364–365f–366q, 368f, 367
 germinativo (seminífero), 16
 espermatozogênese na, 24
 pigmentado, diferenciação do, 494q
Epitélio corneano, anterior, 496
Epitélio do esmalte, 466–468
Epitélio endodérmico, do intestino, citodiferenciação do, 364–365f–366q, 368f, 367
Epitélio germinativo, 16
Epitélio pigmentado, diferenciação do, 488, 494
Epitélio seminífero, 16
 espermatozogênese no, 24
Eponíquo, 169
Epoóforo, 413
Era, ligação do dietilestilbestrol a, 413q–415
Eretor da espinha, 185
Eretor do pelo, 162f, 165
Eritroblastos, 138–140
Eritroblastose fetal, 138–140
Eritrócitos, 306
Escala média, 480
Escala timpânica, 480
Escala vestibular, 480
Escamas, 157
Escavação óptica, 99–101, 488, 490
 diferenciação da camada interna, 494f
 formação da, 490–498
 vascularização da, 492f, 496
Esclera, 488, 496
Esclerocórnea, 498q
Esclerose mesangial renal, 385q–386
Esclerótomas, 76q–77q, 82, 105–106, 106f
 formação de, 175–176, 176f
 ressegmentação dos, 178–178f–178q, 180f, 185
Escoliose, 169q, 184q–185q
Escroto, 394, 416, 417f
Esôfago, 252–254, 341
 constricção de anéis vasculares, 324q, 326f–328f
Espaço articular, 442–443
Espaço cristalino-retina, 490
Espaço interviloso, 133, 137–138
Espaço intrarretiniano, 492
Espaço perilinfático, 478q–480q
Espaço perivitelino, 33
Especificação posicional, 503q

Espectro oculoauriculovertebral (OAVS), 465q, 485q–487q

Espermátides, formação das, 22

Espermatócito

definitivo, formação do, 22

primário, 20, 22f

secundário, formação do, 21–22

Espermatogênese, 19, 22–25

capacitação na, 24

células de Sertoli na, 22–23f, 24

ondas contínuas da, 24

translocação da célula germinativa na, 24

Espermatogônia

diferenciação dos gonócitos na, 18–19

meiose da, 18–19

Espermatozoide, 18–19

anormalidades do, 24q

capacitação do, 24

Espermiação, 24

Espermiogência, 24

Espinha bífida, 107q

Espinha bífida aberta, 92q, 184q–185q

Espinha bífida oculta, 92q, 96f, 184q–185q

Espinha vestibuloespinhal, 283, 286

Espondina específica da placa do teto (Rspo1), gonadogênese feminina e, 409q–411q

Esqueleto apendicular, 187

Esqueleto visceral, 431–432

Esquizofrenia, 215q

Estágio de sino, do desenvolvimento dentário, 466–468

Estágio embrionário, do desenvolvimento pulmonar, 254t

Estágio pseudoglandular

do desenvolvimento pulmonar, 254t, 255

morfogênese branquial do pulmão durante, 258q

Estenose anal, 373q

Estenose da valva semilunar, 298q–302q

Estenose do tronco pulmonar, tetralogia de Fallot, 298q–302q

Estenose duodenal, 354q

Estenose pilórica, hipertrófica, infantil, 369q–370q

Estereocilia, 478q–480q

Esterno, 179–180

corpo do, 179–180

Estigma, 32–33

Estilopódio, 503q

Estímulo independente de atividade, mapeamento da retina e, 220q

Estômago, 341

formação e rotação do, 349–350, 350f–351f

fundo do, 349

grande curvatura do, 341, 349

pequena curvatura do, 341, 349

Estomodeu, 450

Estrabismo, 498q–499q

na sinalização PCP, 90q–92q

Estrato córneo, 157, 158f
Estrato espinhoso, 157, 158f
Estrato fibroso, da membrana timpânica, 485
Estrato germinativo, 156–157
 células do, 157
Estrato granuloso, 157, 158f
Estria vascular, 482q
Estribo, 442, 442f, 473–475, 485
Estriol (uE3), rastreamento do soro materno para, 146
Estrogênios
 ciclo menstrual e, 33
 gonadogênese feminina e, 409q–411q
 placentários, 143
Estroma
 córnea e, 496
 endometrial, 136
Estudos epidemiológicos, 142
Et1, remodelação da artéria do arco aórtico e, 319q
Etretinato (Tegison®), teratogenicidade do, 131
Eunucoidismo, 423q–427
Eventração, do conteúdo abdominal, com hérnia diafragmática congênita, 263q–265q, 265f
Exógeno, 165
Experimento(s), 115–116
Expressão gênica
 manipulação da, 119–119f, 122
 precoce, *imprinting genômico* e, 53q–54, 55f
 visualização da, 117–119
 hibridização *in situ* da, 118–119, 119f
 imuno-histoquímica para, 118–118f, 119
Extensão convergente
 base celular da, 72q
 do neuroepitélio, 87
 na gastrulação, 67q–68
 na neurulação, 90q–92q
Extensão, na gastrulação, 67q–68
Extensores, 192, 192t
Extravasamento, de proteínas plasmáticas, 311q–312q
Extrofia, 388q–389
 da bexiga, 86q
Eya1, síndrome brânquio-otorrenal, 385q–386, 475f

F

- Face, desenvolvimento da, 449–450f–450q–452f, 453
- Faixa moderadora, 289
- Falo, 415, 416f
- Família de citocinas interleucina/Lif, células germinativas primordiais e, 16q
- Faringe, 341
- Farmacogenômica, 132q
- Fase alveolar, do desenvolvimento pulmonar, 254t, 255
- Fase ambissexual, do desenvolvimento genital, 396
- Fase bipotencial, do desenvolvimento genital, 396
- Fase canalicular, do desenvolvimento pulmonar, 254t, 255
- Fase de capuz, do desenvolvimento dentário, 466–468
- Fase menstrual, do ciclo menstrual, 33
- Fase proliferativa, do ciclo menstrual, 33
- Fase sacular, do desenvolvimento pulmonar, 254t, 255
- Fase secretora, do ciclo menstrual, 33
- Fases da embriogênese humana, 7–9, 18
- Fator-7 de diferenciação do crescimento (Gdf7), desenvolvimento do epidídimos e vesícula seminal e, 406q, 407f
- Fator de crescimento do nervo (Ngf), sobrevida e diferenciação do neurônio periférico e, 103q–104q
- Fator de crescimento epidérmico ligado à heparina semelhante ao fator de crescimento (Hb-Egf), implantação e, 46q–47q
- Fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), sobrevida e diferenciação do neurônio periférico e, 103q–104q
- Fator de interação do fator de crescimento de transformação (Fgif), holoprosencefalia e, 438q
- Fator derivado de célula estromal-1 (Cxcl12), desenvolvimento da célula germinativa primordial e, 16q
- Fator de transcrição-1 da leucemia da célula pré-B (Pbx1), pâncreas e, 353
- Fator de transcrição 4 do choque térmico, 498q–499q
- Fatores angiogênicos, 313q
- Fatores de crescimento, 122–123
- função do, 277f
 - morfogênese branquial do pulmão e, 258q
- Fatores de regulação miogênica (MRFs), 175q
- Fatores de transcrição, 123
- codificação, pelos genes de efeito materno, 122–123
- Fatores de transcrição hélice-alça-hélice básicos (BHLH), células progenitoras da retina e, 494q, 495f
- Fatores dorsalizantes, 67q–68
- Fatores reguladores miogênicos (FRMs), 175q
- Fator esteroidogênico-1 (Sf1), formação da gônada indiferenciada e, 399q–401q
- Fatores tróficos, 220q
- proliferação e sobrevida da célula germinativa primordial e, 16q
- Fatores ventralizantes, 67q–68
- Fator induzido pela hipoxia-1a (Hif1a), angiogênese e, 311q–312q

Fator na linha germinativa alfa (Figa), foliculogênese e, 409q–411q

Fator nuclear hepático 3, 350q

Fator quimiotrófico do esperma, 33

Fator Rh, eritroblastose fetal e, 138–140

Fator semelhante à relaxina, descenso testicular e, 421q

Feixe de His, 296

Fendas faciais, 449–450, 454q–456, 456f

laterais, 465q

Fendas faríngeas (sulcos), 440

destino das, 458, 459f–460f

Fenitoína, 514q

Fenótipos, 110

Feocromocitoma, 104q

FERTILIN β , na fertilização, 33–35

Fertilização, 33–34f–35, 35f

dispérmica, 52q–53q

monospérmica, 52q–53q

Fertilização *in vitro* (FIV), 14q–16q, 38q–40f–41, 41f

F-espondina, migração de células da crista neural e, 97q–99

Feto

arlequim, 159q

tratamento, no útero, 150–151f–152f, 153

Fetologia, 133, 146

Fgf10

desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f

desenvolvimento do epidídimos e vesícula seminal e, 406q, 407f

desenvolvimento pulmonar e, 258q

formação da genitália externa e, 417q–418, 418f

morfogênese branquial do pulmão e, 258q

pâncreas e, 353

Fgf2

broto ureterico e, 383q–385q

regionalização do tubo intestinal e, 345q

Fgf7, desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f

Fgf8

campos cardíacos e, 276q

desenvolvimento do ducto e túbulo mesonéfrico e, 399q–401q, 408f

desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

indução neural e, 77q–80

na neurulação, 90q–92q

padronização da placa e do tubo neural e, 202q

proeminência facial e, 450q–453

remodelação da artéria do arco aórtico e, 319q
segmentação do rombencéfalo e, 447q–448
somitogênese e, 73q–75

Fgf9, desenvolvimento do testículo e, 399q–401q

Fgfr1

craniossinostose e, 436q–437f, 438
na transformação epitélio-mesenquimal e, 67q–68
síndrome de Kallmann e, 229q

Fgfr2

craniossinostose e, 436q–437f, 438
desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f

Fgfr3

acondroplasia e, 190q
craniossinostose e, 436q–437f, 438

Fgf (s), 128

células progenitoras da retina e, 494q
condrogênese e, 188q–190q
craniossinostose e, 436q–438
cristalino e, 490q
especificação de células progenitoras cardíacas e, 269q
especificação e destino do hepatoblasto e, 350q
morfogênese branquial do pulmão e, 258q
na neurulação, 90q–92q
placoide óptico e, 478q–480q
retina neural e, 494q

Fibras de Purkinje, 296

Fibras do cristalino, primário, 488, 490

Fibras musculares, comprometimento das, 194

Fibras pós-ganglionares, 200, 236–237

comprimento das, na divisão parassimpática e simpática do sistema nervoso autônomo, 249

Fibras pós-sinápticas, 20, 236–237

Fibras pré-ganglionares, 200, 236–237

comprimento das, nas divisões parassimpáticas e simpáticas do sistema nervoso autônomo, 249

Fibras pré-sinápticas, 200, 236–237

Fibras simpáticas

padrão de inervação das, 243–243f, 245
pós-ganglionares, no sistema nervoso entérico, 367–369

Fibronectina

conversão mesênquima-epitelial do mesênquima, 383q–385q
migração de células da crista neural e, 97q–99

Fibrose cística, 258q

Fígado, 306, 341, 350–352, 352f

área nua (não peritoneal) do, 356–357
endotélio sinusoidal do, 350
estroma de suporte do, 350
Filagrina, no estrato granuloso, 157
Filopodia, 65, 220q, 221f
Filtro, 431q, 450, 451f
Fisiologia, 188
Fissura coroide, 219f, 225, 228f
Fissura de von Ebner, 178
Fissura óptica, 488
Fissura oronasal, 457f, 457q
Fissuras posterolaterais, 211f, 212
Fístula aural, cervical, 458
Fístula cervical, 458, 459f
Fístula esofagotraqueal, 256q
Fístula onfalomesentérica, 360q, 363f
Fístula retovesical, 388q–389
 formação da, 392f
Fístula traqueoesofágica, 126–127, 256f, 256q
Flamingo, na sinalização PCP, 90q–92q
Flexão ventral, dos membros superiores, 506
Flexores, 192, 192t
Flexura cervical, 202–204
Flexura mesencefálica, 95, 202–204
Flexura pontina, 202–204
5-Fluoro-2-deoxiuridina, 514q
Fluxo do cálcio, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64, 65f
Foliculogênese, 409q–411q
 controle hormonal da, 25, 25f
 estimulação dos folículos, 27–30
Folículo piloso, 163–165, 165f
 bulbo, 163–165
Folículo(s)
 antral (vesicular), 25–26
 atresia do, 26–27
 crescente, 25–26
 de Graafian, maduro, 26–27
 domínio do, 26–27
 interrupção da ovulação e, 32–33, 33f
 primário, 25–26, 26f
 primordial, 25, 394, 408, 409q–411q, 410f
 retomada mensal do desenvolvimento por, 25–26, 26f–27f

Folículos ovarianos, 16

Folistatina

indução neural e, 77q–80

subdivisões mediolaterais do mesoderma e, 67q–68

Fontanelas, 434, 436f

Forame cecum, 460, 460f

Forame de Luschka, 208–209

Forame de Magendie, 208–209

Forame de Monro, 225

Forame epiploico de Winslow, 351f, 357

Forame interventricular, 225

Forame oval, 287–288, 337f, 339

Forame primário, 286–287

Forame secundário, 286–287, 287f

Forame transverso, 179

Forças da neurulação, 90q–92q

Forças extrínsecas, na neurulação, 90q–92q

Forma corporal tridimensional, 82

Fossa cerebral, lateral, 225

Fosseta do cristalino, 490, 493f

Fosseta mamária, 167, 168f

Fosseta nasal, 450

Fosseta ótica, 475

Fosseta primitiva, 59, 60f

Fossetas periauriculares, 458

Fossetas pré-auriculares, 458, 475f, 485q–487q, 486f

Fóvea central, 493

Fóvea primitiva, 493

Foxa1, desenvolvimento pulmonar e, 258q

Foxa2

desenvolvimento pulmonar e, 258q

na formação endodérmica, 47q

subdivisões mediolaterais do mesoderma e, 67q–68

Foxc1, brotamento uretrérico e, 383f

Foxc2

broto uretrérico e, 383f

linfedema e, 334q

Foxd1, broto uretrérico e, 383q–385q

Foxd3, delaminação de células da crista neural e, 96q

Foxj1, desenvolvimento pulmonar e, 258q

Foxl2, associado à atividade “pró-ovariana/antitestículo”, 409q–411q, 412f

Frente de onda de determinação, 73q–75

Frente de onda de maturação, [73q–75](#)

Frênulo, [459–460](#)

G

Galactosemia, cataratas e, [498q–499q](#)

