

Embriologia

Texto, atlas e roteiro de aulas práticas

Tatiana Montanari



Tatiana Montanari

Embriologia

Texto, atlas e roteiro de aulas práticas

Porto Alegre
Edição do autor
2013

Embriologia

Texto, atlas e roteiro de aulas práticas

Tatiana Montanari

Bióloga formada pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),

Mestre em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),

Doutora em Ciências (Biologia Celular e Tecidual) pela Universidade de São Paulo (USP),

Professora Associada do Departamento de Ciências Morfológicas

do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS

© da autora

1^a edição 2013

Direitos reservados desta edição: Tatiana Montanari

Fotografias: Tatiana Montanari, Thaís de Oliveira Plá, Sofia Louise Santin Barilli, Nívia Lothhammer e Casimiro García Fernández

Ilustrações: Tatiana Montanari, Tainã Gonçalves Loureiro e Elise Leite

Navegação: Eliane de Oliveira Borges

Revisão gramatical: Ilva Flordelice Varaschini

Fotografia da capa: cortesia da Profª Nívia Lothhammer, Departamento de Ciências Morfológicas, ICBS, UFRGS

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Montanari, Tatiana

Embriologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas [recurso eletrônico] / Tatiana Montanari. – Porto Alegre : Ed. do autor, 2013.

Inclui referências.

Inclui figuras e quadros.

Disponível em: <http://www.ufrgs.br/livrodeembrio/>

Descrição baseada em: jul. 2013.

ISBN 978-85-915646-1-3

1. Embriologia. 2. Embriologia humana – Atlas. 3. Embriologia humana – Sistemas. 4. Desenvolvimento embrionário. 5. Anatomia comparada – Embriologia. I. Título.

CDU 611.013

Este livro é dedicado:
à minha mãe Ives e à minha tia Ilva,
que me ensinaram a paixão pelos livros,
e às minhas orientadoras Sonia, Heidi e Estela,
pelo exemplo de professoras e pesquisadoras.

Prefácio

Embriologia (*embrio* – embrião, *logos* – ciência) significa a ciência que estuda os embriões, isto é, o estudo descritivo ou experimental das mudanças na forma do embrião. Entretanto a Embriologia não se restringe ao período embrionário: processos anteriores, como a gametogênese e a fertilização, necessários para a formação do embrião, e acontecimentos posteriores como aqueles que ocorrem no período fetal também são objetos de estudo. Então a Embriologia aborda desde a produção dos gametas até o nascimento. Esse é o conteúdo deste livro.

Ele foi iniciado como uma apostila, resultado da compilação dos roteiros de aulas teóricas e práticas das disciplinas de Embriologia ministradas no Departamento de Ciências Morfológicas da UFRGS. Além da Embriologia humana, o conteúdo de Embriologia comparada é contemplado, já que é ministrado para o curso de Ciências Biológicas. Os grupos animais abordados são modelos clássicos no estudo da Embriologia, e sua inclusão permite uma compreensão do aumento da complexidade do desenvolvimento conforme a progressão na escala evolutiva.

Muitas das fotografias apresentadas são provenientes do trabalho de pesquisa na área de Reprodução, iniciado na pós-graduação e continuado na docência. Com o recebimento de um fotomicroscópio Olympus do Programa de Modernização da Infraestrutura das Instituições Federais de Ensino Superior e Hospitais Universitários, do Ministério da Educação e com a iniciativa da acadêmica Thaís de Oliveira Plá, também foram fotografadas as lâminas das disciplinas, confeccionadas nos Laboratórios de Embriologia, Histologia e Ultramicrotromia do Departamento.

O acervo de peças macroscópicas de placenta, embriões e fetos foram registrados pela professora Nívia Lothhammer e pela acadêmica Sofia Louise Santin Barilli.

Agradeço à Profª Nívia Lothhammer e ao Prof. Casimiro García Fernández pelas imagens de embriões de aves *in toto*. O Prof. Casimiro também enriqueceu o capítulo de desenvolvimento comparado com o seu material de pesquisa.

Devo ainda agradecimentos às acadêmicas Elise Leite e Tainã Gonçalves Loureiro que realizaram parte das ilustrações e aos professores Antonio Carlos Huf Marrone e Eduardo Grossmann pela atenção no esclarecimento de dúvidas.

Embriologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas foi escrito para os alunos dos cursos de graduação nas áreas das Ciências Biológicas e da Saúde. Associa o conhecimento da Embriologia descritiva e experimental com as descobertas da Biologia do desenvolvimento. É ricamente ilustrado e apresenta questões de estudo e proposta para as aulas práticas.

Essa edição foi disponibilizada na internet, visando fomentar a sua acessibilidade e assim oportunizar que um número maior de alunos e professores possa utilizá-lo como recurso educacional nas aulas teóricas e práticas de Embriologia.

Tatiana Montanari

Sumário

Capítulo 1

Histórico

- 1 – A (POUCA) COMPREENSÃO DA ORIGEM DO SER NAS SOCIEDADES PRIMITIVAS
- 2 – OS PRIMEIROS ESTUDOS E AS TEORIAS DE PRÉ-FORMAÇÃO E EPIGÊNESE
- 3 – A EMBRIOLOGIA EXPERIMENTAL E OS CONCEITOS DE DESENVOLVIMENTO EM MOSAICO E REGULADO E DE INDUÇÃO EMBRIONÁRIA
- 4 – TERATOLOGIA: O ESTUDO DOS MONSTROS
- 5 – QUESTIONÁRIO
- 6 – REFERÊNCIAS

Capítulo 2

Gametogênese

- 1 – INTRODUÇÃO
- 2 – MITOSE E MEIOSE
 - 2.1 – Mitose
 - 2.2 – Meiose
- 3 – ESPERMATOGÊNESE E OOGÊNESE
 - 3.1 – Epitélio seminífero e tecido intersticial
 - 3.2 – Espermiogênese
 - 3.3 – Espermiação
 - 3.4 – Controle hormonal da espermatogênese
 - 3.5 – Controle da espermatogênese por apoptose
 - 3.6 – Ovários e folículos ovarianos
 - 3.7 – Controle hormonal da oogênese: ciclo estral e ciclo menstrual
- 4 – QUESTIONÁRIO
- 5 – REFERÊNCIAS

Capítulo 3

Transporte dos Gametas e Fertilização

- 1 – INTRODUÇÃO
- 2 – TRANSPORTE DOS GAMETAS
 - 2.1 – Transporte dos espermatozoides
 - 2.2 – Transporte do óvulo
- 3 – FERTILIZAÇÃO
- 4 – QUESTIONÁRIO
- 5 – REFERÊNCIAS

Capítulo 4

Desenvolvimento Comparado

- 1 – VARIABILIDADE DO GAMETA MASCULINO
- 2 – VARIABILIDADE DO GAMETA FEMININO
 - 2.1 – Organização do ovo
 - 2.2 – Tipos de ovos
 - 2.3 – Células acessórias
 - 2.4 – Envelopes do ovo
- 3 – CLIVAGEM
 - 3.1 – Conceito

- 3.2 – Classificação
- 4 – GASTRULAÇÃO E MOVIMENTOS MORFOGENÉTICOS
 - 4.1 – Estabelecimento do plano corporal e gastrulação
 - 4.2 – Movimentos morfogenéticos
- 5 – DESENVOLVIMENTO DOS EQUINODERMOS
 - 5.1 – Tipo de ovo e fertilização
 - 5.2 – Clivagem
 - 5.3 – Gastrulação
- 6 – DESENVOLVIMENTO DOS PROTOCORDADOS
 - 6.1 – Tipo de ovo e fertilização
 - 6.2 – Clivagem
 - 6.3 – Gastrulação e neurulação
 - 6.4 – Estágio larval
- 7 – DESENVOLVIMENTO DOS ANFÍBIOS
 - 7.1 – Tipo de ovo e fertilização
 - 7.2 – Clivagem
 - 7.3 – Gastrulação e neurulação
 - 7.4 – Estágio em botão caudal e eclosão
- 8 – DESENVOLVIMENTO DAS AVES
 - 8.1 – Tipo de ovo e fertilização
 - 8.2 – Clivagem
 - 8.3 – Gastrulação e neurulação
 - 8.4 – Anexos embrionários
- 9 – QUESTIONÁRIO
- 10 – REFERÊNCIAS

Capítulo 5

Desenvolvimento Humano

- 1 – PRIMEIRA SEMANA
 - 1.1 – Clivagem
- 2 – SEGUNDA SEMANA
 - 2.1 – Implantação
 - 2.2 – Placentação
 - 2.3 – Formação do embrião didérmico e dos anexos embrionários
- 3 – TERCEIRA SEMANA
 - 3.1 – Gastrulação, formação da linha primitiva e do embrião tridérmico
 - 3.2 – Notocorda e neurulação
 - 3.3 – Diferenciação do mesoderma
- 4 – QUARTA A OITAVA SEMANAS
 - 4.1 – Dobramento do embrião
 - 4.2 – Organogênese
- 5 – TERCEIRO AO NONO MÊS
 - 5.1 – Período fetal
- 6 – QUESTIONÁRIO
- 7 – REFERÊNCIAS

Capítulo 6

Roteiro de aulas práticas

1 – A (POUCA) COMPREENSÃO DA ORIGEM DO SER NAS SOCIEDADES PRIMITIVAS

Nas sociedades primitivas, ignorava-se o papel do homem na procriação dos filhos. Acreditava-se que eles eram a reencarnação de larvas ancestrais que flutuavam ao redor de certas árvores, rochedos ou lugares sagrados e que desciam no corpo da mulher, podendo penetrar pelas narinas, pela boca ou diretamente no ventre materno. Em algumas culturas, considerava-se que a mulher não devia ser virgem para que a infiltração ocorresse e rituais de defloramento eram comuns.

Com o advento do patriarcado, o homem reivindicou o papel de criador e limitou à mulher as funções de carregar e nutrir a semente viva. O médico grego Hipócrates (cerca de 460-377 a.C.) reconheceu duas espécies de sêmens: um fraco ou feminino e outro forte, masculino. O filósofo grego Aristóteles (cerca de 384-322 a.C.) imaginou que o feto era produzido pelo encontro do esperma com o sangue menstrual. A mulher fornecia apenas uma matéria passiva, enquanto o princípio masculino era força, atividade, movimento, vida.

2 – OS PRIMEIROS ESTUDOS E AS TEORIAS DE PRÉ-FORMAÇÃO E EPIGÊNESE

Os primeiros estudos embriológicos foram feitos por Hipócrates e por Aristóteles, analisando o desenvolvimento de aves. Por esse trabalho, Aristóteles é reconhecido como Fundador da Embriologia.

Claudius Galeno (cerca de 130-201 a.C), médico grego, escreveu sobre o desenvolvimento e a nutrição dos fetos no livro *Sobre a formação dos fetos*.

Em 1651, William Harvey (1578-1657) publicou *De Generation Animalium*. Harvey acreditava que a semente masculina (o esperma), após a entrada no útero, transformava-se em algo como um ovo, do qual o embrião se desenvolvia.

Em 1673, Marcello Malpighi (1628-1694), um embriologista italiano, fez representações detalhadas do embrião de aves.

O microscopista holandês Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) apresentou a *Royal Society of London*, em 1676, desenhos de animáculos presentes no esperma humano (Figura 1.1). O termo espermatozoide só foi cunhado em 1827, por von Baer.

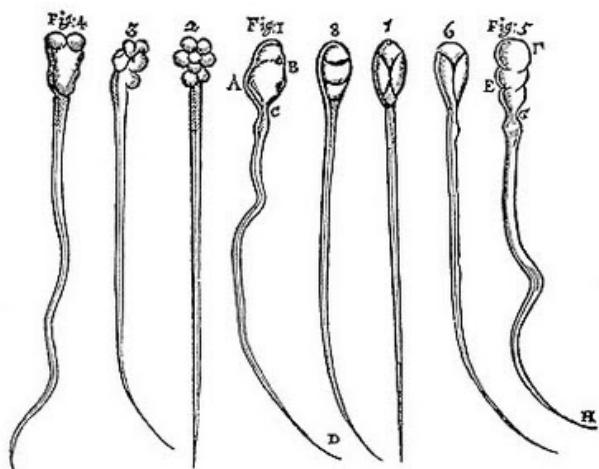


Figura 1.1 - Desenho de Leeuwenhoek (*de Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1677).

Posteriormente, o aristocrata francês Dalenpatius, pseudônimo de François de Plantade, enviou a Leeuwenhoek desenhos de animáculos espermáticos, observados ao microscópio, como homenzinhos com braços, pernas e um capuz (Figura 1.2).



Figura 1.2 - Desenho de Dalenpatius (de *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 1678).

Para ilustrar a crença de que o espermatozoide tinha uma miniatura do ser humano, o holandês Nicolas Hartsoeker (1656-1725) representou-o com um feto curvado sobre si mesmo em *Essai de dioptrique*, publicado em 1694 (Figura 1.3).

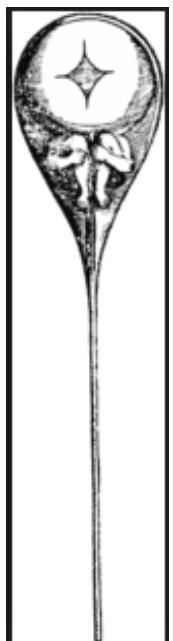


Figura 1.3 - Desenho de Hartsoeker (*Essai de dioptrique*, 1694).

Em 1745, Charles Bonnet (1720-1793) conceituou o termo *emboîtement* para expressar que os corpos estavam encapsulados um dentro do outro, desenvolvendo-se sucessivamente. Não só o ovo continha um embrião completo, mas o embrião possuía ovos para todas as gerações futuras. O ovista Albrecht von Haller, em *Elements de physiologie* de 1752, escreveu “cada mãe é invólucro de um feto, e de milhões de invólucros desses resultam mais milhões.”

Estudando ovos de galinha, o médico alemão Caspar Friedrich Wolff (1734-1794) não encontrou embriões nos ovos não incubados e, naqueles incubados, ao invés de uma miniatura de galinha, observou “glóbulos” em desenvolvimento, propondo o conceito das “camadas” que formam o embrião. Os resultados foram apresentados na sua tese de Doutorado *Theoria Generationis*, em 1759.

Assim, foram estabelecidas duas teorias para explicar o desenvolvimento do ser. Uma teoria sustentava que o embrião era uma redução do adulto: é a *teoria de pré-formação*. Dentro dela, havia duas correntes: os *animalculistas*, que acreditavam que o novo ser estava dentro do espermatozoide, e os *ovistas*, que pregavam que ele estava no ovo. A outra teoria afirmava que o desenvolvimento era gradual, com as estruturas surgindo progressivamente: é a *epigênese*, cujo termo significa no momento da formação.

Lazzaro Spallanzani (1729-1799), apesar de ser um ovista, contribuiu para desacreditar a teoria de pré-formação através de seus experimentos com inseminação artificial, descritos em *Dissertations relative to the natural history of animals and vegetable*, de 1789. Vestiu rãs-machos com calções de tafetá e colocou-os a acasalar com as fêmeas. Os ovos não se desenvolveram em girinos. Por outro lado, ao misturar gotas de sêmen retido nos calções com ovos recém-liberados, o desenvolvimento ocorreu. Ainda, usando uma seringa (sua invenção), impregnou uma cadela com sêmen e verificou que os filhotes assemelhavam-se à mãe e ao cão que fornecera o sêmen.

O ovo foi reconhecido como uma célula pelo fisiologista alemão Theodor Schwann em 1839, e o espermatozoide, em 1865, por Schweigger-Seidel e

St. George. Oscar Hertwig, em 1875, observou a fertilização do ouriço-do-mar e estabeleceu definitivamente a participação dos dois gametas no processo.

Com a compreensão de que os seres vivos, incluindo os embriões, são compostos por células e de que o crescimento é decorrente da sua proliferação, fica claro que o desenvolvimento é epigenético.

3 – A EMBRIOLOGIA EXPERIMENTAL E OS CONCEITOS DE DESENVOLVIMENTO EM MOSAICO E REGULADO E DE INDUÇÃO EMBRIONÁRIA

O biólogo francês Laurent Chabry foi um dos pioneiros da embriologia experimental. Destruiu uma das células do embrião de ascídia (*Styela partita*) no estágio de duas células, e a célula restante desenvolveu uma larva incompleta. Esse trabalho foi publicado em 1887. Em 1892, Chun relatou resultados semelhantes de experimentos com embriões de ctenóforos: houve o desenvolvimento de adultos com metade das estruturas a partir das células separadas de embriões de duas células. Os embriões de tunicados e de ctenóforos não eram capazes de compensar partes perdidas, era como se fossem compostos de um mosaico de partes individuais, por isso a denominação *desenvolvimento em mosaico*.

Ainda em 1892, Hans Driesch divulgou um achado diferente. Células dissociadas de embriões de ouriço-do-mar no estágio de duas células resultaram em larvas normais, embora menores. As células tinham igual potencialidade para o desenvolvimento do embrião. A perda de células não prejudicou a formação do embrião, porque foi compensada pelas demais. Esse fenômeno foi conhecido como regulação, e o *desenvolvimento dito regulado*.

Além dos tunicados e ctenóforos, são também animais com desenvolvimento em mosaico os anelídeos, os nematódeos, os moluscos e os insetos. Eles têm ovos com uma regionalização de componentes no citoplasma, que influenciam a expressão gênica e consequentemente o destino das células derivadas das divisões. A perda de células leva

a um embrião anormal, porque as células restantes não possuem a informação necessária para produzir todo o embrião.

Nos demais animais, o desenvolvimento é regulado, embora, à medida que ocorrem as divisões, as células diferenciam-se, e o embrião passa a ser em mosaico. Os embriões de mamíferos, por exemplo, são regulados até o estágio de oito células, isto é, cada uma das células do embrião até esse estágio é capaz de originar um embrião completo, mas, após esse estágio, a diferenciação das células não permite a reconstituição do embrião completo a partir de uma das células isoladas.

Apesar de o conceito de regulação implicar interação celular, sua existência foi somente demonstrada em 1924 pelos experimentos de Hilde Proescholdt Mangold (1898-1924) no seu Doutorado em Biologia, sob orientação do embriologista Hans Spemann (1869-1941).

Utilizando duas espécies do anfíbio urodelo *Triturus*, uma pigmentada (*T. taeniatus*) e outra não (*T. cristatus*), Hilde Mangold demonstrou que o segmento do lábio dorsal do blastópore da gástrula de *T. cristatus*, transplantado para a região ventral ou lateral da gástrula de *T. taeniatus*, influenciava (induzia) o tecido ectodérmico hospedeiro (que normalmente se diferencia em epiderme) a formar um segundo eixo embrionário, inclusive com tecido neural.

Nesse mesmo ano, Hilde, aos 26 anos, morreu em consequência das queimaduras sofridas com a explosão de uma estufa de calefação. Pela comprovação do fenômeno de *indução embrionária*, ou seja, que um tecido influencia o destino de outro, foi concedido o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina, em 1935, a Hans Spemann.

A investigação de substâncias que promovem eventos indutivos iniciou nos anos 50, com a pesquisa sobre o fator de crescimento neuronal (*nerve growth factor* – NGF) por Rita Levi-Montalcini, neuroembriologista italiana, e Stanley Cohen, bioquímico americano. Eles receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina, em 1986, pela importância dessa descoberta para a compreensão dos

mecanismos que regulam o crescimento das células e dos órgãos e a ocorrência de malformações e de doenças degenerativas e tumorais.

4 – TERATOLOGIA: O ESTUDO DOS MONSTROS

Erros no desenvolvimento podem levar a defeitos sutis que não prejudicam a qualidade de vida do indivíduo ou a defeitos severos que afetam o seu bem-estar ou até mesmo a sua sobrevivência. No primeiro caso, os defeitos são referidos como anomalias e, no segundo, como malformações. Calcula-se que cerca de 2 a 3% dos recém-nascidos apresentam um ou mais defeitos congênitos. Se forem incluídos aqueles manifestados algum tempo após o nascimento, esse percentual sobe para 7%.

Desde a Antiguidade, os defeitos na formação do ser atraem atenção, tanto que foram representados em esculturas e pinturas. Acreditavam que impressões da mãe durante a gravidez, como medo de um animal, afetavam o desenvolvimento. Outras culturas consideravam que a mulher que dava à luz uma criança malformada tinha tido relações com espíritos malignos.