Gallus homeobox 6, [220q](#)

Gametas, [16](#)

Gametogênese, [15f](#), [18–22](#)

meiose e, [19–20](#), [20f](#), [21t](#), [22f](#)

momento da, em homens e mulheres, [18–19](#), [19q](#)

Gânglio celíaco, [244](#)

Gânglio cervical médio, [244](#)

Gânglio ciliar, do III nervo, [249](#)

Gânglio coclear, do VIII nervo, [247–249](#)

Gânglio da raiz dorsal, [102–103](#), [234](#)

Gânglio esfenopalatino, do VII nervo, [249](#)

Gânglio estatoacústico, [475](#), [480](#)

Gânglio estrelado, [244](#)

Gânglio inferior, [247–249](#)

Gânglio ótico, do IX nervo, [219](#)

Gânglio submandibular, do VII nervo, [249](#)

Gânglio superior combinado, do VII e VIII nervos, [247–249](#)

Gânglio superior, do IX e X nervos, [247–249](#)

Gânglio trigeminal (semilunar), [247–249](#)

Gânglio vestibular, [247–249](#)

Gânglio vestibulococlear, [475](#)

Gânglios aorticorrenais, [244](#)

Gânglios basais, [217](#), [225](#)

Gânglios cervicais, [244](#)

Gânglios em cadeia simpático, [234](#), [240](#), [241f](#)

Gânglios da submucosa, na doença de Hirschsprung, [369q–370q](#)

Gânglios em cadeia, da divisão simpática do sistema nervoso autônomo, [103](#)

Gânglios, desenvolvimento dos, [238–242](#)

Gânglios entéricos, [234](#)

Gânglios mesentéricos, superiores, [244](#)

Gânglios mientéricos, na doença de Hirschsprung, [369q–370q](#)

Gânglios parassimpáticos, [103](#), [234](#)

craniais, [234](#)

migração padronizada dos, [245q](#)

Gânglios pré-aórticos, [103](#), [234](#)

Gânglios pré-vertebrais, [103](#), [234](#)

Gânglios sensoriais, de nervos cranianos, [247–249](#)

Gânglios terminais, 103

Gastrosquise, 82q, 82, 86q, 92q, 360q, 363f

Gastrulação, 59–68

anormal, displasia caudal decorrente da, 76q–77q, 77f

base celular da, 67q–68

formação da linha primitiva e, 60, 61f

base celular da, 60q–62f, 64

em modelos animais *vs.* humanos, 60q–64

estabelecimento do eixo esquerdo-direito e, 60f, 60q–63f, 64

indução da, 60q–64

formação da notocorda e, 71, 71f

formação da placa mesodérmica intermediária e lateral na, 76

formação do broto caudal no, 81

formação ectodérmica e, 65–66, 67f

formação endodérmica definitiva e, 65, 66f

formação mesodérmica intraembrionária e, 65, 66f–67f

mesoderma paraxial no coração e tronco e, 72, 73f–74f

origens e destino da célula epiblástica e, 69–70, 70f

somitogênese e mecanismo molecular do, 73q–75, 75f

subdivisões mesodérmicas mediolaterais e, 67q–68, 69f

Gata, na formação endodérmica, 47q

Gata4

células progenitoras cardíacas, especificação das, 269q

formação da gônada indiferenciada e, 399q–401q

Gata6

desenvolvimento pulmonar e, 258q

na formação endodérmica, 47q

Gbx2, padronização da placa e do tubo neural e, 202q

Gdf7, desenvolvimento do epidídimo e vesícula seminal e, 406q, 407f

Gdnf

broto uretérico e, 383f, 383q–385q

migração de células da crista neural e, 97q–99

Geleia cardíaca, 273, 273f

Gêmeo(s)

desenvolvimento da membrana fetal no, 145f

dizigóticos (fraternos), 144

siameses, 144, 146f

Gene AMFA (*Microcefalia Fusiforme Anormal*), microcefalia e, 231q–232q

Gene endotelina-3 (Et3), doença de Hirschsprung e, 370q–371

Gene PKHD1, doença renal policística, 385q–394q

Gene(s)

controladores, 123–124

efeito materno, 16q, 122–123, 123f
knockout, 120
redundância do, 120
zigótico, 123f
 gap, 123
 pair-rule, 123
 polaridade segmentar, 123

Genes de controle principal, 123–124

Genes de efeito materno, 16q

Genes Gap, 123

Genes homeóticos seletores, 123

Genes pró-neurais, 238q

Genes de controle transcricional, padronização da placa e do tubo neural e, 202q

Gene supressor tumoral, na neurofibromatose tipo 1, 238q

Genes zigóticos, 123f

Genética, 108, 110

Genitália

- ambígua, 393q
- externa, 415–416f–417f, 417q–418

Genoma do camundongo, manipulação do, 108, 119–122

Geração de gêmeos, 144–146

- monozigótico (idênticos), 144

Gerador do ramo principal, 258q

Germe piloso, 163–165, 165f

Gfr1a, broto uretrérico e, 383q–385q

Ginecomastia, 423q–427

Glândula adrenal, 389

Glândula de Cowper, 406, 406f

Glândula mamária, 162

- broto primário da, 167, 168f
- brotos secundários da, 167, 168f
- desenvolvimento da, 167–168f, 169, 169q

Glândula pineal, 218

Glândula pituitária, 225–231

- posterior, 217

Glândula prostática, 406, 406f, 407q–408, 409f

Glândula submandibular, 464

Glândula suprarrenal, desenvolvimento, 389–392f, 393

Glândula tireoide, 461–462, 462f

Glândulas bulbouretrais, 24, 394, 406, 406f

Glândulas lacrimais, 498

Glândulas paratireoides

inferiores (paratireoide III), 463
superiores (paratireoide IV), 463

Glândulas parótidas, 464

Glândulas salivares, 162, 464–464f, 466

Glândulas sebáceas, 162

desenvolvimento das, 167

Glândulas sublinguais, 464

Glândulas sudoríparas, 162

desenvolvimento das, 167, 168f

Glândulas sudoríparas apócrinas, desenvolvimento das, 167

Gli3, céfalopolissindactilia de Greig e, 438q

Glia, 204

Glia de Bergmann, 213–213, 213f

Glia de Müller, 492–494

Glia radial, 213–213, 213f

Glicocálice, 46q–47q

Glicocorticoides, 392q

Glicosaminoglicanos, na córnea, 496

Glicosilação, distúrbios congênitos do, 215q

Glioblasto, 204, 205f

Globo pálido, 225

Glomérulo, 377, 378f

Gloté, 252–254

Gônadas, formação das, estimuladas pelas células germinativas primordiais, 16–18

Gonadotrofina coriônica, 404

Gonadotrofina coriônica humana (hCG)

implantação e, 37

placentária, 143

rastreamento do soro materno, 146

Gonócitos, 18–19

Goosecoide, indução neural e, 77q–80

Grande aqueduto vestibular (aqueduto vestibular alargado), 482q

Grandes lábios, 416, 417f

Grânulos corticais, 33

Grânulos lamelares, no estrato granuloso, 157

Gravidez

ectópica, 38

reconhecimento materno da, 37

Gridlock, coarcação aórtica e, 324q

Gubernáculo, 418–418f, 419

Hairy1, somitogênese e, [73q–75](#)

hCG *See* [Gonadotrofina coriônica humana \(hCG\)](#)

Hedgehog

diferenciação da célula de Leydig e, [405q](#)

orientação axonal e, [245q](#)

sinalização do, [126–127, 127f](#)

pâncreas anular e, [354q](#)

Hélice, [485](#)

Hemangioblasto(s), [304, 306](#)

agregados, [304, 307f](#)

Hemangioma, [313q, 314f](#)

Hemangiossarcoma, [314f](#)

Hematopoiese

medula óssea, [306](#)

no saco vitelino, [51](#)

Hemisférios cerebelares, [212](#)

Hemisférios cerebrais, [217](#)

Hepatoblastos, [350](#)

especificação e destino, [350q](#)

Hepatócitos(s), [350](#)

Herança materna, perda auditiva e, [482q](#)

Hermafroditismo *See* [Distúrbios ovotesticulares do desenvolvimento sexual](#)

Hérnia

inguinal, indireta, [421, 422f, 423](#)

umbilical, [363f](#)

Hérnia diafragmática, congênita, [263q–265q, 264f](#)

Herp, coarcação aórtica e, [324q](#)

Hes1

desenvolvimento pulmonar e, [258q](#)

determinação da linhagem da célula pancreática e, [354q](#)

diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal e, [366q, 368f](#)

Hesx1, hipoplasia do nervo óptico e, [498q–499q](#)

Heterotaxia, [60q–64, 278q](#)

Heterotopia subcortical em banda (HSB), [228q](#)

Hey2, coarcação aórtica e, [324q](#)

Hialuronidase, no estroma, [496](#)

Hibridização *in situ*, [118–119, 119f](#)

Hidantoína, anomalias craniofaciais decorrentes da, [465q](#)

Hidrâmnio, [144](#)

Hidrocefalia, [217, 217f, 232q](#)

com mielomeningocele, [92q](#)

Hidrocele, testicular, 421, 422f
Hidronefrose, 135q
Hidropsia fetal, 138–140
Hierarquia genética, 60q–64
Hímen, 413
Hioide, 441, 442f
Hiperdontia, 469q–471
Hiperflexibilidade, indolor, 157f
Hiperinsulinismo, congênito, 356q
Hiperoxia, 311q–312q
Hiperpirexia, displasia ectodérmica hipoidrótica, 167
Hiperplasia adrenal congênita (HAC), 392q, 423q–427
Hipertelorismo, 438q
Hipertensão pulmonar, na telangiectasia hemorrágica hereditária, 313q
Hipertermia, 514q
anomalias craniofaciais decorrentes da, 465q
defeitos do tubo neural e, 92q
displasia ectodérmica hipoidrótica, 167
Hipertricose, 166q
Hipertrofia ventricular, direita, tetralogia de Fallot, 298q–302q
Hipervascularização, 311q–312q
Hipoblasto, 45f, 47
formação proveniente do embrioblasto, 47
Hipoderme, 161
Hipoglicemia, 356q
Hipogonadismo
na síndrome de Kallmann, 229q
primário, 423q–427
secundário, 423q–427
Hipômero, 185, 241
Hiponatremia, 392q
Hiponíquia, 169, 170f
Hipoparatireoidismo-surdez-anomalias renais (HDR), 385q–386
Hipopituitarismo, 488q
Hipoplasia coclear, 482q
Hipoplasia do segmento superior do nervo óptico, 498q–499q
Hipoplasia pulmonar, 135q, 138, 256q–258q
oligo-hidrâmnio e, 263q–265q
Hipoplasia, pulmonar, 375q
Hiposmia, na síndrome de Kallmann, 229q
Hipospádia, 413q–415, 415–416, 417q–418, 418f, 423q–425f, 427
penoscrotal, 423q–425f, 427

Hipotálamo, 217, 218f
Hipótese da quimioafinidade, 220q
Hipótese de conflito dirigida pela viviparidade, 53q–54
Hipótese de conflito genético
 imprinting genômico e, 53q–54
 molas hidatiformes e, 52q–53q
Hipótese de “*two-hit*”, na neurofibromatose tipo 1, 238q
Hipóteses, 115–116
Hipotricose-linfedema-telangiectasia, 162q–162q
Hirsutismo, 166q
Hnf4, na formação do endoderma, 47q
Hnff81, doença renal policística, 385q–386
Holoprosencefalia (HPE), 108q, 109f, 437f, 438q, 490q
Homeobox, 123–124
Homeobox de órgão sensorial (Soho), subdivisão de vesículas ópticas e, 220q
Homeodomínio, 123–124
Homeostasia do cálcio, orientação axonal e, 245q
Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), 392q
Hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), síndrome de Kallmann e, 229q
Hormônios *Ver também hormônios específicos*
 ciclo menstrual, 25, 25f
 placenta, 143–144
Hox, 123–124, 124f
 desenvolvimento de ductos paramesonéfricos e expressão regionalizada do, 413q
 diferenciação do ducto mesonéfrico e, 399q–401q
 especificação da identidade da vértebra e, 180q, 182f–183f
 ligação do dietilestilbestrol para, 399q–401q
 migração de células da crista neural e, 97q–99
Hoxa13
 desenvolvimento da genitália externa e, 417q–418
 desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f
Hoxa1, otocistos e, 478q–480q
Hoxa2, segmentação do rombencéfalo e, 447q–448, 449f
Hoxb1, otocistos e, 478q–480q
Hoxd13, regionalização do tubo intestinal e, 345q

I

Ictiose, lamelar, 159q
Ids, células sensoriais e, 480q–482q
IGF2, *imprinting* de, 53q–54
IGF2r, *imprinting* de, 53q–54
IGF(s) (fator de crescimento semelhante à insulina), indução neural e, 77q–80

Ihh, condrogênese e, [188q–190q](#)

Íleo, [341](#)

Ilhas CpG, [53q–54](#)

Ilhota1, células sensoriais e, [480q–482q](#)

Ilhotas de Langerhans, [353](#)

Implantação

durante a 2^a semana, [45–45f–46f, 47](#)

em local anormal, [38](#) *See also* Gravidez ectópica

início da, [37–37f, 38](#)

regulação da, fase inicial, [46q–47q](#)

Imprinting genômico, [53q–54](#)

doença congênita hereditária e, [56q](#)

expressão precoce do gene e, [53q–54, 55f](#)

genoma materno e paterno e, [53q–54](#)

inativação do X e, [56q](#)

Imuno-histoquímica, [118–118f, 119](#)

Incisura cardíaca, [349](#)

Incontinência pigmentar, herança de, [56q](#)

Indometacina, ducto arterioso patente e, [339q](#)

Indução, [117](#)

Indução neural, [77, 77q–79f, 80](#)

Infecção por rubéola

cataratas e, [498q–499q](#)

maternal, ducto arterioso patente e, [339q](#)

perda auditiva e, [482q](#)

Infecção por varicela, congênita, [514q](#)

Informação posicional, [131, 202q, 503q](#)

Infundíbulo, [225, 226f](#)

Ingressão, [67q–68](#)

na gastrulação, [60](#)

Ingurgitamento venoso da mucosa, [360q](#)

Inibição lateral, neurogênese do sistema nervoso periférico e, [238q](#)

Inibidor meiótico masculino, [19q](#)

Inibina-A, rastreamento do soro materno, [146](#)

Injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), [38q–41, 41f](#)

Inseminação artificial, [14q–16q](#)

Insensibilidade congênita à dor com anidrose (ICDA), [236f, 236q](#)

InsL3, descenso testicular e, [421q](#)