No século XVI, o cirurgião francês Ambrose Paré propôs que fatores hereditários e influências mecânicas, como compressão uterina, seriam responsáveis pelos defeitos congênitos.

No século XIX, Etienne Geoffroy de St. Hilaire cunhou o termo *teratologia* (do grego *teratos*, monstro), cujo significado literal é o estudo dos monstros, para a ciência emergente que tratava das malformações congênitas.

Desde o início do século XX, as manipulações em modelos-animais na embriologia experimental e na genética contribuíram para elucidação do mecanismo responsável por várias anomalias e malformações.

Até os anos de 1940, pensava-se que o embrião era protegido de fatores ambientais pela placenta e que as malformações eram somente de origem genética. Dois grandes eventos na história da teratologia derrubaram essa crença. Um deles foi o

reconhecimento por Gregg, na Austrália, em 1941, de que o vírus da rubéola era responsável pelos defeitos nos olhos, nas orelhas e no coração em crianças nascidas de mães acometidas por essa doença no início da gestação. O outro marco foi a tragédia da talidomida nos anos 60.

Sendo um sedativo, a talidomida foi utilizada por mulheres grávidas contra enjoo na Alemanha, na Austrália e em outros países, inclusive no Brasil (o *FDA - Food and Drug Administration* - não autorizou a sua comercialização nos Estados Unidos). Logo os médicos observaram nasciturnos com uma série de defeitos, entre eles meromelia e amelia, que consiste no desenvolvimento parcial e ausente dos membros, respectivamente. A pesquisa epidemiológica comprovou a relação das anomalias com a talidomida como agente teratogênico causador. Os testes prévios em roedores, apesar de não provocarem dano aos membros, demonstraram redução na taxa de concepção e no tamanho da ninhada na dose de 200mg/kg/dia de talidomida administrada por seis semanas, sendo antes do acasalamento e durante a prenhez.

Após o ocorrido, os testes de toxicologia reprodutiva e teratogenicidade tornaram-se mais rigorosos para avaliar a segurança de novos produtos. Antes dessa data, os únicos compostos regulados pelos protocolos governamentais para toxicidade pré-natal eram aqueles que poderiam afetar o sistema endócrino e aqueles utilizados por mulheres jovens. Em 1966, o *FDA* publicou o documento *Guidelines for reproduction studies for safety evaluation of drugs for human use*, e, desde então, drogas, aditivos alimentares e pesticidas são avaliados segundo essas recomendações.

5 – QUESTIONÁRIO

- 1) Qual era a compreensão da origem do ser nas sociedades primitivas e posteriormente nas sociedades patriarcais?
- 2) Explique do que tratam as teorias de pré-formação e epigênese.

3) Diferencie desenvolvimento em mosaico de regulado e dê exemplos de animais com esses tipos de desenvolvimento.

4) O que significa indução embrionária? Quais são os pesquisadores envolvidos nos primeiros experimentos sobre a indução neural?

5) O que é um teratógeno? Dê exemplos.

6 – REFERÊNCIAS

- BEAUVOIR, S. *O Segundo sexo*. 5.ed. São Paulo: Nova Fronteira, 1980. v.1. p.29-30; 87.
- BROWDER, L. W.; ERICSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. 3.ed. Philadelphia: Saunders College, 1991. p.2-14.
- CARLSON, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p.136-153.
- GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. *Embriologia*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.14-15; 118-126; 165-180; 279-286.
- HOUILLO, C. *Embriologia*. São Paulo: Edgar Blücher, 1972. p.1-2; 102-130.
- JEFFERY, W. R.; SWALLA, B. J. *Tunicates*. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.331-364.
- LEEUWENHOEK, A. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Transactions*, v.13, 1677 apud MORAES, E. G. S. *Espermocitologia: espermocitograma em critério estrito*. 2.ed. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2007. p.59-61, 127.
- LEEUWENHOEK, A. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Transactions*, v.142, p.1040-1043, 1678 apud MORAES, E. G. S. *Espermocitologia: espermocitograma em critério estrito*. 2.ed. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2007. p.59-61, 127.
- MANSON, J. M.; ZENICK, H.; COSTLOW, R. D. Teratology test methods for laboratory animals. In: HAYES, W. *Principles and methods of Toxicology*. New York: Raven Press, 1982. p.141-184.
- MARTINDALE, M. Q.; HENRY, J. Ctenophorans, the comb jellies. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.87-111.
- McGRAYNE, S. B. *Mulheres que ganharam o prêmio Nobel em Ciências*. São Paulo: Marco Zero, 1993. p.11; 211-234.
- MOORE, K.; PERSAUD, T. V. N. *Embriologia clínica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.8-11.
- MORAES, G. E. S. *Espermocitologia: espermocitograma em critério estrito*. 2.ed. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2007. p.59-61, 127.
- PERICOLI, A. M. Da pesquisa clandestina ao prêmio Nobel. *Cidade nova*, v.29, n.2, p.13-14, 1987.
- PINTO-CORREIA, C. *O ovário de Eva: a origem da vida*. Rio de Janeiro: Campus, 1999. 468p.
- WRAY, G. A. *Echinoderms*. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.309-329.

1 – INTRODUÇÃO

Gametogênese é a produção de gametas. O gameta masculino é o espermatozoide, e o gameta feminino é o óvulo. A produção de espermatozoides é chamada de *espermatozigênese* e ocorre nos testículos. A gametogênese feminina é a *oogênese* e se dá nos ovários.

2 – MITOSE E MEIOSE

A gametogênese envolve os dois tipos de divisões celulares: a mitose e a meiose (Figura 2.1). A mitose aumenta a população de células-mãe, e a meiose reduz a quantidade do material genético de diploide para haploide. Com a fusão do gameta masculino ao feminino, a diploidia da espécie é restabelecida.

A meiose proporciona ainda a variabilidade genética através da troca de segmentos entre os cromossomos maternos e paternos e da segregação independente desses cromossomos.

2.1 – Mitose

A célula-mãe é diploide, isto é, $2n2C$, sendo n o número de cromossomos e C a quantidade de DNA. Antes da divisão mitótica, na interfase, ela duplica o DNA, tornando-se $2n4C$ (Figura 2.1).

Na *prófase*, há a condensação da cromatina em cromossomos, sendo que cada cromossomo possui duas cromátides devido à duplicação do DNA. Ocorre também o desaparecimento do nucléolo e a desintegração do envoltório nuclear. Na *metáfase*, os cromossomos arranjam-se no equador da célula. Na *anáfase*, há a separação e a migração das cromátides-

irmãs para os polos opostos da célula, e, na *telófase*, há a descondensação dos cromossomos, a formação do envoltório nuclear e a separação do citoplasma (citocinese) em duas células (Figura 2.1).

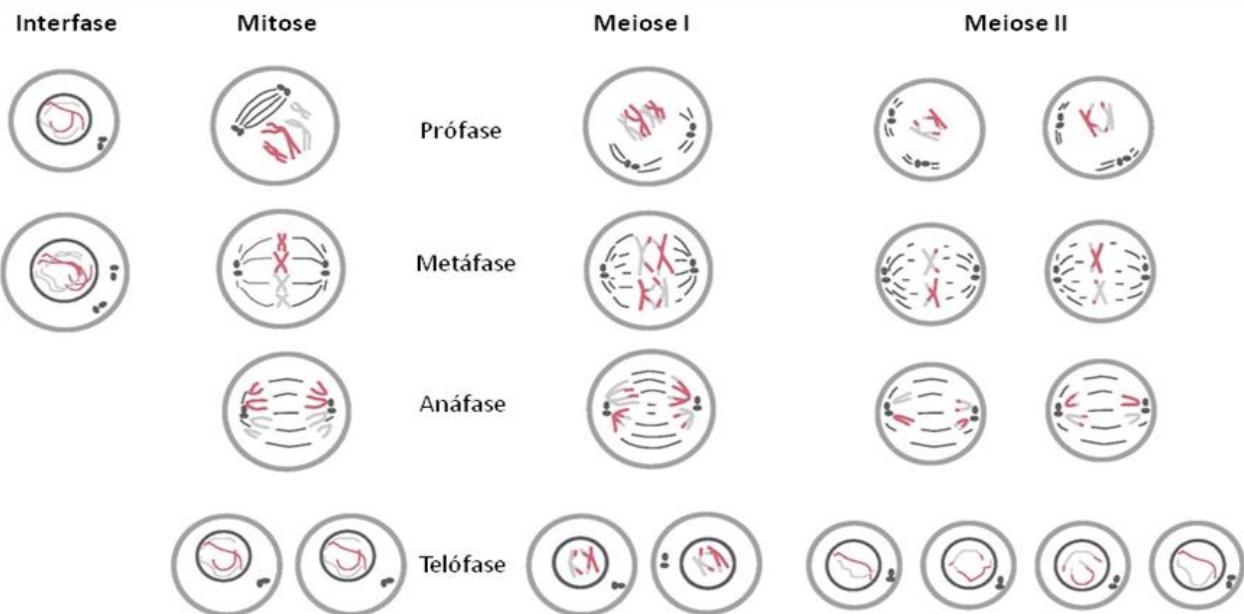
As células-filhas têm o mesmo número de cromossomos e a mesma quantidade de DNA que a célula-mãe, ou seja, são $2n2C$.

2.2 – Meiose

A célula-mãe também é diploide: $2n2C$. Ela duplica o DNA na interfase, tornando-se $2n4C$ e então sofre duas divisões reducionais (Figura 2.1).

Na *primeira meiose*, ocorre o seguinte: na *prófase*, há a condensação da cromatina em cromossomos (cada cromossomo possui duas cromátides devido à duplicação do DNA), o desaparecimento do nucléolo, a desintegração do envoltório nuclear, o pareamento dos cromossomos-homólogos e a recombinação genética (ou *crossing-over*), resultando na troca de material genético entre os cromossomos pareados; na *metáfase*, os cromossomos arranjam-se ao equador da célula; na *anáfase*, um dos cromossomos de cada par de cromossomos-homólogos migra para um dos polos opostos da célula, e, na *telófase*, há a citocinese. As células-filhas contêm um conjunto cromossômico, mas cada cromossomo tem duas cromátides: são $1n2C$ (Figura 2.1).

A *segunda meiose* é semelhante à mitose: na *prófase*, há a desintegração do envoltório nuclear; na *metáfase*, os cromossomos arranjam-se no equador da célula; na *anáfase*, há a separação e a migração das cromátides-irmãs para os polos opostos da célula, e, na *telófase*, há a descondensação dos cromossomos, a formação do envoltório nuclear e a citocinese. As células produzidas têm um conjunto cromossômico, e cada cromossomo é constituído por uma molécula de DNA: são $1n1C$ (Figura 2.1).



T. Montanari

Adaptado de Browder, L. W.; Erickson, C. A.; Jeffery, W. R. **Developmental Biology**. Philadelphia: Saunders College, 1991. p.25.

Figura 2.1 - Esquema comparativo da mitose e da meiose.

Pode ocorrer que um par de cromossomos-homólogos durante a primeira meiose ou as cromátides-irmãs de um cromossomo durante a segunda meiose não se separem (*não-disjunção*), assim haverá gametas com os dois membros de um par cromossômico, totalizando 24 cromossomos, e outros sem nenhum membro de um par cromossômico, portanto, com apenas 22 cromossomos. Ao se combinarem com os gametas normais do sexo oposto, formam embriões com 47 cromossomos (trissomia de um cromossomo) ou 45 cromossomos (monossomia de um cromossomo): são situações de *aneuploidia*.

A deleção, a duplicação e a inversão de partes de cromossomos e ainda a translocação de um segmento do cromossomo para outro também podem gerar síndromes semelhantes àquelas observadas após a não-disjunção.

A fertilização do oócito por dois espermatozoides ou a não separação do segundo corpúsculo polar na segunda divisão meiótica resulta em *poliploidia*.

Metade das gestações termina em aborto espontâneo nas primeiras semanas, devido principalmente às

anormalidades cromossômicas. Essa seleção prévia é responsável pela baixa incidência ao nascimento (0,5%) de crianças afetadas.

3 – ESPERMATOGÊNESE E OOGÊNESE

A descrição apresentada a seguir é da gametogênese humana, sendo mencionadas algumas diferenças que ocorrem em outros animais.

No final do período embrionário, na oitava semana de desenvolvimento, os testículos consistem nos cordões seminíferos, com as células germinativas primordiais (ou gonócitos) e as células de Sertoli, também denominadas células de sustentação por realizarem essa função.

As células de Sertoli secretam o hormônio antimülleriano (*antimüllerian hormone – AMH*), uma glicoproteína da família do fator de crescimento

transformante- β (*transforming growth factor- β* – TGF- β), que suprime o desenvolvimento dos ductos de Müller, precursores do trato reprodutor feminino.

Por influência da gonadotrofina coriônica humana (*human chorionic gonadotropin* – hCG), hormônio proteico produzido pela placenta, semelhante ao hormônio luteinizante (*luteinizing hormone* – LH), surgem, entre os cordões seminíferos, as células de Leydig (ou células intersticiais), as quais secretam testosterona, indutora da formação do sistema reprodutor masculino.

Após o parto, sem o suporte de hCG materna, há a degeneração das células de Leydig. Nos anos pré-puberdade, há uma pequena produção de andrógenos pela adrenal, e as células germinativas primordiais originam as espermatoxenias.

Na puberdade, com o estímulo do LH da hipófise, há uma nova onda de diferenciação de células de Leydig a partir de células mesenquimais. Sob a influência da testosterona, a espermatoxenese inicia. Os espermatozoides são produzidos da puberdade até a morte do indivíduo. Com o arranjo das células germinativas, aparece uma luz nos cordões seminíferos: são os túbulos seminíferos.

Na base do túbulo seminífero, há várias populações de *espermatoxenias* (2n2C). As espermatoxenias do tipo A são células-tronco (*stem cells*), que, através de mitoses, se perpetuam até a morte do indivíduo. As divisões mitóticas das espermatoxenias ocupam quase 16 dias (Figura 2.2). Espermatoxenias do tipo B, descendentes das espermatoxenias do tipo A, saem do ciclo mitótico e entram na meióse, estimuladas pelo ácido retinoico, um derivado da vitamina A.

A espermatoxenia do tipo B aumenta o seu volume e duplica o seu DNA na interfase, tornando-se o *espermatozito primário* (2n4C). Ele sofre a primeira divisão meiótica, levando 24 dias (Figuras 2.2 e 2.3). Durante esse período, além do crossing-over, há a síntese de moléculas de RNAm que serão usadas posteriormente.

De cada espermatozito primário, são originados dois *espermatozitos secundários* (1n2C). Eles

realizam a segunda divisão meiótica rapidamente: cerca de 8h (Figuras 2.2 e 2.3).

As *espermátides* (1n1C) resultantes diferenciam-se nos *espermatozoides* (1n1C). Esse processo de diferenciação morfológica é a espermatoxenese e requer quase 24 dias (Figuras 2.2 e 2.3).

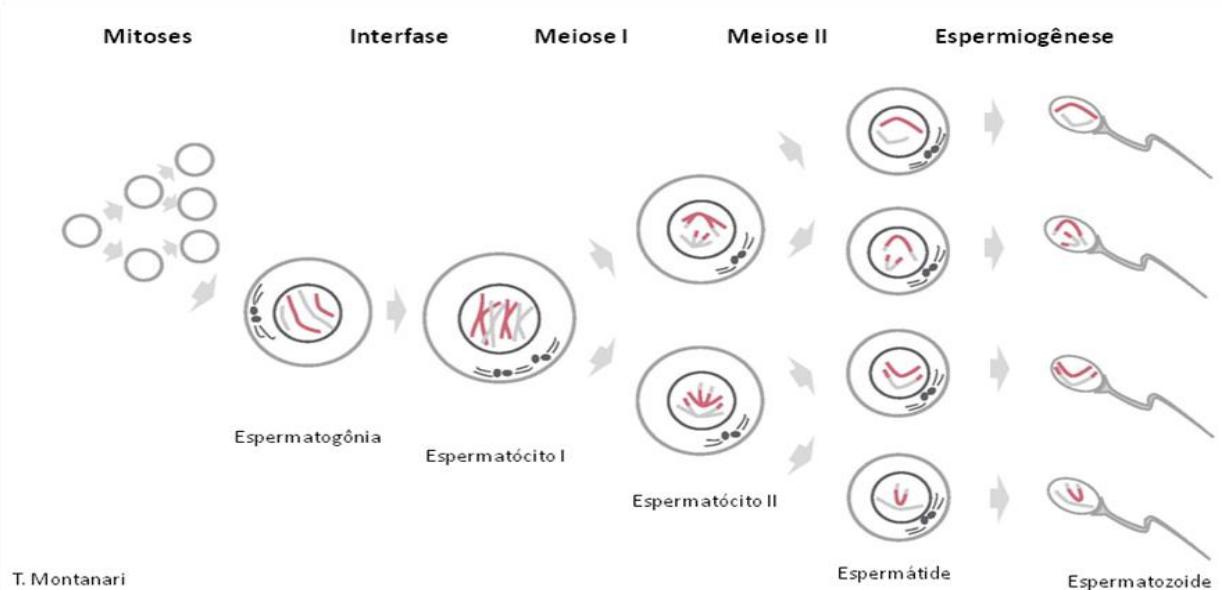
Quando a espermatoxenese se completa e o excesso de citoplasma é perdido, os espermatozoides são liberados na luz dos túbulos seminíferos, o que é denominado espermatoxenização (Figura 2.3).

No ser humano, a espermatoxenese demora 64 dias aproximadamente.

As *oogônias* (2n2C) surgem na vida intrauterina, sendo que, ainda no primeiro trimestre, elas proliferam por mitose e, no segundo, duplicam o material genético na interfase, transformando-se em *oócitos primários* (2n4C) (Figuras 2.4 e 2.5).

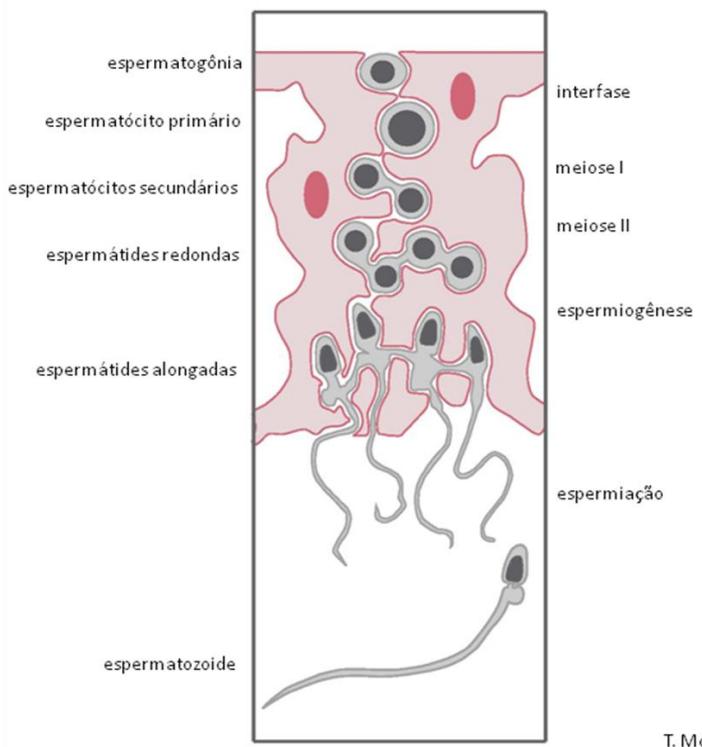
Esses oócitos entram na primeira divisão meiótica, mas a interrompem logo no início, no diplóteno da prófase, por causa de uma alta concentração de monofosfato de adenosina cíclica (AMPc), resultante da produção pelo próprio oócio e pelas células vizinhas, as células foliculares. A passagem do AMPc das células foliculares para o oócio ocorre através de junções comunicantes. O acúmulo de AMPc também é decorrente da produção de monofosfato de guanosina cíclica (GMPc) pelas células foliculares e do seu transporte para o oócio. O GMPc inativa a fosfodiesterase 3A (PDE3A), que converteria o AMPc em 5'AMP. A alta concentração de AMPc no oócio inativa o fator promotor da maturação (MPF de *maturating promoting factor*), responsável pela continuação da meióse.

Nesse período de suspensão da prófase, favorecido pela quantidade duplicada do DNA, há um acúmulo de RNAm e RNAr, que serão usados para a síntese de glicoproteínas que compõem a zona pelúcida, um envoltório do gameta feminino; para a produção de substâncias que são armazenadas nos grânulos corticais e exocitadas na fertilização, e para a tradução de proteínas necessárias no início do desenvolvimento embrionário.