Insuficiência respiratória, deficiência de surfactante e, [256q–258q](#)

Ínsula, [225](#)

Insulina, como teratogênico, [76q–77q](#)

Integrina, implantação e, [46q–47q](#)

Interação gene-ambiente, 142
Interações célula-célula, 122
Interações epitélio-mesenquimais, desenvolvimento derivado da pele e, 162q
Interações indutivas, 117
Interações supressivas, 117
Intercalação célula-célula, 72q
Interleucina-11, 46q–47q
Internalização, 67q–68
Intestino anterior, 82, 84, 341
 abdominal, 320, 321f
 desenvolvimento do, 349–350f–351f, 356
 determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q, 355f
 especificação e destino do hepatoblasto e, 350q
 estômago e, formação e rotação do, 349–350, 350f–351f
 fígado e, 350–352, 352f
 inervação do, 244
 pâncreas e
 desenvolvimento do, 352–352f–353f, 356
 determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q, 355f
 regulação do número de células da ilhota e, 356q
 ventral, formação anormal e rotação do, 354f, 354q
 regulação do número de células da ilhota e, 356q
 vesícula biliar e, 350–352, 352f
Intestino médio, 82, 84, 85f, 320, 321f, 341, 343
 alça intestinal primária e, 357–358f–359f, 364
 desenvolvimento do, 357–364
 divertículo de Meckel e, 360q, 363f
 gastrosquise e, 363f
 hérnia umbilical e, 363f
 inervação do, 244
 mutações do, 60q–64
 não rotação do, 360q, 361f
 onfalocele e, 363f
 rotação inversa do, 360q, 362f
 rotações mistas do, 360q, 362f
Intestino posterior, 82, 84, 85f, 320, 321f, 341, 343
 desenvolvimento do, 371–372, 372f–373f
 inervação do, 244
Intussuscepção
 do seio venoso direito, 281
 vascular, 309, 310f, 311q–312q
Inversões, 28q

Íris, 488, 497

Irx4, câmaras cardíacas e, 279q, 280f

Isl1

pâncreas e, 353

segmento de saída do coração, 276q

Isomerismo, 278q

Isotretinoína, anomalias craniofaciais decorrentes da, 465q, 466f

Istmo, 202q

J

Jagged, 129

JAGGED1

coarctação aórtica e, 324q

especificação e destino do hepatoblasto e, 350q

Janela oval, 485

Jejuno, 341

Junção amelocementária, 469

Junções aderentes, 37

Junções Gap, 37, 482q

Junções íntimas, 37

K

Kal1, síndrome de Kallmann e, 229q

KIf3A, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

Kif3B, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

L

Lábio rômbico, 207–208

Lábio(s), fenda, 95f, 108q, 454q–456, 456f

Labirinto

membranoso, 473–475, 481f–482f

ósseo, 473, 480, 482f

Lacuna trofoblástica, 46f, 48f, 51, 136

LacZ, 121

Lamelipodia, 65

Lâmina dentária, 466

Lamina terminalis, 230

organum vasculosum da, 220

Laminina

direcionado à célula ganglionar da retina e, 220q

migração de células da crista neural e, 97q–99

Lanugo, 165

Laringe, 252–254

Lateralidade randomizada, 298q–302q

Lefty1, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

Lefty2, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

Lhx4, desenvolvimento pulmonar e, 258q

Lif, implantação e, 46q–47q

Ligamento arterioso, 318

Ligamento coronário, 356–357

Ligamento esfenomandibular, 441

Ligamento estilo-hióideo, 441, 442f

Ligamento falciforme, 356–357

Ligamento gastroesplênico, 356

Ligamento genitoinguinal caudal, 418–418f, 419

Ligamento hepatoduodenal, 357

Ligamento hepatogástrico, 357

Ligamento largo, do útero, 414f, 423, 424f

Ligamento lienorrenal, 356

Ligamento onfalomesentérico, 360q, 363f

Ligamento periodontal, 469

Ligamento redondo

dos ovários, 423, 424f

do útero, 423, 424f

Ligamentos *See also Ligamentos específicos*

articulação envolvida, 188

origem tecidual dos, 519

Ligamento suspensório craniano, 418–418f, 419

Ligamento suspensório, do cristalino, 497

Ligante c-kit

células germinativas primordiais e, 16q

migração de células da crista neural e, 97q–99

sobrevida e proliferação de célula-tronco hematopoiética e, 308q

Limite intrasegmentar, 178

Linfangiogênese, 334

Linfedema, hereditário, 334q

Língua, 458–461, 461t

musculatura extrínseca da, 185, 445

musculatura intrínseca da, 445

Linhagem celular, 121

estudos, 68–69

Linha germinativa, 16

Linha média craniana, e holoprosencefalia, 439f, 439q–440

Linha pectínea (linha de pectinato), 372

Linha primitiva

expressão Brachyury na, 76q–77q, 77f

formação da, 59–60f–61f, 65

Líquido amniótico, produção e reabsorção do, 144

Líquido cefalorraquidiano (LCR), 200–202, 204, 232q

Lis1

malformações do córtex cerebral e, 228q

microcefalia e, 231q–232q

Lisencefalia, 228q

Lmx1b, síndrome unha-patela, 385q–386

Lobos pulmonares, 254

Lobo temporal, 225

Loop-tail, na neurulação, 90q–92q

Lrd, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–63f, 64, 65f

Lrp5, osteopetrosse e, 190q

Lunatic fringe, disostose espondilocostal e, 184q–185q

M

Macrófago(s), primitivo(s), 308q

Macrotia, 485q–487q

Máculas, 480

MafA (homólogo do oncogene v-Maf do fibrossarcoma musculoaponeurótico), determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q

MafB, patologias do néfron, 385q–386

Magendie, forame de, 208–209

Malformação adenomatoide cística congênita (MACC), 265q, 266f

Malformação arteriovenosa pulmonar, 306q

Malformação congênita, 108, 109

teratogênicos atravessam a placenta, 142, 143f

Malformação de Arnold-Chiari, 92q, 97f

Malformações, 108–109

Mamilo, invertido, 167

Manúbrio, 179–180

Mapas prospectivos de destino, 68–69, 70f

Mapeamento do destino, 68–69, 70f, 112

Mapk quinase quinase (Mapkkk; Raf), 128

Map quinase (Erk), 128

Marca-passo, desenvolvimento do, e sistema condutor, 295–296

Marcas de nascença, 314f

Margem ventral, 77q–80

Má rotação, intestinal, 342q, 343f

Martelo, 441, 442f, 473–475, 485

ligamento anterior do, 441

Mash1, desenvolvimento pulmonar e, 258q

Mash, neurogênese do sistema nervoso periférico e, 238q

Massa celular interna, 36, 36q

Mastigação, músculos da, 444

Math1

- células sensoriais, 480q–482q
- diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal e, 366q, 368f

Math, neurogênese do sistema nervoso periférico e, 238q

Matriz extracelular

- moléculas, migração de células da crista neural e, 97q–99
- morfogênese de ramificações do pulmão e, 258q

Matriz formadora, 169

Matriz germinativa, 163–165, 165f

Meato acústico, externo, 458

Meato auditivo, externo, 485

- atresia do, 485q–487q
- estenose do, 485q–487q

Meato peniano, externo, 415–416, 417f

Medula espinhal, 95

- ancorada, 92q, 200q
- brotamento do axônio motor na coluna ventral e, 238–239, 239f
- diferenciação da, 204, 206f
- placa neural e, 77

Medula oblongata, 209–216

Medula óssea, hematopoiese, 306

Medula presa, 200q

Megacariócitos, 308q

Megacistos, 135q

Megacôlon, congênito, 370q–371

Meiose, 19–20, 20f, 21t, 22f

- fertilização e, 34f–35f
- primeira divisão da, 20–20f, 21t, 22
- segunda divisão da, 22

Melanina, decussação de axônios ganglionares da retina e, 220q

Melanócitos, 160–161, 161f

- desenvolvimento dos membros e, 519

Melanoma, 161

Membrana anal, 373q, 374f

Membrana bucofaríngea, 450, 450f

Membrana cloacal, 65, 343

Membrana de Bruch, 492

Membrana de Heuser, 46f, 48, 48f
Membrana granulosa, 26–26f, 27
Membrana limitante, 492
Membrana oral, 450, 450f
Membrana orofaríngea, 65, 343, 450, 450f
Membrana oronasal, 453, 454f
Membrana pupilar, formação da, 488, 496
persistência da, 498q–499q
Membrana tectorial, 480, 482q
Membrana timpânica, 485
parte externa da, 458
Membranas extraembrionárias, 138
Membranas faríngeas, 440
Membranas otoconiais, 480
Membranas pleuroperitoneais, 251, 262
crescimento, 262, 263f
Membranas serosas, 82, 84–85
Membro(s)
anomalias congênitas do(s), 514q, 515f, 516t
causas genéticas, 514q
causas não genéticas, 514q
axônios motores, especificação e projeção do(s), 521q, 522f
cessação do crescimento do(s), 509q
desenvolvimento do(s), 501–521
interações epitélio-mesenquimais controlando o crescimento do(s), 503–503f, 506
linha do tempo do desenvolvimento do(s), 502f
morfogênese do(s), 506–508, 509f–510f
origens e estruturas teciduais e, 519
ossos do(s), diferenciação do(s), 519
rotação do(s), 521f
Menarca, 25
Meningocele, 92q, 93f
Meningomielocele, 92q, 93f
Meniscos, 188
Menopausa, 25
Meromelia, 514q, 515f
Mesencéfalo, 77, 82, 95, 200, 201f, 204–205, 216–216f–217, 217f
nervos cranianos associados a, 206t
Mesênquima metanéfrico, 379, 379f
Mesentério
dorsal, suspensão do tubo intestinal pelo, 343–345, 346f–347f
ventral, derivados do, 356–356f, 357

Mesocárdio, dorsal, 275, 283

Mesoderma

cabeça, 70–71

cardiogênico, 65, 70

prospectivo, 70

esplâncnico, 76, 82, 84–85, 175

extraembrionário, prospectivo, 70

intermediário, 65, 70–71, 375–377, 377f, 394

formação do, 77

prospectiva, 70–71

intraembrionário, formação d, 65, 66f–67f

paraxial, 65, 70–71

desenvolvimento muscular e, 174–175

desenvolvimento ósseo e, 174

diferenciação de somitos e, 175–176

na cabeça e tronco, 72–73f–74f, 76

placa lateral, 65, 70–71, 174

intermediária, 76–77

prospectiva, 70–71

placa pré-cordal, 174–175

pré-somítica, 73q–75

prospectiva, 70–72, 73f

somática, 76, 82, 84–85

subdivisões mediolaterais da, 67q–68, 69f

suplementação com células da crista neural, 72

Mesoderma extraembrionário, 48, 48f

Mesoderma cardiogênico, especificação regional da, 271f

Mesogástrio, 341

dorsal, 349

Mesonefros, 376–377

desenvolvimento dos, 377–378f, 379

Mesp1 e Mesp2, células progenitoras cardíacas e, 269q

Metáfase, 20f, 21–21t, 22

Metáfise, 188

Metaloproteases, implantação e, 46q–47q

Metaloproteinases

angiogênese e, 311q–312q

sinalização Amp e, 401q–402

Metaloproteinase(s) de matriz, angiogênese e, 311q–312q

Metaloproteinase tipo 2 de matriz, 401q–402

Metanefros, 376–377

arquitetura renal dos, 383f

desenvolvimento dos, 379–386
estruturas que compõem, 379t
origem dos, 379f

Metencéfalo, 200–201f, 202, 204–205
nervo craniano associado a, 206t

Metilação, de transgenes, *imprinting* genômico e, 53q–54

Método rítmico, 82q

Mhc1a, câmaras cardíacas e, 279q, 280f

Mhc1v, câmaras cardíacas e, 279q

Microarray cromossômico (CMA), 28q, 31f

Microcefalia, 231q–232q, 232f

Microfilamentos, transdução de sinal e, 130

Microftalmia, 490q

Micrognatia, 465q

MicroRNAs, como reguladores do desenvolvimento cardíaco, 298q

Microssomia, 465q

Microtia, 485q–487q, 486f

Microvilosidades, 46q–47q

Mielencéfalo, 200–201f, 202, 204–205
nervos cranianos associados a, 206t

Mielina, na doença de Charcot-Marie-Tooth, 242q

Mielomeningocele, 92q, 93f
hidrocefalia com, 92q

Mielosquise, 92q, 93f

Migração, 67q–68

Migração nuclear, intercinético, na neurulação, 90q–92q

Mioblastos, 174–175

Miocardialização, 292

Miocárdio, 267, 273
camadas do, 289q

Miócitos, 174–175
formação dos, 175q
lentos, 194
rápidos, 194

Miofibras, 174–175

Miofibrilas, 174–175

Miogênese, 175

Miogênese craniofacial e do tronco/membro, comparação da, 194f

Miogenina (Myog), desenvolvimento muscular e, 175q

Miostatina, desenvolvimento de miótomas de, 185q

Miótomas, 82, 106
desenvolvimento de, 185–185q, 186f, 187

Misr-II See [Receptor Amh tipoII \(Amhr-II\)](#)

Misturador, na formação endodérmica, [47q](#)

Mitf, [495f](#)

epitélio pigmentado e, [494q](#)

retina neural e, [494q](#)

Mitocôndria, perda auditiva e, [482q](#)

Mitose, [20f, 21t](#)

Modelo de duas sinalizações, [503q, 507f](#)

Modelo de fluxo nodal, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, [60q–63f, 64](#)

Modelo de zona de progresso, [503q](#)

Modelo do relógio e da frente de onda frontal, da somitogênese, [73q–75](#)

Modelo mecanossensorial, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, [60q–64, 65f](#)

Modelo tempo-espacial do gradiente, [509q, 511f](#)

Mola invasiva, [52q–53q](#)

Mola hidatiforme, [52q–53q](#)

análise citogenética da, [52q–53q](#)

completa, [52f–53f, 52q–54](#)

coriocarcinoma, [52q–53q](#)

doença trofoblástica persistente, [52q–53q](#)

parcial, [53f](#)

Moléculas de adesão celular, [130](#)

Moléculas de ligação-ANP, migração de células da crista neural e, [97q–99](#)

Moléculas inibitórias, migração de células da crista neural e, [97q–99](#)

Moléculas permissivas, migração de células da crista neural e, [97q–99](#)

Moléculas quimiotáticas, migração de células da crista neural e, [97q–99](#)

Momento do desenvolvimento humano, [6t](#)

Moniletrix, [166q](#)

Monocílios, na gastrulação, [60q–63f, 64](#)