Adaptado de Browder et al., 1991. p.26.

Figura 2.2 - Esquema da espermatogênese.



Adaptado de Larsen, W. J. **Human Embryology**. New York: Churchill Livingstone, 1993. p.10.

Figura 2.3 - Ilustração da espermatogênese.

Depois da puberdade, em cada ciclo menstrual, um oócito primário retoma a meiose (Figuras 2.4 e 2.5). Sob a influência do LH, as junções *gap* entre as células foliculares e o oócito fecham-se, reduzindo a quantidade de AMPc e GMPc transferidos para o oócito. A redução de GMPc ativa a enzima PDE3A, cuja ação degrada o AMPc dentro do oócito. A concentração menor dessa substância ativa o MPF, e a prófase prossegue.

O MPF é uma fosfoproteína com duas subunidades: ciclina B e Cdk1 (*cyclin-dependent kinase 1*). A ciclina ativa a Cdk1, a qual é uma enzima quinase que fosforila proteínas, como a histona H1 e as laminas, levando à condensação da cromatina e à desintegração do envoltório nuclear, respectivamente.

O MPF induz a transição da fase G2 para a fase M (mitose) do ciclo celular de células somáticas e, por isso, é também denominado fator promotor da fase M (*M-phase promoting factor*).

Com a conclusão da primeira meiose são formados o oócito secundário e o primeiro corpúsculo polar (1n2C). A citocinese assimétrica faz com que o oócito secundário fique com a maior parte do citoplasma, organelas e nutrientes para sustentar o início do desenvolvimento do embrião, enquanto o corpúsculo polar é uma célula pequena, com o excesso de material genético e que logo degenera (Figuras 2.4 e 2.5).

Geralmente só há liberação do ovário (*ovulação*) de um oócito secundário. Se mais oóцитos forem liberados, quando fecundados, resultarão em gêmeos não idênticos. Em animais com múltiplos filhotes, vários oóцитos são ovulados.

O oócito secundário entrou na segunda meiose, mas ela foi interrompida na metáfase. Com a entrada do espermatozoide, os níveis citoplasmáticos de Ca²⁺ aumentam, ativando a proteína quinase dependente de calmodulina/Ca²⁺ II (CAM-quinase II). Essa enzima degrada a ciclina do MPF, dando continuidade à divisão meiótica. O oócito secundário termina a meiose, gerando, novamente por citocinese

assimétrica, o óvulo e o segundo corpúsculo polar (1n1C) (Figuras 2.4 e 2.5).

O oócito secundário é viável por, no máximo, 24h. Se a fertilização não se realiza, o oócito secundário sofre autólise e é reabsorvido pelo trato reprodutor feminino.

O estágio em que o gameta feminino é liberado do ovário varia conforme o animal. Por exemplo, os cnidários, os ctenóforos e os ouriços-do-mar ovulam óvulos; platelmintos, moluscos, muitos insetos, cadelas e éguas liberam o oócito primário; os equinodermos, com exceção dos ouriços-do-mar, os cordados inferiores, os anfíbios, as aves e a maioria dos mamíferos, inclusive as mulheres, ovulam o oócito secundário.

O Quadro 2.1 exibe um resumo comparativo da gametogênese masculina e feminina.

3.1 – Epitélio seminífero e tecido intersticial

Os testículos possuem forma oval, com 4cm de comprimento e 3cm de diâmetro no ser humano. Eles estão na bolsa escrotal, envolvidos pela túnica vaginal, uma camada dupla de mesotélio contínuo ao peritônio.

No espaço entre os folhetos parietal e visceral da túnica vaginal, há fluido secretado pelas células mesoteliais, que permite o movimento sem atrito dos testículos na bolsa escrotal.

O folheto visceral da túnica vaginal é adjacente à túnica albugínea, uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado. A túnica albugínea espessa-se na face posterior dos testículos, formando o mediastino, de onde partem septos fibrosos para o interior do órgão e por onde entram e saem vasos e nervos.

Os testículos são constituídos por túbulos de epitélio especial, o *epitélio germinativo* (ou *seminífero*) (Figura 2.6). Por testículo, há 400 a 600 túbulos seminíferos com cerca de 80cm de comprimento e 150µm de diâmetro, produzindo 50 a 150 milhões de espermatozoides diariamente.

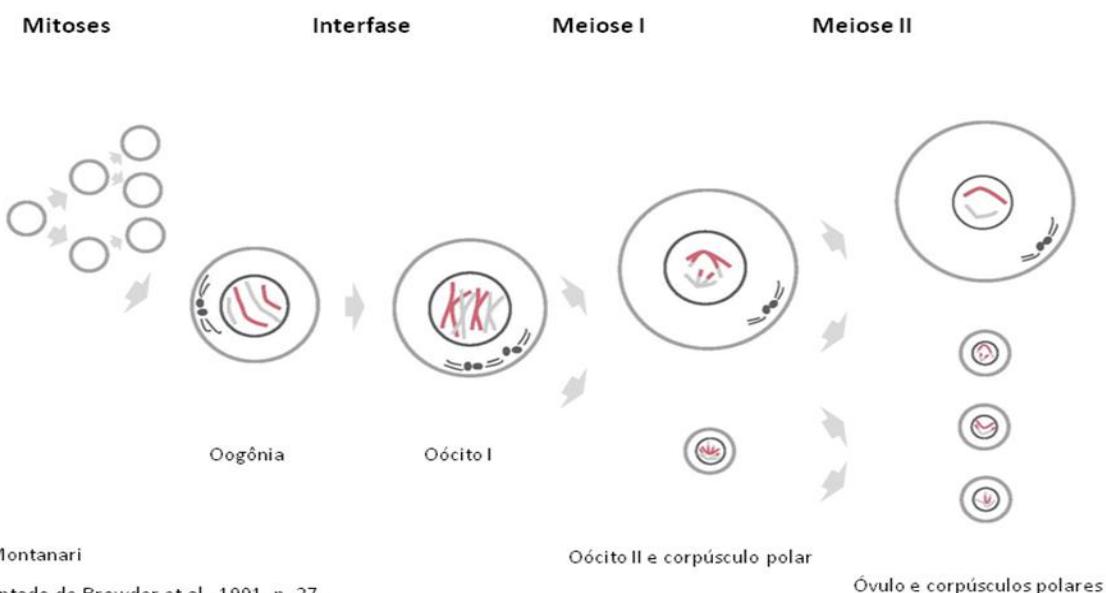
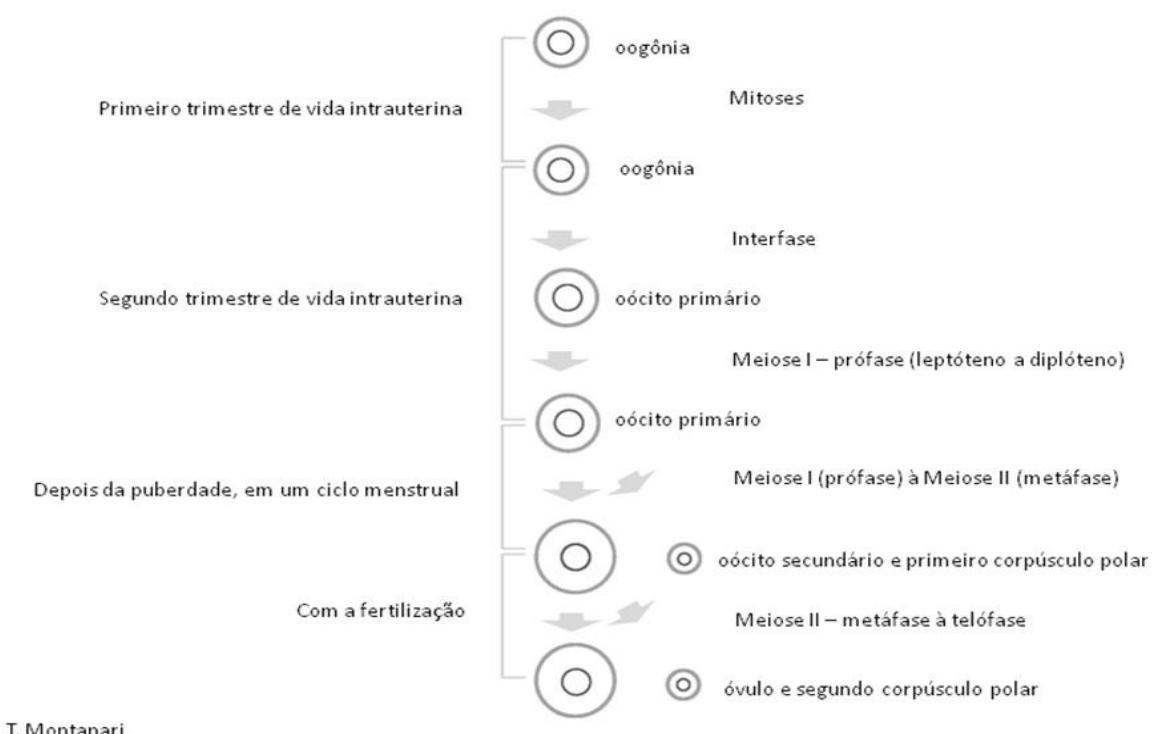


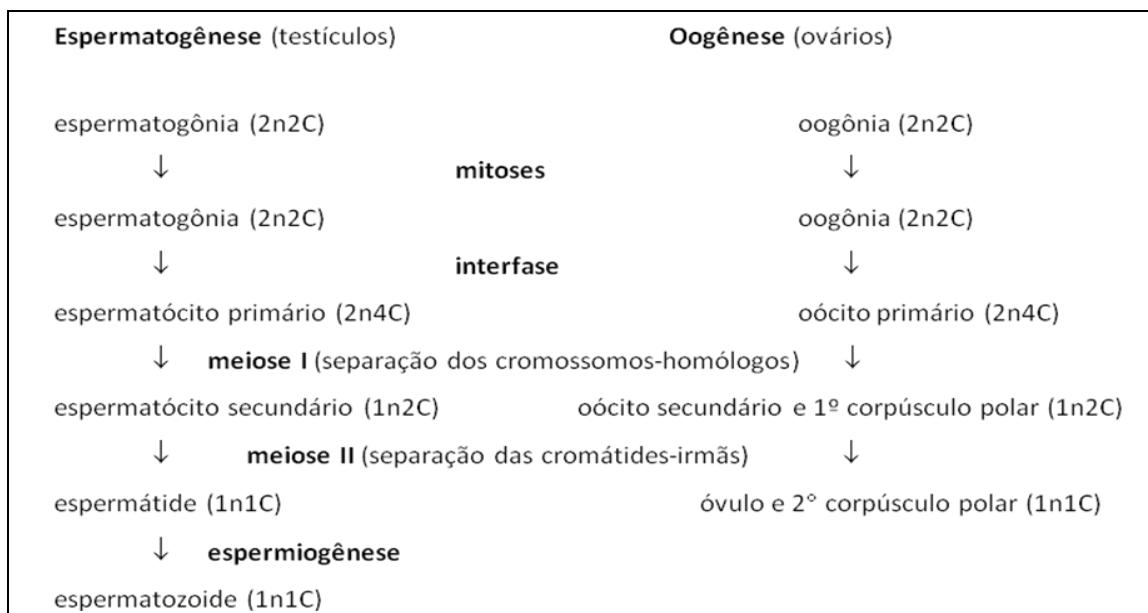
Figura 2.4 - Esquema da oogênese.