Monossomia, [28q](#)

Montagens inteiras, [117–118](#)

Morfogênese, [108](#)

células-tronco embrionárias e, [131–132](#)

clonagem e, [131–132](#)

mecanismos da, [108–132](#)

modelos animais de, [108, 110–110f, 115](#)

Caenorhabditis elegans, [111, 112f](#)

Drosophila, [110–111, 111f](#)

galinha, [114, 114f](#)

para prever risco humano, [115](#)

peixe-zebra, [112, 113f](#)

Xenopus laevis, [112–113f, 114](#)

princípios da, [108–132](#)

técnicas experimentais na, 115–122
embriologia experimental clássica como, 116–116f–117, 118f
manipulação da expressão gênica e, 119–119f, 122
visualização da expressão gênica e, 117–119

vias de sinalização na, 122–131

Drosophila, 122–125

embrião vertebrado, 125–125f, 131

Morfogênese branquial
base molecular e celular da, 258q
pulmonar, 256q–258q

Morfogênese valvulosseptal, 283

Morfógeno(s), 509q
ácido retinoico como, 131
desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64
na neurulação, 90q–92q
padronização da placa e do tubo neural e, 202q
subdivisões mesodérmicas e, 67q–68

Morfolinos, 121–122

Morte celular histogenética, 215q

Morte celular programada, 238q, 501, 509q

Mórula, 35
transformação em blastocisto, 37

Mosaicismo, herança de, 56q

Mosaico, 28q
doenças da pele e, 159q

Mosaicos genéticos, 56q

Motoneurônios, 204, 206

Movimentos morfogenéticos, 67q–68

Mrf4, desenvolvimento muscular e, 175q

Murino *vasa homolog* (mVh), desenvolvimento da célula germinativa primordial e, 16q

Musculatura
desenvolvimento dos membros e, 519
dos arcos faríngeos, 444, 445f–446f
inervação dos, 444–446

Musculatura dos membros, 82, 185

Musculatura laríngea, intrínseca, 445

Músculo ciliar, 497

Músculo estapédio, 485

Músculo esternocleidomastóideo, 445

Músculo estilofaríngeo, 444–445

Músculo masseter, 444

Músculo quadrado lombar, 184q–185q

Músculo reto abdominal, 185
Músculo transverso abdominal, 185
Músculo transverso espinal, 185
Músculo vocal, 445
Músculos cricoaritenoides, 445
Músculos cricotireóideos, 445
Músculos digástricos, 444
 ventre anterior dos, 444
Músculos elevadores do véu palatino, 445
Músculos epaxiais, 106, 185
Músculos escalenos, 185
Músculos esternais, 185
Músculos extraoculares, 445
Músculos extrínsecos oculares, 488
Músculos hipoxiais, 106, 185
Músculos infra-hióideos, 185
Músculos intercostais, 185
Músculo(s) Ver Músculos específicos
 desenvolvimento do(s), 174–175
 diferenças regionais no desenvolvimento d(o), 194
 epaxial(ais), 106
 hipaxial(ais), 106
 membros, 191–192f, 192t, 196
 progenitores do(s), migração do(s), 192q, 193f
Músculos milo-hióideos, 444
Músculos oblíquos
 externo, 185
 inferior, 445
 interno, 185
 superior, 445
Músculos papilares, 291, 291f
Músculos pterigóideos, 444
Músculos pupilares, 497
Músculos retos, 445
Músculos temporais, 444
Músculos tensores do tímpano, 444, 485
Músculos tensores do véu palatino, 444
Músculos tireoaritenóideos, 445
Músculos trapézios, 445
Mutação Frameshift, deficiência de SP-B e, 256q–258q
Mutação genética, 108
Mutante *mind bomb* no peixe-zebra, 480q–482q

Myf5, desenvolvimento muscular e, [175q](#)

MyHCs, [175q](#)

MyoD, desenvolvimento muscular e, [175q](#)

N

Nanismo, [128](#)

Nanog, diferenciação de blastômeros e, [36q](#)

Não compactação isolada do ventrículo, [289q](#)

Não disjunções, [28q](#)

N-caderina, na transformação epitélio-mesenquimal e, [67q–68](#)

NCam (molécula de adesão da célula neural), formação da célula do coxim endocárdico, [283q](#)

Nefrogênese, [380–381](#)

Néfrons, [375](#), [379–380](#), [385q–386](#)

desenvolvimento dos, [382f](#)

mutações que causam patologias, [385q–386](#)

Nefrótomo, [65](#), [375–377](#)

Neocôrtex, [226–227](#), [229f](#)

Nervo abducente, [208f](#), [445](#), [498q–499q](#)

Nervo acessório espinhal, [208f](#)

Nervo coclear, [208f](#)

Nervo estatoacústico, [473](#)

Nervo facial, [208f](#), [445](#)

músculo estapédio, [485](#)

Nervo genitofemoral, descenso testicular e, [421q](#)

Nervo glossofaríngeo, [208f](#), [444](#), [460](#)

Nervo hipoglosso, [208f](#), [445](#), [460](#)

Nervo lingual, [460](#)

Nervo oculomotor, [208f](#), [445](#)

Nervo olfatório, [445–446](#)

Nervo óptico, [220q](#), [221f](#), [445–446](#), [496](#)

hipoplasia do, [498q–499q](#)

segmento superior, [498q–499q](#)

Nervo salivatório, [208f](#)

Nervo(s) craniano(s), [206](#), [206t](#)

abducente (VI), [208f](#), [445](#), [498q–499q](#)

acessório espinhal (XI), [208f](#)

coclear (VIII), [208f](#)

com funções motoras, [206](#)

com funções sensoriais, [206–207](#), [207f–208f](#)

facial (VII), [208f](#), [247t](#), [445](#)

gânglios do, [234](#), [247–249](#)

gânglios sensoriais do, [99–101](#), [101f](#)

glossofaríngeo (IX), 208f, 247t, 444, 460
hipoglosso (XII), 445, 460
inervação dos arcos faríngeos, 445–446
misto, 446–449
oculomotor (III), 208f, 247t, 445
olfatório (I), 247t, 445–446
óptico (II), 445–446, 496
placas alares do, 206–207, 207f–208f
placas basais do, 206
relação com as subdivisões do cérebro, 206t
trigêmeo (V), 208f, 247t, 444
troclear (IV), 208f, 445
vago (X), 208f, 247t, 445
vestibuloclear (VIII), 247t, 445–446, 473–475, 480

Nervos espinhais, 204, 206f, 238–242
axônios nos, crescimento para locais específicos, 241–242
formação proveniente de fibras somáticas, motoras autonômicas e sensoriais, 239–240f–241, 241f
ramo dorsal dos, 185
ramo ventral dos, 185

Nervos esplâncnicos, 244

Nervos esplâncnicos pélvicos, 234, 244

Nervos frênicos, 191–192, 261

Nervos laríngeos recorrentes, 316f–317f, 318

Nervo trigêmeo, 208f, 444
inervação do tensor do tímpano pelo, 485
ramo mandibular do, 445
ramo maxilar do, 445

Nervo troclear, 208f, 445

Nervo vago, 208f, 234, 249, 445
dorsal, 208f
plexo faríngeo do, 460
ramos laríngeos recorrentes do, 445
ramos laríngeos superiores do, 445, 460

Nervo vestibuloclear, 445–446, 474–475
perda auditiva e, 482q
ramo espiral (coclear), 480
ramo vestibular, 480

Nesidioblastose, 356q

Netrinas
direcionadas à célula ganglionar da retina e, 220q
orientação axonal e, 245q

Neuregulina, migração de células da crista neural e, 97q–99

Neurocrânio, 431

Neurocristopatias, 104q

NeuroD1, determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q

Neuroepitélio, 234

extensão convergente do, 87

Neurofibromas, 238q

Neurofibromatose, 104q

Neurofibromatose tipo1 (NF-1), 238q

Neurogenina-3 (Neurog-3), determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q

Neuro-hipófise, 217, 225

Neurônios

aferentes somáticos especiais, 207

aferentes somáticos gerais, 207

aferentes viscerais especiais, 207

aferentes viscerais gerais, 207

associação, 204

jovens, 204

no tubo neural, 90q–92q

nucleares, primitivos, 213

periféricos, 103q–104q

Neurônios braquiais eferentes, 206–207, 207f

Neurônios de associação, 239–240

Neurônios periféricos

da divisão simpática do sistema nervoso autônomo, 103

sobrevida e diferenciação dos, 103q–104q

Neurônios periganglionares, 234

Neurônios pós-ganglionares, 234

Neurônios somáticos aferentes, 207, 207f

Neurônios somáticos eferentes, 206, 207f

Neurônios viscerais aferentes, 206, 207f

especial, 207f

geral, 207f

Neurônios viscerais eferentes, 206, 207f

Neuropatia hereditária de Charcot-Marie-Tooth (CMT), 242q

Neuropatia hereditária sensitivo-motora (NHSM), 242q

Neuropatias periféricas, hereditárias, 242q

Neuropilina, orientação axonal e, 245q

Neuróporos, 87–87

Neurotrofina-3 (Nt-3), sobrevida e diferenciação do neurônio periférico e, 103q–104q

Neurotrofina(s), 103q–104q

Neurulação, 82, 87–88f–95, 97f

defeitos do tubo neural e, 90q–92q, 93f–97f

eventos teciduais e celulares no, [90q–92q](#)
mecanismos moleculares da, [90q–92q](#)
padronização dorsoventral na, [90q–92q](#), [91f–92f](#)
secundária, [95](#)

Nevus flammeus, [314f](#)

NF-1 (neurofibromina), na neurofibromatose tipo 1, [238q](#)

Nkx2.2, determinação da linhagem da célula pancreática e, [354q](#), [355f](#)

Nkx2.5

- campos cardíacos e, [276q](#)
- células progenitoras cardíacas, especificação do, [269q](#)

Nkx3, desenvolvimento da glândula prostática e, [407q–408](#), [409f](#)

Nkx6.1, determinação da linhagem da célula pancreática e, [354q](#)

N-myc, desenvolvimento pulmonar e, [258q](#)

Nó atrioventricular (AV), [296](#)

Nodal

- desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, [60q–64](#)
- formação da linha primitiva e, [60q–64](#)
- indução neural e, [77q–80](#)
- subdivisões mediolaterais do mesoderma e, [67q–68](#)

Nodal, na formação endodérmica, [47q](#)

Nó de esmalte, [470f](#)

Nódulo primitivo, [59](#), [60f](#)

- formação da placa neural e, [77](#)

Nódulos de Lisch, [498q–499q](#)

Noggin

- delaminação de células da crista neural e, [96q](#)
- especificação do, [269q](#)
- indução neural e, [77q–80](#)
- subdivisões de somitos e, [104q](#)
- subdivisões mediolaterais do mesoderma e, [67q–68](#)

Nó sinoatrial (AS), [281–283](#), [295–296](#)

Notch

- células sensoriais e, [480q–482q](#)
- desenvolvimento vertebral e, [184q–185q](#)
- determinação da linhagem da célula pancreática e, [354q](#), [355f](#)
- especificação e destino do hepatoblasto e, [350q](#)
- neurogênese do sistema nervoso periférico e, [238q](#)
- remodelação vascular e, [312q–313q](#), [312](#)
- somitogênese e, [73q–75](#)

Notch2

- coarctação aórtica e, [324q](#)
- especificação e destino do hepatoblasto e, [350q](#)

Notocorda, 71, 72f, 90q–92q

da cauda, 80

formação do, 71–71f, 72

prospectivo, migração do, 70–71

Nrp1/Nrp2

remodelação vascular e, 312q–313q, 313f

vasculogênese e, 312q–313q

Núcleo ambíguo, 208f

Núcleo cerebelar, profundo, 213, 213f

Núcleo de Edinger-Wesphal, 216

Núcleo de mesênquima, 501

Núcleo emboliforme, 213

Núcleo fastigial, 213

Núcleo geniculado, 217

Núcleo geniculado lateral (NGL), 220q

Núcleo globoso, 213

Núcleo habenular, 218

Núcleo pontino, 209f, 210

Núcleo pulposo, 179, 180f

Núcleo trigeminal mesencefálico, 216

Núcleos denteados, 213

Núcleos oculomotores, 216

Número N, 19

O

Obesidade, materna, diabetes e, 143

Obstrução duodenal, 373q–374, 374f

Oclusão anocutânea, 373q

Oct4, diferenciação do blastômero e, 36q

Odontoblastos, 468

Olho(s)

anormalidades do(s), 498q–499q

camadas de tecidos embrionários, 489

câmara anterior do(s), 496

câmara posterior, 488

córnea e, 496

coroide, 496

corpo ciliado do(s), 497

cristalino, 490

desenvolvimento do(s), 488–488q, 499, 499q

epitélio pigmentado, formação da retina neural e, 492–496

esclera, 496

formação da cúpula óptica, 490–498
formação da pálpebra e, 498
formação do campo visual e, 490q
íris, 497
ligamento suspensório do(s), 497
membrana pupilar e, 496
nervo óptico e, 220q, 221f, 445–446, 496
padronização do(s), 494q
segmento anterior, malformações do(s), 490q
vascularização da cúpula óptica e cristalino, 492f, 496

Oligodendrócitos, 204

Oligodontia, 469q–471

Oligoespermia, 423q–427

Oligo-hidrâmnio, 138, 144, 375q, 381, 514q
 agenesia renal e, 385q–386
 hipoplasia pulmonar e, 263q–265q

Ombro, 506

Omento
 maior, 341, 349–350, 351f
 menor, 351f, 357

Oncostatin M, função hepática e, 350q

Onfalocele, 86q, 87f, 363f

Oócitos
 definitivos, 18–19, 35
 formação dos, 22
 fertilizados. Ver Zigoto
 formação dos, 21–22
 primários, 19–20
 na oogênese, 25
 secundários, 19

Oócitos definitivos, 18–19

Oogênese, 19, 25–30
 folículo único e, 26–27
 formação do oóцитio primário na, 25
 hormônios e, 25, 25f
 retomada mensal do desenvolvimento do folículo primário e, 25–26, 26f–27f

Oogonia, diferenciação do gonocito em, 19

Orbitocefaloide, 434

Orelha(s)
 células sensoriais da, 480q–482q
 desenvolvimento da, 473–474f, 477f, 487
 externa, 485–486f, 487

interna, 475–478f, 485
malformações da, 482q
média, 485
rudimentos da, indução e padronização, 478q–480q