Adaptado de Carr, B. R. Disorders of the ovary and female reproductive tract. In: Wilson, J. D.; Foster, D. W.; Kronenberg, H. M.; Larsen, P. R. **Williams textbook of Endocrinology**. 9. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.753.

Figura 2.5 - Estágio da vida em que ocorre a oogênese.

Quadro 2.1 - Esquema comparativo entre a espermatogênese e a oogênese.



Ao redor dos túbulos, há a túnica própria, composta pela membrana basal, pelas fibras colágenas e pelas células mioides peritubulares, que são miofibroblastos (Figura 2.6).

Entre os túbulos, há o tecido intersticial, um tecido conjuntivo frouxo, com as células de Leydig (secretoras de testosterona), nervos, vasos sanguíneos e linfáticos (Figuras 2.6 e 2.7).

Para a espermatogênese ocorrer, a temperatura deve ser de 35°C, o que é conseguido pela presença dos testículos na bolsa escrotal. Há um plexo venoso ao redor da artéria espermática que funciona como um sistema contracorrente de troca de temperatura para dissipar o calor. Por outro lado, para aumentar a temperatura, contrações do músculo cremaster no cordão espermático e do músculo dartos no escroto aproximam os testículos da parede corporal.

Os indivíduos com *criptorquidismo*, ou seja, com testículos retidos na cavidade abdominal ou no canal inguinal, não produzem espermatozoides, embora apresentem as características sexuais secundárias e sejam potentes, já que a síntese de testosterona não é afetada.

As células germinativas dispõem-se no túbulo seminífero conforme a progressão da espermatogênese. Assim, as *espermatogônias* estão na camada basal; os *espermatócitos*, na camada logo acima, e as *espermáldes jovens* (ou *redondas*) e *tardias* (ou *alongadas*), nas camadas superiores (Figuras 2.8 e 2.9). Os *espermatozoides* são encontrados na luz do túbulo, pois são liberados quando formados.

Nem todas as células germinativas são reconhecidas em um corte de túbulo seminífero. As diferentes associações celulares observadas configuram os estágios da espermatogênese. No homem, são seis estágios, enquanto são 12 no macaco, no camundongo e na cobaia e são 14 no rato.

Como a espermatogênese humana ocorre em uma espiral, dois a quatro estágios são vistos no mesmo corte transversal do túbulo. Nos demais mamíferos, ela progride ao longo do túbulo de modo que há um único estágio no corte transversal.

Como a citocinese é incompleta, as células-filhas resultantes das mitoses e da meiose permanecem conectadas por pontes citoplasmáticas (Figuras 2.3 e

2.10). A ampla comunicação entre as células permite a sincronização do seu desenvolvimento.

O epitélio seminífero possui também as *células de Sertoli*. Elas se apóiam na lâmina basal dos túbulos, unindo-se a ela por hemidesmossomos. São células alongadas, com reentrâncias onde se inserem as células germinativas (Figuras 2.8 e 2.9).

O núcleo das células de Sertoli é grande, de forma ovoide ou irregular e pode ser indentado. É claro, devido à cromatina frouxa, e exibe nucléolo proeminente, com heterocromatina associada (Figura 2.8). O citoplasma possui citoesqueleto e organelas em abundância, especialmente retículo endoplasmático liso, mitocôndrias e vesículas do sistema endolisossomal. Gotículas lipídicas também são encontradas. Em humanos, há os cristais de Charcot-Bottcher, que medem 20 μm de comprimento e 1 μm de espessura.

O tamanho e os constituintes mudam durante o ciclo espermatogênico, influenciados pelo hormônio folículo-estimulante (*follicle-stimulating hormone* – FSH). Essas alterações estão relacionadas com a atividade funcional, promotora da espermatogênese, e permitem acomodar as mudanças morfológicas das células germinativas. Além de receptores de superfície para FSH, as células de Sertoli possuem receptores nucleares para andrógenos, mediando o seu efeito sobre as células germinativas (Figura 2.7).

Pela união por junções de adesão e desmossomos, elas sustentam e translocam as células germinativas da base para o ápice do epitélio de onde serão liberadas (Figuras 2.8 e 2.9). Através de junções *gap*, nutrem as células germinativas e regulam a espermatogênese.

Dentre as várias substâncias produzidas pelas células de Sertoli, citam-se a proteína de ligação ao andrógeno (*androgen-binding protein* – ABP), a ativina (membro da família do TGF- β) e a inibina.

A ABP liga-se à testosterona, aumentando os seus níveis nos túbulos seminíferos. Uma concentração de testosterona 200 vezes maior daquela plasmática é necessária para a espermatogênese ocorrer. A ativina realiza *feedback* positivo sobre a secreção de FSH, enquanto a inibina exerce um *feedback* negativo.

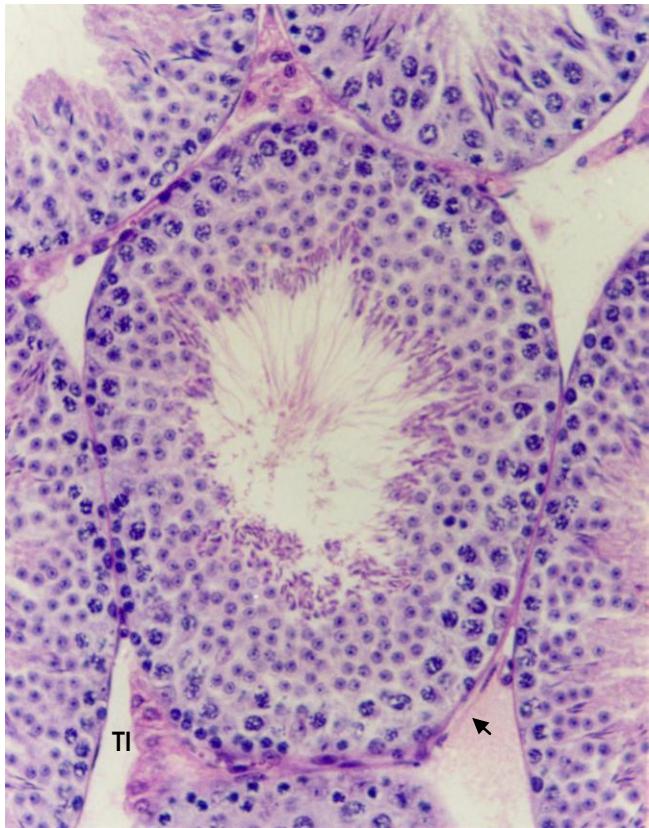
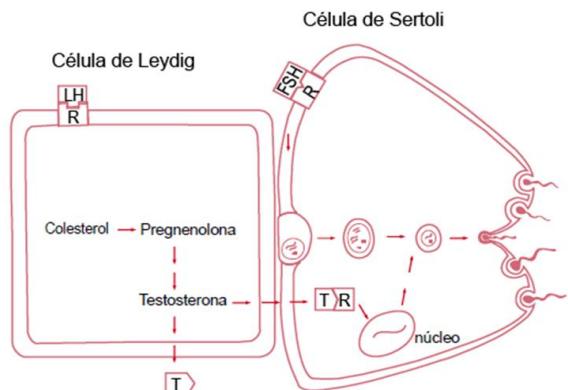


Figura 2.6 - Corte de testículo de camundongo, mostrando os túbulos seminíferos, a túnica própria circundando-os (→) e o tecido intersticial (TI) entre eles. HE.



E. Leite e T. Montanari

Adaptado de Hedge et al., 1988.

Figura 2.7 - Esquema da regulação hormonal das células de Leydig e das células de Sertoli.

Essas e outras substâncias são secretadas juntamente com um fluido, o fluido testicular, que banha as células germinativas durante a sua diferenciação e carrega os espermatozoides para fora dos testículos.

As células de Sertoli, por estarem ligadas por junções de oclusão, formam a barreira hematotesticular, que protege a espermatogênese de macromoléculas, inclusive imunoglobulinas, provenientes do sangue.

A presença das junções de oclusão divide o epitélio germinativo em dois compartimentos: o compartimento basal, com as espermatogônias, e o compartimento adluminal (apical), com as demais células germinativas. À medida que as espermatogônias transformam-se em espermatócitos primários, um novo complexo juncional é feito subjacente aos espermatócitos primários no estágio pré-leptóteno, sob influência da testosterona, e as proteínas das junções na posição apical são degradadas.

Como as células presentes no compartimento adluminal surgem após a puberdade, são estranhas ao sistema imunológico. O rompimento da barreira hematotesticular, causado, por exemplo, por um trauma ou por uma biópsia, resulta em uma resposta autoimune com destruição das células germinativas, levando a problemas de fertilidade.

Por estarem no compartimento abaixo do complexo juncional, as espermatogônias são as células germinativas mais suscetíveis ao dano por drogas e por outras substâncias que entram nos túbulos seminíferos.

Apesar de mais resistentes, as células de Sertoli também podem ser afetadas e, como as células germinativas dependem delas, a espermatogênese também será prejudicada. Além disso, por serem responsáveis pela sustentação das células germinativas, pode ocorrer descamação dessas células e redução do epitélio germinativo.