Organizador de Spemann-Mangold, 67q–68

Organizadores, 67q–68, 77, 77q–80
cabeça, 77q–80
cauda, 77q–80
tronco, 77q–80

Organogênese, 65–66

Órgão de Corti, 480, 481f

Órgão de esmalte, 466–468

Órgão espiral de Corti, 476–477

Órgão hematopoiético, fígado como, 350

Órgão pró-epicárdico, 267, 296–298

Órgão subcomissural, 220

Órgão subfornical, 220

Órgão vasculoso, da lâmina terminal, 220

Órgão(s)
inervação simpática do(s), 244, 244f
rudimentos do(s), 68–77
sistemas embrionários, 135–136, 136q

Órgãos-alvo (finais), 245q

Órgãos circunventriculares, 217, 220

Órgãos retroperitoneais, 343–344, 346f

Órgãos secundariamente retroperitoneais, 341, 343, 346f

Órgãos sensoriais, inervação dos, 445–446

Orientação, 245q

Orquidopexia, 421q

Ossículos auditivos, 485

Ossificação, 187–188
endocondral, 173–174, 187
intramembranosa, 173–174

Osso cortical, 188

Osso longo, 187–187f, 191

Osso membranoso, 173–174, 187, 431, 432f

Osso temporalporção mastoide do, 480, 485
porção pétreia do, 480

Osso(s), 173–174 *Ver* Ossos específicos
apendicular, 173–174
axial, 173–174
cortical, 188

dermal (membrana), 173–174
desenvolvimento do
 defeitos no, 190f–191f, 190q
 regulação molecular do, 189f, 188q–190q
dos membros, diferenciação dos, 519
endocondral, 187
longo, 187–187f, 191
origem tecidual do, 519
ossificação do, 187–188
 endocondral, 173–174, 187, 431–432
 intramembranosa, 173–174, 429

Ossos apendiculares, 173–174

Ossos axiais, 173–174

Ossos dermais, 173–174, 431, 432f

Ossos endocondrais, 187

Osteoblastos, 174

Osteoclastos, 174, 188

Osteogênese imperfeita, tipo II, 195q, 196f

Osteopetrose, 190q
 maligna infantil, 190q

Osteoporose, 190q

Óstio, das veias cavas, 281

Ostium primum, 286–287

Ostium secundum, 286–287, 287f

Otocisto, 473, 475, 478f

Ototóxico, 482q

Otx2
 epitélio pigmentado e, 494q
 padronização da placa e do tubo neural e, 202q
 retina neural e, 494q

Ovários
 ligamento redondo dos, 423, 424f
 suspenção dos, 414f, 423–424f, 428

Ovidutos, 394, 413

Ovulação, 30–33
 controle hormonal do, 25, 25f
 estimulação da, 30–32, 32f
 formação do corpo lúteo e, 33
 ruptura da parede folicular e, 32–33, 33f

Óxido nítrico, 339

Óxido nítrico sintase, no nascimento, 339

P

Paciente, desenvolvimento fetal e feto como, 133–154

Padronização anteroposterior, 77q–80

Padronização celular, 202q

Padronização craniocaudal, organizadores e, 77q–80

Palato

 duro, 454

 fenda, 95f, 108q, 454q–456, 456f

 primário, 453, 454f

Pálio, 217

Pâncreas, 341

 anular, 354q

 cabeça do, 353–354

 cauda do, 353–354

 células alfa do, 354q

 células beta do, 354q

 corpo do, 353–354

 ventral, formação e rotação anormal do, 354f, 354q

Papila dentária, 466–468

Papila dérmica, 161, 162f, 163–165, 165f

Papila duodenal, 354

Papila renal, 382

Paquigiria, 228q

Paracrino, 509q

Paradídimos, 405–406

Parede intestinal, externa, 367–368f–369f, 371

Paroóforo, 413

Pars inferior, da vesícula ótica, 473, 475–476

Pars intermedia, 225

Pars superior, da vesícula ótica, 473, 475–476

Parto, 306

 regulação do, 391

Parto, prematuro, uso de cocaína e, 142

Parvovírus, 141

Passagens nasais, 454

Patógenos bacterianos, passagem placentária de, 141

Pavilhão auricular (pina), 473–475, 485, 485q–487q, 486f

Pax2

 padronização da retina neural e, 220q

 retina neural e, 494q

Pax3, doença de Hirschsprung e, 370q–371

Pax6

células progenitoras da retina e, 494q
padronização do olho, 494q
retina neural e, 494q

Pax7, desenvolvimento muscular e, 175q

PdgfA, diferenciação da célula de Leydig e, 405q

Pdgf_{2a}, migração de células da crista neural e, 97q–99

Pdx1
broto ureterico e, 383q–385q
determinação da linhagem da célula pancreática e, 354q, 355f
regionalização do tubo intestinal e, 345q

Pé, 506

Peça intermediária, do espermatozoide, 23f, 24

Pe-Cam-1 (molécula de adesão das células endoteliais-plaquetas-1), formação da célula do coxim endocárdico, 283q

Pediatria pré-natal, 146

Pedúnculo de conexão, 48, 49f, 84, 85f

Pedúnculo óptico, 488, 490, 494q

Pedúnculo ureteral, 380

Pele
anomalias, 162q–162q
derme da, 106
desenvolvimento da, 155q, 156f, 162–162q, 163
formação da derme e, 161, 162f
formação da epiderme e, 156–157f–158f, 160
doença hereditária de pele e, 159q, 160f
doenças da, 164t
profunda, 169q, 171f

Pelos terminais, 165

Pelve, ineração parassimpática do, 244, 245f

Pelve renal, 379–380, 381f

Pendrina, 482q

Pênis, 394

Pentalogia de Cantrell, 86q, 360q

Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (PRGC), descenso testicular e, 421q

Pequeno para a idade gestacional (PIG), 143

Pequenos lábios, 416, 417f

Perda auditiva
conduktiva, 482q–487q
congênita, 482q
pós-lingual, 482q
pré-lingual, 482q
profunda, 473q
proveniente de mutações, 484f

sensorioneural, 482q
tipos de, 482q

Pericárdio fibroso, 262

Pericárdio seroso, 262

Periderme, 156, 157f

Perilinfa, 480

Períneo, ineração parassimpática do, 244, 245f

Perineuro, 242q

Período embrionário, 133, 135

Período fetal, 133, 135–136, 136q

Períodos da embriologia humana, 16

Períodos sensitivos críticos, 142

Peritônio
saco menor do, 341
visceral, 356f

Perlecan, implantação e, 46q–47q

Perna, 506

Pescoço, linha do tempo do desenvolvimento do, 430f

Pé torto equinovaro, 514q, 519f

Picnodisostose, 190q

Pico ovulatório, 30–32

Piebaldismo, 110f

Pilomatricoma, 166q

Pílulas para controle de natalidade, 38q–41

Pina, 485, 485q–487q

Pinópodes, 46q–47q

Pirâmide renal, 382

Pitx2c, remodelação da artéria do arco aórtico e, 319q

Pitx2, desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64

Placa alar (columnas), da medula espinhal, 204, 206f

Placa basal, da placenta, 137–138

Placa cartilaginosa epifisária, 188

Placa comissural, 230

Placa coriônica, 137–138

Placa da mão, 501, 506

Placa de crescimento, 188

Placa digital, 506

Placa do assoalho, da medula espinhal, 204, 206f

Placa dos pés, 506

Placa do teto, da medula espinhal, 204, 206f

Placa hepática, 350

Placa mesodérmica esplâncnica, 357q–360q, 359f–360f

Placa neural, 65–66, 77q–80

formação da, 77–78f–79f, 80

padronização da informação posicional, 202q, 203f

prospectiva, 71

Placa notocordial, 71, 72f

Placa pré-cordal

formação da, 69–70

prospectiva, 69–70

Placas basais, (colunas), da medula espinhal, 204, 206f

Placas cerebelares, 210, 211f

Placas dorsais (colunas), da medula espinhal, 204, 206f

Placas nasais, 450

Placa ungueal, 169, 170f

Placa uretral, 415–417f

Placa urogenital, 372, 387f, 394, 415, 417f

Placa vaginal, 413, 414f

Placa ventral (colunas), da medula espinhal, 204, 206f

Placenta, 51, 133

desenvolvimento da, 136–138, 139f

humana, 138f

patógenos virais e bacterianos, 141

sangue materno e fetal na, troca de, 138–142

DNA fetal livre de células para o plasma materno, transferência do, 140–141

eritroblastose fetal, 138–140

transmissão do HIV através da, 141–142

teratógenos atravessam, 142

Placenta prévia, 143

Placofilina, doenças de pele e, 160f

Placoide do cristalino, 488, 490, 493f

Placoide nasal, 450

Placoide ótico, 99–101, 473, 475, 476f, 478q–480q

Placoide trigeminal, 247

Placoides ectodérmicos, 234, 247

desenvolvimento do, 163f

neurogênico, 446–447

plasticidade do, 237q

Placoides epibranquiais, 99–101, 247

Placoides epifaringeais, 99–101, 247

Placoides olfatórios, 99–101, 450

Plano corporal tubo-dentro-de-um-tubo, 82–85f–86f, 87, 251

Plasma germinativo, 16q

Plasmina, angiogênese e, 311q–312q

Pleura, mediastinal, 262
Plexins, orientação axonal e, 245q
Plexo braquial, 520
Plexo coroide, 208–209, 219f, 220
Plexo de Meissner, 367
Plexo lombossacral, 520
Plexo mientérico, 367
Plexo renal, 244
Plexo submucoso, 367
Ploidia, 19
Pluripotência
 de células epiblásticas, 68–69
 definição da, 16q
Pod1, brotamento uretérico e, 383q–385q
Podócitos, 380–381
Polegar trifalângico, 514q
Policisteína 2, 60q–64, 65f
Polidactilia, 108q, 109f, 126–127, 514q
Polidactilia pós-axial tipo A, 514q
Poli-hdrâmnio, 144
 com atresia esofágica e fistulas traqueoesofágicas, 256q
Polimastia, 167–169
Polimorfismo, genético, 132q
Polipose adenomatose familiar, 366q
Polispermia, 33
Politelia, 167–169
Polo embrionário, 37
Ponte, 204–205, 209–210f, 216
Ponto de dobra, 87, 89f, 90q–92q
Pontos de escolha, 220q
Portador silencioso, de doenças congênitas, 56q
Potencial prospectivo, de células epiblásticas, 68–69
Pré-eclâmpsia, 143
Prega cloacal, 372f, 415, 417f
Prega de Tourneux, 371–372
Prega palmar transversal, 514q, 516f
Pregas neurais, 87, 89f, 90q–92q
 formação de células da crista neural e, 95
Pregas ungueais, 169, 170f
Presbiacusia, 482q
Prestina, células ciliadas e, 480
Pré-tálamo, 217

Pré-tecto, 217, 218f

Primeira semana do desenvolvimento, 15f

implantação durante, 37–37f, 38

Primórdio óptico, 490q

Primórdios cerebelares, 210, 210f–211f

Processo estiloide, 441, 442f

Processo intermaxilar, 450, 451f

Processo notocordial, 65, 70–71, 71f–72f

Processo transverso da vértebra, formação do, 175–176

Processo uncinado, 353–354

Processo vaginal, 419, 419f

Processo xifoide, 179–180

Processos costais, 179, 181f

Processos nasais, 450

Processos odontoblásticos, 468

Processus vaginalis See Processo vaginal

Proctodeum, 372, 373f

Proeminência frontonasal, 449–450, 450f

Proeminência mandibular, 440–441, 449–450

Proeminências faciais, padronização das, 450q–452f, 453

Proeminências maxilares, 440–441, 441f, 449–450

Prófase, 20–20f, 21, 21t

Progeria, 5f, 16

Progesterona

no ciclo menstrual, 33

preparações de depósito da, 38q–41

Progesterona, placentária, 143

Proliferação, de células progenitoras da retina, 494q

Promotores induzíveis, 120–121

Promotores tecido-específicos, 120–121

Pronadores, dos membros superiores, 192, 192t

Pró-nefros, 375, 376–377, 378f

Pró-núcleos, feminino e masculino, 34f–35f, 35

Proquineticina2, síndrome de Kallmann e, 229q

Prosencefalia, 95, 200, 201f

Prosencéfalo, 77, 78f, 82, 95, 200, 217–225

desenvolvimento do sistema visual e, 220q

diencéfalo do, 217–218f, 225

telencéfalo do, 225–227f–230f, 231

Prosômeros, 200–202

Prostaglandina D2 (Pgd2), desenvolvimento dos testículos e, 399q–401q

Prostaglandina(s)

ducto venoso e, 339
placentária, 143–144

Próstata

Protanopia, 494

Proteína homeobox Lim-9 (Lhx9), formação da gônada indiferenciada e, 399q–401q

Proteína IZUMO, 33

Proteína óssea morfogenética (BMP) *See* Bmp(s)

Proteínas celulares de ligação ao retinol, 131, 131f

Proteínas conexinas, 482q

Proteínas de envelope, 157

Proteínas de transdução de sinal, 125

Proteínas ligantes de actina, na neurulação, 90q–92q

Proteinúria, 385q–386

Proteoglicano de heparan sulfato, implantação e, 46q–47q

Proteoglicanos, migração de células da crista neural e, 97q–99

Proto-oncogene, na neurofibromatose tipo 1, 238q

Protrusão mesenquimal, dorsal, 267, 283, 286

Protuberância, 165

Prox1

- células progenitoras da retina e, 494q
- cristalino e, 495
- sistema linfático e, 334q, 337f

Pseudo-hermafroditismo

- feminino, 423q–427
- masculino, 423q–425f–427, 427f

Pseudópodes, 65

Psoríase, 159q

Pthrp, condrogênese e, 188q–190q

Ptose, 498q–499q

PTPN11, coarctação aórtica e, 324q

Puberdade, 18–19

- falha para iniciar, 423q–427

Pulmões

- anormalidades do desenvolvimento dos, 256q–258q, 257f
- desenvolvimento dos, 252–260
 - abordagens para estudos dos, 258f, 258q
 - estágios dos, 254t, 255f
 - indução dos, 255q
 - linha do tempo dos, 252f
 - massa, 265q