As células de Sertoli fagocitam e digerem, através dos lisossomos, os restos citoplasmáticos que se

desprendem durante a espermiogênese (o corpo residual), liberando os espermatozoides (Figura 2.11).

As células de Sertoli não se dividem mais a partir da puberdade, quando se tornam maduras. A ativina, secretada pelas células de Sertoli, e a β -endorfina das células de Leydig inibem a sua proliferação. Em compensação, possuem vida longa, promovida pelo Bcl-w, uma proteína da família Bcl-2, que impede a morte celular. O Bcl-w suprime a atividade da proteína Bax, que desencadearia a apoptose.

Em torno da base dos túbulos, há as *células mioides peritubulares* (Figuras 2.8, 2.9 e 2.12). São miofibroblastos, ou seja, fibroblastos ricos em filamentos de actina e em moléculas de miosina. Por serem contráteis, comprimem os túbulos, contribuindo para o transporte do fluido testicular e dos espermatozoides.

Colaboram com as células de Sertoli na síntese da membrana basal e no estabelecimento da barreira hematotesticular, já que impedem a passagem de grandes partículas para os túbulos seminíferos.

Possuem receptores para andrógenos e, induzidos por esses hormônios, secretam fatores, como P-modS (*peritubular factor modifying Sertoli cell function*), que estimula a produção de transferrina (proteína transportadora de ferro) e de inibina pelas células de Sertoli. Assim, via células de Sertoli, as células mioides também regulam a espermatogênese.

O tecido intersticial contém as *células de Leydig*, que, sob a influência do LH, produzem testosterona (Figuras 2.7 e 2.8). Esse hormônio, além de se difundir para os túbulos seminíferos, onde induz a espermatogênese, entra na corrente sanguínea, através dos capilares fenestrados do tecido intersticial. Promove as características sexuais secundárias, como crescimento da barba, mudança de entonação da voz e alterações musculares. Ainda estimula a atividade secretora das glândulas sexuais: a próstata, as vesículas seminais e as glândulas bulbouretrais.

Como são células produtoras de hormônios esteroides, as células de Leydig possuem retículo endoplasmático liso e mitocôndrias em abundância, o que torna o citoplasma eosinófilo. A presença de gotículas lipídicas é responsável pela vacuolização

observada nos cortes histológicos (Figura 2.8). As células de Leydig exibem os cristais de Reinke. Há junções comunicantes entre as células.

A síntese de testosterona ocorre a partir do colesterol, captado do plasma sanguíneo ou produzido do acetil-CoA. O colesterol é convertido em pregnenolona na mitocôndria pelo citocromo P450 (Figura 2.7). As demais reações acontecem no retículo endoplasmático liso.

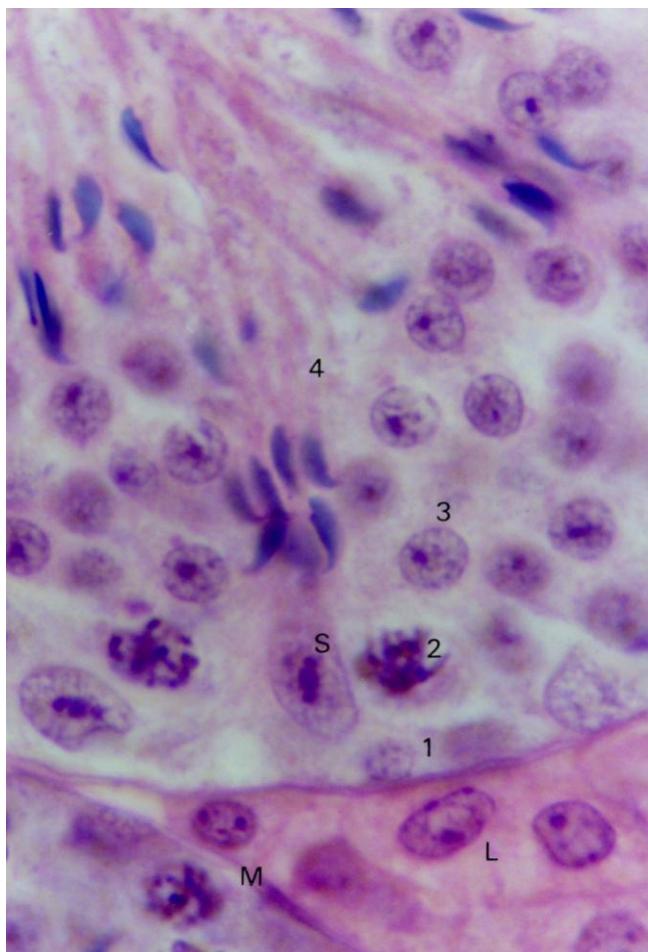


Figura 2.8 - Corte de túculo seminífero de camundongo, onde são indicados: espermatoctos (1), espermatoxenes (2), espermátides redondas (3), espermátides alongadas (4) e células de Sertoli (S). Em torno dos túculos seminíferos, há as células mioídes peritubulares (M) e, no tecido intersticial, as células de Leydig (L). HE.

Assim como as células de Sertoli e as células germinativas, as células de Leydig produzem também um pouco de estrógeno a partir da testosterona ou do seu precursor androstenediona através da enzima aromatase. Os estrógenos podem agir de forma parácrina, inibindo a proliferação dos precursores das células de Leydig, e controlam a esteroidogênese pelo *feedback* negativo sobre o eixo hipotálamo-hipófise e pela inibição de enzimas envolvidas na secreção de testosterona.

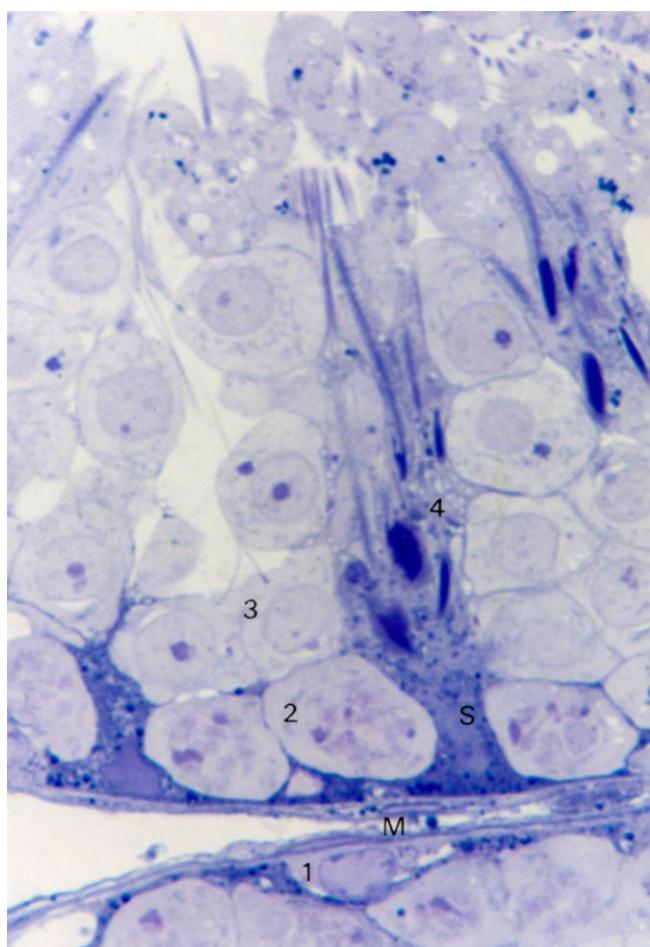


Figura 2.9 - Corte semifino de testículo, onde são visualizados em maior resolução: espermatoctos (1), espermatoxenes (2), espermátides redondas (3), espermátides alongadas (4), células de Sertoli (S) e células mioídes peritubulares (M). Azul de toluidina.

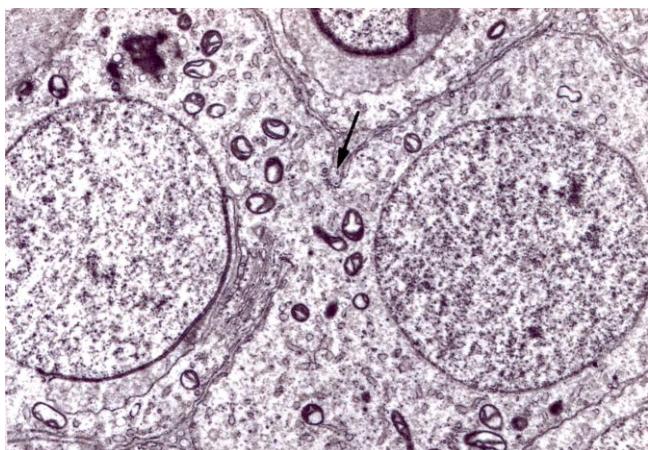
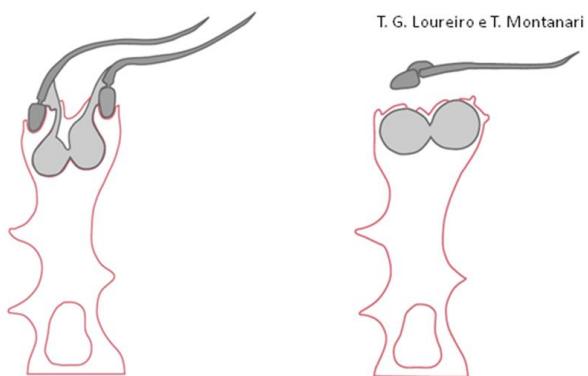


Figura 2.10 - Eletromicrografia do epitélio germinativo, onde é indicada a ponte citoplasmática interligando duas espermátides redondas.



Adaptado de Fawcett in Greep & Koblinsky, 1977.

Figura 2.11 - Ilustração da fagocitose do corpo residual pelas células de Sertoli.

As células de Leydig duram 142 dias (em roedores). Como não apresentam atividade mitótica, as células são repostas pela proliferação e pela diferenciação das células mesenquimais.

Com o envelhecimento, o homem sofre um declínio na síntese de testosterona (*andropausa*), o que pode afetar a produção de espermatozoides, a libido (desejo sexual) e a ereção.