Pupila, 488

Q

Quarta semana, 82–106

células da crista neural e, 96–100f, 105

diferenciação do somito durante, 105–106f, 107

dobramento do corpo durante, 83–85f–86f, 87

neurulação durante, 87–88f–95, 97f

secundária, 95, 97f–98f

regionalização craniocaudal durante, 95, 99f

Queratina

doença cutânea hereditária e, 159q

na camada basal da pele, 156–157

Queratinócitos, 156–157

Queratocistos, odontogênicos, 159q

Quiasma, 20–21

Quiasma óptico, 218f–219f, 218–220, 220q, 221f, 496

Quimera por injeção, 120

Quimeras, 120, 121f

Quimeras por agregação, 215q

Quimiotaxia, morfogênese da ramificação pulmonar e, 258q

R

Rac1, na transformação epitélio-mesenquimal, 67q–68

Radiação ionizante, anomalias craniofaciais decorrentes da, 465q

Raio do artelho, 506

Raios digitais, 501506

Raiz dorsal, 239–240

Raízes ventrais, 234, 239, 239f

Raiz formadora da unha, 169

Raldh-2 (retinaldeído desidrogenase-2), da câmara cardíaca, 279q

Ramo branco, 234, 240

Ramo cinzento, 234, 241, 241f

Ramo dorsal, 241

do nervo espinhal, 185

Ramo ventral, dos nervos espinhais, 185, 241, 241f

Rastreamento do soro materno, 146

Rax, padronização do olho, 494q

Reação decidual, 37, 133, 136

Reação em cadeia da polimerase (PCR), 38q–41

Rearranjo celular (intercalação celular), 90q–92q

Receptor acoplado à proteína rica em repetições de leucina 8 (Lrg8), descenso reticular e, 421q

Receptor AMH tipo I (AMHI), 401q–402

Receptor AMH tipo II (AMHII), [401q–402](#)
Receptor da di-hidrotestosterona, diferenciação do ducto mesonéfrico e, [406q](#)
Receptor da endotelina-B (Et_b), doença de Hirschsprung e, [370q–371](#)
Receptor de tirosina quinase com domínios semelhantes à imunoglobulina e ao EGF (Tie) angiogênese e, [311q–312q](#)
Receptores androgênicos
descenso testicular e, [421q](#)
desenvolvimento da glândula prostática e, [407q–408](#)
diferenciação do ducto mesonéfrico e, [406q](#)
Receptores do ácido retinoico, cranialização dos segmentos vertebrais e, [180q, 184f](#)
Receptores dominantes negativos, [122, 122f](#)
Receptores Eph, remodelação vascular e, [312q–313q, 313f](#)
Receptores, para fatores do crescimento, [125](#)
Receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), mapeamento da retina e, [220q](#)
Recesso infundibular, [225](#)
Recesso tubotimpânico, [458, 473, 485](#)
Recombinação homóloga, [120](#)
Recombinação, na meiose, [20–21](#)
Reconhecimento materno da gravidez, [37](#)
Rede trabecular, [187–188](#)
5a-redutase, [405](#)
Reelina, células de Cajal-Retzius e, [227–228](#)
Região aorta-gônada-mesonefros (AGM), [308f, 308q](#)
Região carpal, [506](#)
Região cervical, vascularização da, [320, 323f](#)
Região de determinação sexual do cromossomo Y. Ver SRY
Região de tomada de decisão, [520](#)
Região lombar, vascularização da, [320, 323f](#)
Região torácica, vascularização da, [320, 323f](#)
Região umbilical, [84](#)
Regiões candidatas à síndrome de Down, [28q](#)
Regra de Weigert-Meyer, [388q–389, 390f](#)
Regulador da condutância transmembranar da fibrose cística (RTFC), [406q–407q](#)
Relógio de periodicidade, [258q](#)
Relógio de segmentação, [73q–75](#)
Remendo, [126](#)
Ressegmentação, de esclerótomas, [178–178f–178q, 180f, 185](#)
Restrição ao crescimento intrauterino (RCIU), [143](#)
Ret
broto uretérico, [383q–385q](#)
doença de Hirschsprung e, [370q–371](#)
Retardo do crescimento, [43q–44](#)

Rete testis, 394, 398, 400f

Retículo epitelial, 463

Retículo estrelado, 466–468

Retina

artéria central da, 488, 496

axônios da

direcionamento espacial do, 220q, 221f

ultrapassando a linha média pelos, 220q, 222f–223f

defeitos da, 498q–499q

neural, 488

formação da, 492–496

padrão celular na, 220q

Retinaldeído desidrogenase-2 (RALDH-2), da câmara cardíaca, 279q

Retinoide, padronização da placa e do tubo neural e, 202q

Retinopatia da prematuridade, 498q–499q

Retinose pigmentar, 482q

Reversão sexual, 399q–401q

RhoA, na transformação epitélio-mesenquimal, 67q–68

RhoB, delaminação de células da crista neural e, 96q

Rim

definitivo, 376–377, 379

ferradura, 386–386f, 387

pélvico, 386–386f, 387

relocação do, 386–386f, 387

sistema nervoso autônomo do, 282f

Rinencéfalo, 217

Rizomelia, 173q

RNAi, 121–122

Robo2, brotamento uretrérico e, 383q–385q

Rombencéfalo, 77, 82, 95, 200, 201f, 206f, 207–209

formação cerebelar e, 209f, 210

formação da medula oblongata e, 210

formação da ponte e, 210, 210f

segmentação do, 447q –448, 448f -449f

Rombômeros, 200–202

RU-486, 38q–41

Runx2

condrogênese e, 188q–190q

desenvolvimento muscular e, 175f, 175q

Ruptura prematura das membranas (RPM), 263q–265q

Saco aórtico, 273–275, 314–315, 443
Saco conjuntival, 498
Saco endolinfático, 475–476, 477f
Saco pericárdico, formação do, 261 -262
Saco vitelínico, 16, 17f, 306, 307f
cavidade do, 48 -51
definitivo, 48 -49f -50, 50f
desenvolvimento do, 48 -48f -49f, 51
primário (exocelômico ou membrana de Heuser), 46f, 48, 48f
secundário, formação do, 48, 49f
Sacos linfáticos, 334, 335f–335f
Sacos terminais, 251, 254–254f, 255
Sacro, asa do, 179
Sáculo, 474–475
Saídas extraesfinctéricas, 388q–389
Saliências auriculares, 473, 485, 486f
Sangramento gastrointestinal, 360q
Sangue do cordão fetal, e células- tronco, 153
SCF, sobrevida e proliferação de célula-tronco hematopoiética e, 308q
Scribble (“rascunho”), na neurulação, 90q–92q
Sdf1, desenvolvimento da célula germinativa primordial e, 16q
Sebo, 167
Secreção écrina, 167
Segmentação, na somitogênese, 73q–75
Segmento anterior, dos olhos, malformações do, 490q
Segmento de saída, do coração, campo cardíaco secundário no, 276q
Segmento fálico, 387, 415, 416f
Segmentos broncopulmonares, 254
Segunda semana do desenvolvimento, 43–56
desenvolvimento da cavidade amniótica durante, 47–48
desenvolvimento do saco vitelínico e da cavidade coriônica, 48–48f–49f, 51
implantação durante, 45–45f–46f, 47
linha do tempo da, 44f
sistema circulatório uteroplacentário durante, 51–51f, 52
Seio cervical, lateral, 458, 459f
Seio coronário, 281, 282f
Seio da primeira fenda, 458
Seio do pericárdio, transverso, 275
Seio tireoglosso, 461–462
Seio transverso do pericárdio, formação do, 275f
Seio urogenital, 341, 371–372, 372f, 387
desenvolvimento do, 387f

segmento fálico do, 415, 416f
Seio venoso, 273–275
Seios, desenvolvimento dos, 457–458
Seios esfenoidais, 457–458
Seios etmoidais, 457–458
Seios frontais, 457–458
Seios maxilares, 457–458
Seios paranasais, 457–458, 458f
Seios semilunares, 292
Selectinas, implantação e, 46q–47q
Semaforinas
 migração de células da crista neural e, 97q–99
 orientação axonal e, 245q
Sentido do olfato, síndrome de Kallmann, 229q
Septação, alveolar, 255
Septo aorticopulmonar, 292, 294f
Septo atrial, primário, 267
Septo atrioventricular, 286–287
Septo espúrio, 281
Septo intermediário, 286–287
Septo nasal, 454
Septo placentário, 133
Septo primário, 267, 285, 286f
Septo secundário, 267, 285, 287–288, 288f
Septo transverso, 84, 85f, 251, 260, 262, 356–356f, 357
Septo urorretal, 341, 371, 372f
 sequência de malformações, 393q
Septo ventricular muscular, 267, 288–289
Septos da decídua, 138
Sequência de perfusão arterial reversa gemelar (TRAP), 144–146
Sequência de Pierre Robin, 454q–456
Sequência de Potter, 135q, 375q, 381
Sequência FRT, 121
Serrate, 129
Shh, 90q–92q, 92f, 108q, 109f
 desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408, 409f
 desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64
 especificação do, 269q
 formação da genitália externa e, 417q–418, 418f
 formação do campo visual, 490q
 holoprosencefalia e, 126–127, 438q
 músculo liso gastrointestinal e, 367, 368f

otocistas e, 478q–480q, 479f
padronização da placa e do tubo neural e, 202q, 203f
pâncreas anular e, 354q
regionalização do tubo intestinal e, 345q
retina neural e, 494q
subdivisões do somito e, 104q
Shroom, na neurulação, 90q–92q
Sífilis, 141
Simetria menor, 60q–64
Simpolidactilia e braquidactilia tipos D e E, 514q
Sinais indutivos recíprocos, 380
Sinais quimiotróficos, aprimoramento de células germinativas primordiais e, 16q
Sinalização de combinação, 77q–80
Sinapse, 200
Sincício, 174–175
Sinciciotrofoblasto, 45, 45f–46f
Sindactilia, 128, 514q, 518f
Sindactilia em tecido mole, 509q
Sindétomo, 178q
Síndrome acro-dermato-ungueal-lacrimal-dentes (ADULT), 162q–162q
Síndrome alcoólica fetal, 109–109f, 110, 514q
Síndrome artério-hepática, 130
Síndrome brânquio-otorrenal (BOR), 385q–386, 473q, 485q–487q
Síndrome CHARGE, 104q, 249q, 292q, 298q–302q, 482q–487q
Síndrome da banda amniótica, 86q
Síndrome da deleção do 22q11.2, 104q, 431q, 432f, 461, 465q–466
 defeito arterial do arco aórtico na, 319q
Síndrome da disostose espondilocostal, 73q–75, 130, 184q–185q
Síndrome da displasia ectodérmica, anquilobléfaro e fenda labiopalatina, 162q–162q
Síndrome da ectrodactilia, displasia ectodérmica e fissura labiopalatal, 162q–162q, 514q
Síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), 141
Síndrome da medula presa (SMP), 200q
Síndrome da patela pequena, 514q
Síndrome da regressão caudal, 76q–77q
Síndrome da sinostose múltipla tipo1, 190q
Síndrome da transfusão feto-fetal (STFF), 144–146, 152
Síndrome da trombocitopenia amegacariocítica, 514q
Síndrome de Alagille, 73q–75, 130, 184q–185q, 298q–302q, 385q–386
 coarctação aórtica e, 324q
 escassez de ductos biliares na, 350q
Síndrome de Angelman, 43q–44
 herança de, 56q

Síndrome de Apert, [128](#), [434q–436](#), [437f](#), [509q](#)
Síndrome de Beckwith-Wiedemann, [56q](#)
Síndrome de Cornelia de Lange (SCL), [514q](#), [518f](#)
Síndrome de Crouzon, [128](#)
Síndrome de De Morsier, [498q–499q](#)
Síndrome de Denys-Drash, [385q–386](#)
Síndrome de DiGeorge, [104q](#), [298q–302q](#), [413q](#), [432f](#), [461](#), [465q–466](#)
Síndrome de Down, [28q](#), [29f–30f](#), [292](#), [514q](#)
 anomalias vasculares na, [324q](#)
 anormalidades dos olhos, [498q–499q](#)
 defeitos do tubo neural e, [92q](#)
 rastreamento do soro materno para, [146](#)
Síndrome de Eagle-Barrett, [86q](#)
Síndrome de ectrodactilia (*split hand/split foot*) tipo 4, [514q](#), [517f](#)
Síndrome de Ehler-Danlos (SED), [155q](#)
Síndrome de feminização testicular, [394q](#), [423q–427](#), [427f](#)
Síndrome de Frasier, [385q–386](#)
Síndrome de Fuhrmann, [509q](#)
Síndrome de genes contíguos, [465q–466](#)
Síndrome de Gillespie, [215q](#)
Síndrome de Goldenhar, [465q](#), [498q–499q](#)
Síndrome de Goltz, herança de, [56q](#)
Síndrome de Gorlin, [159q](#)
Síndrome de Hay-Wells, [162q–162q](#)
Síndrome de heterotaxia visceroatrial, [278q](#), [298q–302q](#)
Síndrome de Holt-Oram, [279q](#), [514q](#), [522f](#), [522q](#)
Síndrome de insensibilidade aos androgênios (AIS), [394q](#), [423q–427](#), [427f](#)
Síndrome de Jarcho-Levin, [73q–75](#)
Síndrome de Jervell e Lange-Nielsen, [482q](#)
Síndrome de Joubert, [215q](#)
Síndrome de Kallmann, [229q](#), [423q–427](#)
Síndrome de Kartagener, [60q–64](#), [251q](#), [298q–302q](#)
Síndrome de Klinefelter, [423q–427](#)
Síndrome de Laurin-Sandrow, [516f](#)
Síndrome de Marinesco-Sjögren, [215q](#)
Síndrome de Melnick-Frasier, [473q](#)
Síndrome de Moebius, [249q](#)
Síndrome de Noonan, [298q–302q](#)
 coarctação aórtica e, [324q](#)
Síndrome de osteoporose pseudoganglioma, [190q](#), [498q–499q](#)
Síndrome de Pallister-Hall, [514q](#)
Síndrome de Pendred, [482q](#)

Síndrome de Pfeiffer, [128](#), [509q](#)
Síndrome de Prader-Willi, [43q](#)-[44](#)
hereditária de, [56q](#)
Síndrome de Prune Belly, [86q](#), [195q](#)
Síndrome de Simpson-Golabi-Behmel, herança de, [56q](#)
Síndrome de Stickler, [454q](#)-[456](#)
Síndrome de Swyer, [423q](#)-[427](#)
Síndrome de Treacher Collins, [454q](#)-[456](#), [465q](#)-[466](#), [485q](#)-[487q](#)
Síndrome de Turner, [324q](#), [334q](#), [423q](#)-[428q](#)
Síndrome de Usher tipo1, [482q](#)
Síndrome de van der Woude, [454q](#)-[456](#)
Síndrome de Waardenburg, [104q](#), [370q](#)-[371](#)
Síndrome do carcinoma nevoide basocelular (SCCBN), [159q](#)
Síndrome do coração esquerdo hipoplásico (SCEH), [152](#), [267q](#)
Síndrome do desconforto respiratório, [256q](#)-[258q](#)
Síndrome do ducto mülleriano persistente e, [401q](#)-[402](#)
nos indivíduos XY, [403q](#), [405q](#)
Síndrome do duplo córtex, [228q](#)
Síndrome do eunuco fértil, [423q](#)-[427](#)
Síndrome do QT longo, [482q](#)
Síndrome do X frágil, [485q](#)-[487q](#)
Síndrome LEOPARD, [298q](#)-[302q](#)
Síndrome mão-pé-genital, [417q](#)-[418](#), [514q](#)
Síndrome renal-coloboma, [385q](#)-[386](#)
Síndrome trico-dento-óssea, [162q](#)-[162q](#)
Síndrome ulnar-mamária, [169q](#), [514q](#), [522f](#), [522q](#)
Síndrome unha-patela, [385q](#)-[386](#), [509q](#)
Síndrome velocardiofacial, [104q](#), [298q](#)-[302q](#), [413q](#), [432f](#)
Síndromes. Ver Síndromes específicas anormalidades cromossômicas e, [28q](#)
Síndromes de ataxia espinocerebelar (AEC), [215q](#)
Síndromes de fragilidade da pele, [159q](#)
Síndromes de Jackson-Weiss, [509q](#)
Síndromes de Muenke, [434q](#) -[436](#)
Síndromes de supercrescimento, herança de, [56q](#)
Sine oculis homeobox homólogo-1 (Six-1), [383q](#)-[385q](#)
Sineromelia, [59f](#), [59q](#), [76q](#)-[77q](#)
Sinfalangismo, proximal, [190q](#)
Sinostose radioulnar, [514q](#)
Sinusoides hepáticos, [329](#)-[330](#)
Sinusoides maternos, [48f](#), [51](#), [51f](#)
Sinus venarum, [281](#), [282f](#)
Siringomielia, [200q](#)

Sistema cardinal, 304, 327–329f–330f, 334

posterior, aumentado e substituído pelas veias subcardinais e supraccardinais pareadas, 332–333

Sistema circulatório, primitivo, 280–281

Sistema circulatório uteroplacentário, desenvolvimento durante a 2^a semana, 51–51f, 52

Sistema cre-lox, 120–121

Sistema de condução, 295–296

Sistema genital, 385q–386

complexo mesonéfrico-gonadal e, 418–418f, 419

desenvolvimento do canal inguinal e, 419–419f, 421

distúrbios ovotesticulares do desenvolvimento sexual e, 411q

feminino, 408–410f, 415

anomalias uterinas e, 413q–415, 415f

desenvolvimento de ductos paramesonéfricos e, 413q

dietilestilbestrol causando anomalias de, 413q–415

formação do folículo primordial e, 408–409q–410f, 411q, 413

genitália externa e, 416–417f, 418

suspensão ovariana e, 414f, 423–424f, 428

genitália externa e, 415–416f–417f, 417q–418

masculino, 401

Amh e, 401q–402, 403f

descenso testicular e, 399q–401q, 402f–403f, 419f, 421–421q, 423

desenvolvimento do gameta e, 401

diferenciação da célula de Leydig e, 404–405, 405q

diferenciação da glândula acessória da uretra e, 405, 406f, 406q–408

diferenciação das células de Sertoli e, 399f–401f, 401

diferenciação do ducto mesonéfrico e, 405, 406f–407f, 406q

expressão do Sry e, 399q–401q, 402f

genitália externa e, 415–416, 417f

hormônio antimülleriano e, 401–408

reversão sexual e, 399q–401q

pseudo-hermafroditismo e, 423q–425f–427, 427f

Sistema hematopoiético, 174

Sistema linfático, desenvolvimento do, 334, 335f–335f

mecanismos moleculares do, 334q

Sistema musculoesquelético *See also* Osso; Cartilagem; Ligamentos; Músculo; Tendão

comprometimento da linhagem musculoesquelética e, 175f, 175q

defeitos no desenvolvimento esquelético e, 190f–191f, 190q

desenvolvimento de miótomas nos níveis segmentares e, 185–186f, 187

desenvolvimento de ossos longos e articulações e, 187–187f–189f, 191

regulação molecular do, 189f, 188q–190q

desenvolvimento do, 172–196

desenvolvimento muscular dos membros e, 191–192f, 192t, 196

comprometimento de células e fibras musculares e, 194
 diferenças regionais no, 194
 distrofia muscular e, 195q
 migração de progenitores musculares e, 192q, 193f
 diferenciação de somitos na, 175–176–177, 178
 formação do, 173f
 origens e diferenciação teciduais e, 173–175
 ressegmentação de esclerótomas e, 178–178f–178q, 180f, 185
 defeitos vertebrais e, 184q–185q, 185f
 especificação da identidade vertebral e, 180q, 182f–184f

Sistema nervoso autônomo, 200, 234, 236
 divisão parassimpática do, 103, 200, 204, 234, 236
 comprimento da fibra pré-ganglionar e pós-ganglionar na, 249
 divisão simpática do, 200, 204, 234, 236
 cadeia ganglionar do, 103
 comprimento das fibras pré-ganglionar e pós-ganglionar na, 249
 neurônios periféricos da, 103
 neurônio motor visceral da, 204

Sistema nervoso central (SNC), 197–233, 236
 divisão estrutural do, 200
 divisão funcional do, 200
 linha do tempo do desenvolvimento do, 199f
 substância branca do, 204
 substância cinzenta do, 204

Sistema nervoso entérico, 103, 104f, 234, 341, 369f, 369q–370q, 376

Sistema nervoso periférico (SNP), 200, 236
 células da crista neural e suas derivadas como as células semelhantes à célula-tronco e, 237f, 237q
 células precursoras do
 migração padronizada do, 245q
 plasticidade do, 237q
 desenvolvimento do, 234–236q, 249
 craniano, 234
 linha do tempo do, 235f
 desenvolvimento do tronco e, 238–245
 neurogênese no, 238q
 orientação axonal no, regulação do, 245q
 origem do, 237–238
 tronco, 238–245
 nervos espinhais e gânglios, 238–242
 padrão de inervação simpática e, 243–243f, 245
 padrão segmentar de inervação motora e sensorial e, 242, 243f

Sistema nervoso somático, 200, 234, 236

Sistema nervoso visceral, 200, 236

Sistema porta, 330

Sistema reprodutor

desenvolvimento do, 394–394q, 428

desenvolvimento masculino *vs.* feminino do, 396–398, 399f

estruturas embrionárias masculinas e femininas e, 398t

linha do tempo do, 395f

Sistema respiratório, desenvolvimento do, 251–266

Sistema toracolombar, 103, 234

Sistema umbilical, 327–329f–330f, 334

Sistema urinário

anomalias do, 388q–389

desenvolvimento do, 375–376f, 393

ducto mesonéfrico, formação do, 377

endoderma do intestino posterior para, 387–389

glândula suprarrenal, desenvolvimento da, 389–393

mesonefros, desenvolvimento dos, 377–379

pronefros, formação dos, 377

sistema reprodutor surgindo com, 396

sistemas néfricos surgindo durante o desenvolvimento, 376–386

Sistema vascular, embrionário, 279f

Sistema venoso, embrionário primitivo, 327–334

Sistema visual, 220q

axônios ganglionares retinianos e, ultrapassando a linha média pelos, 220q, 222f–223f

axônios retinianos e, direcionamento especial dos, 220q, 221f

mapeamento da retina e, 220q

retina neural do, padronização celular no, 220q

Sistema vitelino, 304, 327 -329f -330f, 334

Sistemas subcardinais, 304

Sistemas supracardinais, 304

Sítios LoxP, 121

Situs ambiguus parcial, 278q

Situs inversus, 251q

Situs inversus totalis, 278q

Situs inversus viscerum totalis, 60q–64

Situs solitus totalis, 60q–64

Six-3, holoprosencefalia e, 438q

Six-6, padronização do olho, 494q

Slit(s)

migração de células da crista neural e, 97q–99

orientação axonal e, 245q

Smad1, indução neural e, 77q–80

Smads, 127

Snail2, delaminação de células da crista neural e, 96q

Snail, na transformação epitélio-mesenquimal e, 67q–68

Somitogênese, 75f–76f

mechanismo molecular da, 73q–75, 75f–76f

modelo do relógio e da frente de onda frontal da, 73q–75, 76f

Somitos, 82

cervicais, 73

coccígeos, 73

desenvolvimento muscular e, 174–175

diferenciação dos, 105–106f, 107, 175–176f–177f, 178

formação do broto caudal e, 80

lombares, 73

prospectivos, 70–71

sacrais, 73

subdivisão dos, 177q

interações indutivas subjacentes à formação dos, 104q, 107f

torácicos, 73

Sonic hedgehog *See* Shh

Sox17, na formação endodérmica, 47q

Sox18, linfedema e, 334q

Sox2

anormalidades dos olhos, 498q–499q

células sensoriais e, 480q–482q

diferenciação do blastômero e, 36q

Sox5, condrogênese e, 188q–190q

Sox6, condrogênese e, 188q–190q

Sox9

como alvo primário de expressão do Sry, 399q–401q, 402f–404f

condrogênese e, 188q–190q

desenvolvimento muscular e, 175q

desenvolvimento testicular e, 399q–401q

Sox, sistema linfático e, 334q

SP-B (proteína B do surfactante), hereditariedade, deficiência de, 256q–258q

Sry, 394, 396

diferenciação da célula de Sertoli e, 399q–401q

expressão do, na pré-célula de Sertoli, 399q–401q

reversão sexual e, 399q–401q

síndrome de Swyer e, 423q–427

Sox9 como alvo primário de expressão do Sry, 399q–401q, 402f–404f

Steel, 128

Subcório *See* Hipoderme

Subpálio, 217
Substância branca, 204
do córtex, 227
Substância cinzenta, 204
cerebelar, 213
Substância inibidora mülleriana, 401, 401q–402
Substância própria, 496
Sulco central, 225
Sulco dorsal, 218
Sulco hipotalâmico, 217–218, 218f
Sulco limitante, 204
Sulco mediano, 460, 460f
Sulco nasolacrimal, 450, 451f
Sulco鼻-óptico, 450, 451f
Sulco neural, 87
Sulco occipital, 225
Sulco primitivo, 59, 60f
Sulco terminal, 460, 460f
Sulco uretral, 415 -416
Sulcos cerebrais, laterais, 225
Sulco(s) óptico(s), 488, 490, 491f
Supinadores, dos membros superiores, 192, 192t
Suprimento vascular, dos arcos faríngeos, 443–444, 444f
Surdez, 482q
Surfactante pulmonar, 256q–258q
Syndecan-1, conversão mesênquima-epitelial do mesênquima, 383q–385q

T

Tabagismo, anomalias craniofaciais decorrentes do, 465q

Tálamo, 217

Talidomida, 501q, 514q

Tampão de coagulação, 45, 46f

Tampão meatal, 473, 485

Tbx1

remodelação da artéria do arco aórtico e, 319q

síndrome de DiGeorge e, 465q–466

Tbx3, padronização da expressão da, 296f

Tbx5

câmaras cardíacas, 279q, 280f

campos cardíacos e, 276q

padrões do, 280f

padronização da retina neural e, 220q

Tbx6, subdivisões mediolaterais do mesoderma e, 67q–68

Tcf4, sinalização Wnt defeituosa e *turnover* da β -catenina, como prenúncio de, 366f, 366q

Tcof, 465q–466

Teca externa, 25–26

Teca interna, 25–26

Tecido

indução, 117

resposta, 117

suficiente e/ou necessário (exigido), 116–117

Tecido do coxim, 281

derivada de células da crista neural, 283

derivado do endocárdio, 283, 283q

endocárdico, 285f

formação, 284f

efeitos da hiperglicemia e hipóxia na, 283q

intercalado, 292

miocardialização, 292

Tecido do coxim derivado do endocárdio, 283, 283q

Tecido fibroblástico, 188

Tecido sinovial, 188

Tecnologia de reprodução assistida, 38q–41

Tecnologias gene-*targeting*, para estudo do desenvolvimento pulmonar, 258q

Tela corioide, 208–209

Telangiectasia hemorrágica hereditária (THH), 306q, 313q, 339q

Telangiectasia ocular, 498q–499q

Telencéfalo, 200–201f, 202, 225–227f–231, 231f

nervos cranianos associados a, 206t

Tenascina, migração de células da crista neural e, 97q–99

Tendão central, do diafragma, 262, 263

Tendão *Ver* Tendões específicos

progenitores do, 178q

Tendões, origem tecidual dos, 519

Terapia de reposição do surfactante, 256q–258q

Teratogênese, 76q–77q

Teratógeno(s), 108, 501q, 514q

dismorfogênese decorrente do, 109

Teratógenos

dose, 142

placenta, 142

Teratologia, 142

princípios da, 142

Teratomas, 16, 17f

formação dos, 16q
pluripotência dos, 16q

Terceira semana do desenvolvimento, 57–81
desenvolvimento corporal primário vs. secundário durante, 80–81
formação da placa neural durante, 77–78f–79f, 80
gastrulação durante
específica de, 68–77
visão geral da, 59–65
linha do tempo da, 58f

Testículos
células de Sertoli como organizadoras principais dos, 399q–401q, 402f–404f
descenso dos, 399q–401q, 402f–403f, 419f, 421–421q, 423
hidrocele, 421, 422f

Testosterona, 404
deficiência de, pseudo-hermafroditismo e, 423q–427
desenvolvimento da glândula prostática e, 407q–408
ductos mesonéfricos e glândula acessória da uretra masculina se diferenciam na resposta à, 405
espermatozóide e, 22

Tetra-amelia, 501q, 503f, 514q

Tetralogia de Fallot, 298q–302q, 301f

Tetraploide, 28q

TG737/POLARIS, doença renal policística e, 385q–386

TGFβ
angiogênese e, 311q–312q
células progenitoras cardíacas e, 269q, 270f
desenvolvimento do eixo esquerdo-direito e, 60q–64
formação da linha primitiva e, 60q–64
função hepática e, 350q
remodelação da artéria do arco aórtico e, 319q
retina neural e, 494q
vasculogênese e, 311q–312q

Tímpano, 485

Tobramicina, perda auditiva e, 482q

Tolueno, anomalias craniofaciais decorrentes do, 465q

Tórax, inervação simpática do, 244, 244f

Totipotência, definição de, 16q

Toxoplasma gondii, 141

Trabécula septomarginal, 289

Trabéculas, 289, 290f
cardíacas, formação de, 290f

Trabéculas cranianas, 432

Trágus, 485

Transferência de embrião, [38q–41](#)
Transferência intrafalopiana de zigoto (TIZ), [38q–41](#)
Transferência intratubária de gametas (GIFT), [38q–41](#)
Transferência nuclear da célula somática (SCNT), [132](#)
Transformação epitelio-mesenquimal (EMT), [65, 87–87, 95, 283](#)
 célula do coxim endocárdico, [283q](#)
 diferenciação do somito e, [105–106, 175–176](#)
 formação de células da crista neural e, [96q](#)
Transgenes, para estudo do desenvolvimento pulmonar, [258q](#)
Translocação, [28q, 30f](#)
Transplante hepático fetal, [153](#)
Transposição de grandes vasos, [298q–302q](#)
Traqueia, [252–254](#)
 constrição de anéis vasculares, [324q, 326f–328f](#)
 de *Drosophila*, desenvolvimento da, [258q](#)
Trato gastrointestinal *See also* [Intestino anterior](#) [Intestino posterior](#) [Intestino médio](#)
 baço e, [356](#)
 citodiferenciação do epitélio endodérmico e, [364–334q–365f–368f, 366q, 367](#)
 derivações mesentéricas ventrais e, [356–356f, 357](#)
 desenvolvimento do, [341–374](#)
 linha do tempo do, [342f](#)
 dobramento do corpo e, [343, 344f, 345t](#)
 doença de Hirschsprung, [369q–370q, 370f](#)
 estenose pilórica hipertrófica infantil e, [369q–370q](#)
 intestino primitivo e, regiões do, [345–349](#)
 mesentério dorsal e, [343–345, 346f–347f](#)
 parede intestinal externa e, [367–368f–369f, 371](#)
 suprimento arterial do, [320, 321f](#)
Tratos, [239–240](#)
Tratos de repetição dos trinucleotídeos, síndromes da ataxia espinocerebelar e, [215q](#)
Tratos olfatórios, [217](#)
Trato solitário, núcleo do, [208f](#)
Treponema pallidum, [141](#)
Trígono, da bexiga, [387](#)
Trígono habenular, [218](#)
Trimestres, [133](#)
Triploide, [28q](#)
Trissomia, [28q](#)
 parcial, [28q](#)
Trissomia do 21 *See* [Síndrome de Down](#)
Tritanopia, [494](#)
Trofinina-tastina-bistina, implantação e, [46q–47q](#)

Trofoblasto, 36

desenvolvimento do, regulação por cromossomos paternos, 53q–54

precursores de, segregação em, 35–36f, 36q, 37

Tronco arterioso, 273–275, 298q–302q

persistente, 298q–302q, 300f

Tronco celíaco, 345

Tronco cerebral, 205–217

colunas dos núcleos do nervo craniano do, 207f–208f

mesencéfalo do, 216–216f–217, 217f

placas alares do, 206–207, 207f–208f

placas basais do, 206

rombencéfalo do, 206f, 207–209, 209f

Tronco mesentérico, superior, 345

Tronco simpático, 240–241

Tuba auditiva, 458, 473, 474f, 477f

Tuba auditiva (de Eustáquio), 458, 473, 485

Tubas de Falóprio, 394, 413–415

ligação das, 38q–41

Tubérculo genital, 372, 373f, 387, 387f, 394, 416f

Tubérculo ímpar, 458–459, 460f

Tubérculo sinusal, 413, 414f

Tubo cardíaco

looping, 278f, 278q

mecanismos dirigindo as ligações cardíacas, 278q–279q

unilateralidade no, 278q

primário, 267, 277f

composição do, 273f

formação do, 271–272f–273f, 276

regionalização do, 274f

Tubo intestinal, 82

abdominal, suspensão do, pelo mesentério dorsal, 343–345, 346f–347f

primário, 343

primitivo, derivado do, 343, 345t

regionalização do, 345–345q, 348f–349, 349f

Tubo neural

anomalias da medula espinhal e, 107q

camada do manto do, 204

camada ventricular do, 204

citodiferenciação do, 204, 205f

formação do, 87, 88f–89f

formação do brotamento caudal e, 80

neurulação e, 82

padronização dorsoventral do, 90q–92q, 91f–92f
placa do assoalho do, 90q–92q, 202q
placa do teto do, 87–87, 90q–92q, 202q
regionalização craniocaudal do, 95, 99f

Tubos coletores, 379–380, 381f

Tubos endocárdicos, 271–272f, 273

laterais, 267

vasos sanguíneos primitivos associados a, 279–280

Túbulo urinífero, 380 -381

Túbulos coletores, 383q -385q

Túbulos mesonéfricos, 377, 378f

epigenital, 405–406

paragenital, 405–406

Túbulos seminíferos, 16, 394, 398

Tumor de Wilms, 56q, 385q–386

Túnica albugínea, 398

Túnica *vasculosa lentis*, 496

Túnica vaginal, 421, 422f

U

Ultrabitórax, 124

Ultrassonografia

cabeça e coluna fetal, defeitos do tubo neural e, 92q

modo B, fetal, 148

modo M, fetal, 148

Umbigo, 84

Unha(s), desenvolvimento da(s), 169–170f, 171

Úraco, 393q

anomalias do, 388q–389

Ureter(es)

bífido, 388q–389, 389f

ducto mesonéfrico e, 388f

duplicado, 388q–389

saída extraesfincteriana, 388q–389

ectópicos, formação dos, 390f

ortotópico, 388q–389

Uretra

membranosa, 371, 387

pélvica, 375

peniana, 371, 375, 415–416, 417f

prostática, 371, 387

Útero, 388q–389, 394, 413–414f, 415

anomalias do, 413q–415, 415f
controle hormonal do, 25, 25f
ligamento largo do, 414f, 423, 424f
ligamento redondo do, 423, 424f
Utrículo, 473–475
Utrículo prostático, 400f, 401

V

Vagina, 394, 413–414f, 415
adenocarcinoma de células claras da, 413q–415
vestíbulo da, 371, 375, 387f, 413, 416
Valor posicional, 202q
Valva aórtica bicomissural, 298q–302q
Valva atrioventricular tricúspide, 267
Valva bicúspide, 267, 291
Valva mitral *See Valva bicúspide*
Valvas semilunares, 267
desenvolvimento das, 292–295
formação das, 294f
Valva tricúspide, 291, 291f
atresia, 298q–302q
Válvula atrioventricular
defeitos, 298q–302q
desenvolvimento da, 291, 291f
Válvulas venosas, 281
Varfarina, 514q
Vasculatura, 304–340 *See also Vasculogênese; Vasos específicos*
alterações dramáticas da, no nascimento, 334–337f, 340
angiomas e, 313q
células-tronco hematopoiéticas e, intraembrionárias, como origem da medula óssea do adulto, 308f, 308q
formação do sangue e, na 3^a semana, 306–307f, 309
linha do tempo do desenvolvimento da, 305f
renal, 381
Vasculatura coronariana, 296–303
Vasculogênese, 267, 304, 306, 309–309f–310f, 312
expansão e remodelação do complexo vascular inicial na, 310f, 311q–312q, 312f
iniciação e controle da, 311q–312q
Vasectomia, 38q–41
Vasos sanguíneos, primitivos, associados ao tubo endocárdico, 279–280
Vater, ampola de, 354
Vax2, padronização da retina neural e, 220q
VE-caderina (caderina-endotélio vascular), formação da célula do coxim endocárdico, 283q

VEGF

angiogênese e, 310f, 311q–312q
condrogênese e, 188q–190q
formação da célula do coxim endocárdico, 283q
vasculogênese e, 311q–312q

VEGFR1, vasculogênese e, 311q–312q

VEGFR2, vasculogênese e, 311q–312q

VEGFR3, linfedema e, 334q, 337f

VegT, na formação do endoderma, 47q

Veia ázigos, 330f, 333

Veia cava

inferior

dupla, 333f, 334q
porção terminal da, 329f–330f, 330

superior

esquerda persistente (dupla), 333f, 334q
esquerda simples, 334q

Veia cava superior, 330f, 333

Veia esplênica, 329f, 330

Veia hemiázigos, 330f, 333

Veia mesentérica, 329f, 330

Veia oblíqua, do átrio, 281

Veia porta, 330

Veia subclávia, 332 -334

Veias braquiocefálicas, 330f, 332–334

Veias cardinais

anteriores (cranianas), 279, 304, 330f, 332–334
comuns, 267, 279, 304
posteriores (caudais), 279, 304, 330f, 332

Veias cavas, 281

Veias endometriais, 138

Veias intercostais, 332–333

Veias *vs.* artérias, 311q–312q

formação das, 312q–313q, 313f

Veias jugulares, 330f, 332–334

Veias pulmonares, 267, 281f, 283

Veias subcardinais, 332

Veias supracardinais, 330f, 332

Veias umbilicais, 304

direita, 330–332

esquerda, anastomose com o ducto venoso, 330–332

Veias vitelinas, 304, 329–329f, 330

Velo, 165

Ventrículos (do cérebro)

lateral, 200–202, 219f, 225

primitivo, 200–202

quarto, 200–202

terceiro, 200–202

Ventrículos (do coração)

primitivo, direito, 273–275

septação dos, início da, 288–291

Ventrículos laterais, 225

Ventrículos (na vesícula óptica), 490

Vértebra

defeitos da, 184q–185q, 185f

especificação da identidade da, 180q, 182f–184f

não fechamento, 184q–185q

Vesícula biliar, 341, 350–352, 352f

Vesícula do cristalino, 488, 490, 493f

Vesícula germinativa, 25

Vesícula ótica, 473, 475, 476f–477f, 478q–480q

pars inferior, 473, 475–476

pars superior, 473, 475–476

Vesícula renal, desenvolvimento da, 382f

Vesículas

cerebrais

primárias, subdivisão formando vesículas secundárias, 200–201f, 202

secundárias, subdivisão formando vesículas primárias, 200–201f, 202

do cristalino, 490

germinais, 25

ópticas, 217, 473, 476f–477f, 478q–480q, 488, 490, 491f

pars inferior, 473, 475–476

pars superior, 473, 475–476

seminais, 24, 398, 406, 406f, 406q

Vestíbulo, da vagina, 375, 387f, 413

Vg, formação da linha primitiva e, 60q–64

Via cardíaca de saída, septação da, 293f

Via de polarização das células planas (PCP), 165q–166q, 480q–482q

neurulação e, 90q–92q

Drosophila, 90q–92q

Via de RAS-MAP quinase, 12f

Via de saída, 273–275

anomalias, 300f

distal, 273–275

função do campo cardíaco secundário na formação do, 276q
proximal, 273–275
septação do, 291–292
contribuição de células da crista neural, 292q

Via pré-formada, 220q

Vias de sinalização, 108, 122–131
cascata de sinais, 122
na *Drosophila*, 122–125
no embrião vertebrado, 125–125f, 131
sinalização hedgehog, 126–127, 127f
sinalização integrina e, 130, 130f
sinalização Notch e, 129–129f, 130
sinalização pelo ácido retinoico e, 131, 131f
sinalização pelo Tgf β e, 127, 128f
sinalização tirosinaquinase e, 128–128f, 129
sinalização Wnt e, 125–126f, 131

Vias permissivas, 520

Via Wnt canônica, 125–126, 126f

Vilosidades, do intestino, 341

Vilosidades intermediárias imaturas, 136

Vilosidades mesenquimais, 136

Vilosidades terminais, 136–137

Vilosidades-tronco, 133

Vilosidades-tronco coriônicas, 51f

Vilosidades-tronco terciárias, 136

Vimentina, na transformação epitelio-mesenquimal, 67q–68

Vírus da imunodeficiência humana (HIV), transmissão placentária do, 141

Vírus da rubéola, 141

Vírus herpes simples, 141

Vírus varicela-zóster, 141

Visão binocular, 220q

Visão, binocular, células ganglionares da retina e, 220q, 223f

Víscera intraperitoneal, 343

Víscera, posição da, 60q–64

Viscerocrânio, 431

Vitamina A, holoprosencefalia e, 438q

Vitamina B₉ See **Ácido fólico**

Vitreorretinopatia exsudativa familiar, 498q–499q

Volvo, intestinal, 360q, 363f

Vômitos biliosos, no volvo intestinal, 360q

Winslow, forame epiploico do, [351f](#), [357](#)

Wnt1, células progenitoras cardíacas, especificação da, [269q](#)

Wnt4

broto uretérico e, [383q–385q](#)

conversão mesênquima-epitelial do mesênquima, [383q–385q](#)

desenvolvimento do óvulo e, [409q–411q](#)

Wnt7a

ligação de dietilestilbestrol a, [399q–401q](#)

padronização de ductos mesonéfricos e, [413q](#)

Wnt9b, broto uretérico e, [383q–385q](#)

Wnt(s) 125-131

condrogênese e, [188q–190q](#)

da retina, [498q–499q](#)

diferenciação do epitélio do trato gastrointestinal e, [366q](#)

especificação e destino do hepatoblasto e, [350q](#)

na neurulação, [90q–92q](#), [91f](#)

orientação axonal e, [245q](#)

otocistos e, [479f](#)

padronização da placa e do tubo neural e, [202q](#)

sinalização Wnt defeituosa e turnover da β -catenina, como prenúncio de câncer de cólon, [366f](#)

somitogênese e, [73q–75](#)

subdivisões de somitos e, [104q](#)

subdivisões mediolaterais do mesoderma e, [67q–68](#)

vasculogênese e, [311q–312q](#)

Wt1

broto uretérico e, [383q–385q](#)

formação da gônada indiferenciada e, [399q–401q](#)

Z

Zeugópode, [503q](#), [508f](#)

Zic2

células ganglionares da retina e, [220q](#)

decussação de axônios ganglionares da retina e, [220q](#)

holoprosencefalia e, [438q](#)

Zic3, direcionado à célula ganglionar da retina e, [220q](#)

Zigoto, [35](#)

clivagem do, [35](#), [36f](#)

segregação do blastômero na, [35–36f](#), [37](#)

transformação da mórula em blastocisto na, [37](#)

Zona de atividade polarizada (ZAP), [503q](#), [509q](#), [510f](#)

Zona de progresso, [503q](#)

Zona de terminação, [220q](#)

Zona ectodérmica frontonasal, [450q–453](#)

Zona fasciculada, [391](#)

Zona formadora, [169](#)

Zona glomerulosa, [391, 392f](#)

Zona limitante intratalâmica, padronização da placa e do tubo neural e, [202q](#)

Zona marginal, [227](#)

Zona pelúcida, [25–26, 26f–27f, 409q–411q](#)

eclosão de blastocistos da, [37](#)

Zona pré-hipertrófica, [187](#)

Zona reticular, [391, 392f](#)

Zona subventricular, [227](#)