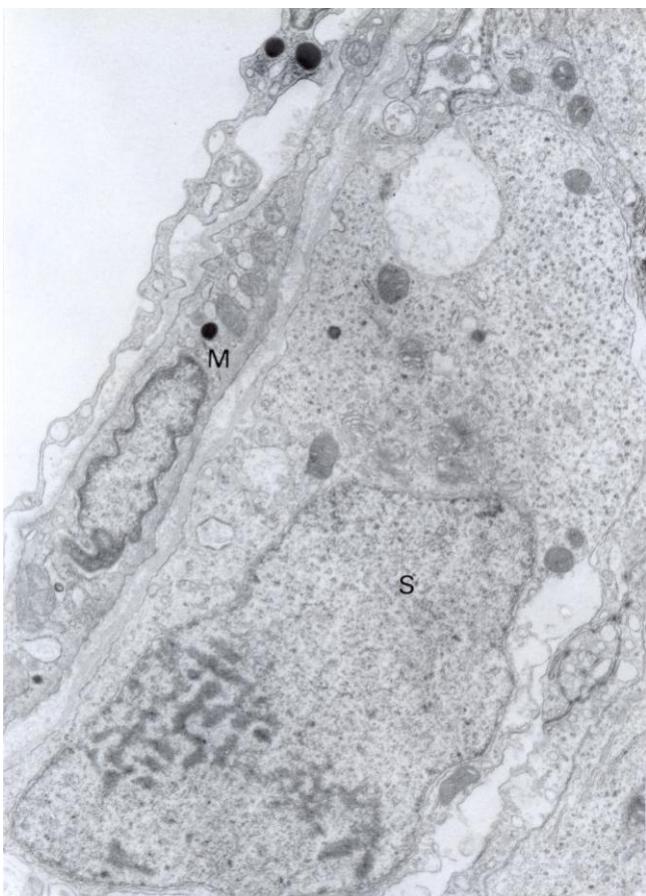


Figura 2.12 - Imagem ao microscópio eletrônico da célula mioide peritubular (M). S - célula de Sertoli.

3.2 – Espermiogênese

É a diferenciação morfológica da espermátilde em espermatozoide, tornando a célula adaptada para a fecundação (Figura 2.13).

Do Golgi origina-se uma vesícula contendo enzimas que permitirão a passagem do espermatozoide pelos envoltórios do oócio. A vesícula achata-se sobre o núcleo, tendo-se então o *acrossoma* (ou *capuz acrossômico*) (Figuras 2.14 e 2.15).

O material genético condensa-se, água é perdida do núcleo, e o núcleo diminui de volume e alonga-se. A *condensação da cromatina* decorre da substituição

das proteínas associadas ao DNA: histonas por protaminas, cujos resíduos de cisteína formam pontes dissulfeto que estabilizam e compactam a cromatina. O RNAm das protaminas foi sintetizado previamente, acumulado no citoplasma em um complexo com proteínas, denominado corpo cromatoide (Figura 2.15). Essa estratégia é também responsável pela síntese de proteínas após a transcrição ser interrompida pela condensação da cromatina.

Além de diminuir o tamanho do núcleo, a condensação do DNA torna-o menos suscetível a dano físico ou à mutação. O *alongamento do núcleo* também é resultado da pressão dos microtúbulos arranjados em uma estrutura cilíndrica, chamada manchete (Figura 2.16).

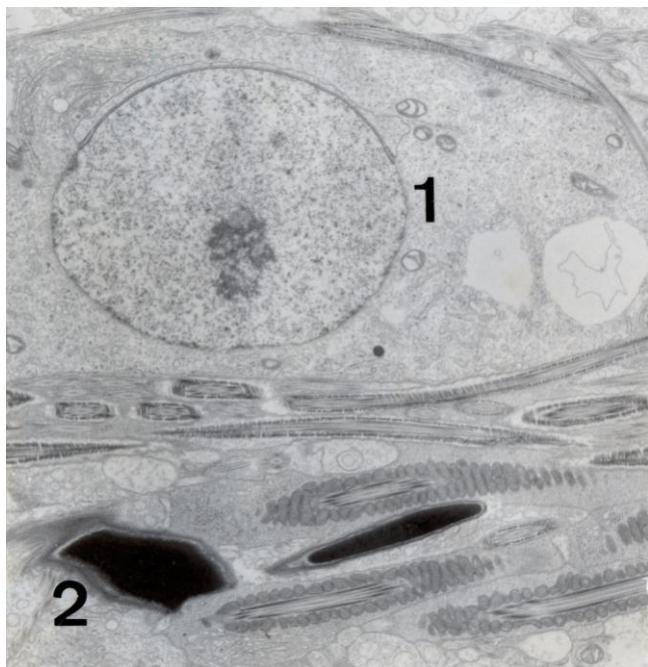


Figura 2.13 - Eletromicrografia de espermátides sofrendo a espermiogênese: 1 - espermátilde jovem; 2 - espermátilde tardia.

A partir dos centríolos, surge o *flagelo*. Inicialmente os centríolos migram para a periferia da célula, em uma região oposta ao acrossoma, e, no centríolo distal, há a polimerização de tubulinas (Figura 2.17), estruturando o axonema, um conjunto

de nove duplas periféricas e uma central de microtúbulos.



Figura 2.14 - Início da formação do acrossoma: vesícula com enzimas proveniente do Golgi aderida ao núcleo (►).

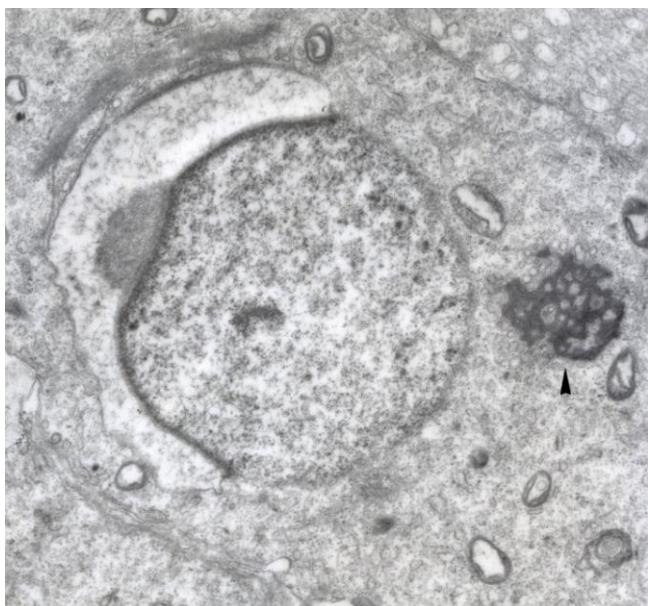


Figura 2.15 - Capuz acrossômico achatando-se sobre o núcleo da espermátilde redonda. É apontado o corpo cromatoide.

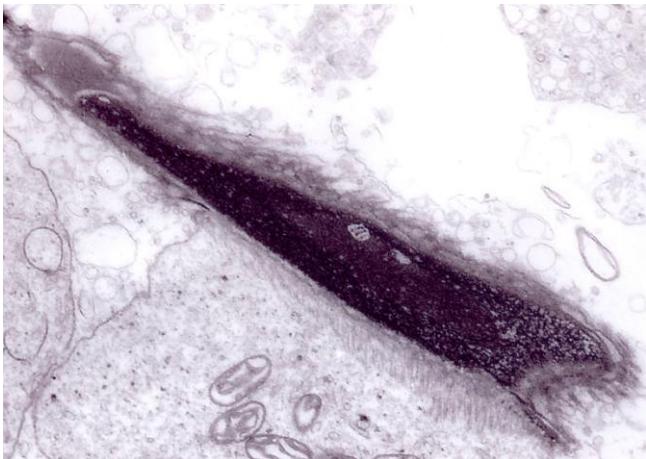


Figura 2.16 - Alongamento do núcleo da espermátide pela manchete, constituída de microtúbulos.



Figura 2.17 - Desenvolvimento do flagelo a partir do centríolo distal.

A extremidade proximal da cauda (*pescoço* ou *colo*) apresenta uma região convexa, a peça conectora, que se articula com uma depressão côncava na cabeça do espermatozoide. A peça conectora contém nove colunas segmentadas que originam as fibras densas externas, as quais envolvem o axonema. Quando presente, o centríolo proximal situa-se na peça conectora.

Na porção proximal do flagelo, chamada de *peça intermediária*, há nove fibras densas externas ao redor do axonema, uma para cada dupla de microtúbulos. Ainda acumulam-se as mitocôndrias (*bainha mitocondrial*) para fornecer energia para o deslizamento dos microtúbulos (Figura 2.18).

A síndrome de *Kartagener* (ou síndrome dos cílios imóveis) é uma mutação autossômica recessiva, onde a dineína não é sintetizada normalmente. Sem a quebra do ATP, não há o deslizamento dos microtúbulos do axonema, e os espermatozoides são imóveis.

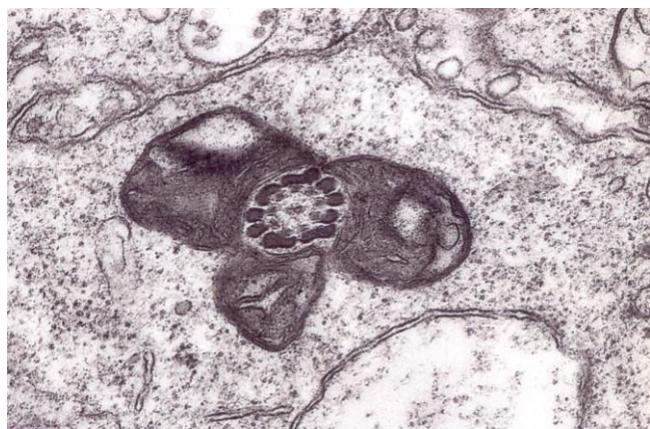


Figura 2.18 - Corte transversal da peça intermediária da futura cauda do espermatozoide.

Conectado à membrana plasmática, no final da peça intermediária, há um anel proteico, o *ânulo*, que evita o deslocamento das mitocôndrias durante o batimento flagelar.

Abaixo do ânulo, há a *peça principal*, que é a maior parte do flagelo. Possui axonema, sete fibras densas externas e a bainha fibrosa (Figura 2.19). Esta última consiste de duas colunas longitudinais (derivadas das duas fibras densas externas ausentes), ligadas a uma série de costelas hemisféricas. Assim como as fibras densas externas, a bainha fibrosa contém queratina, o que confere certa rigidez ao flagelo.

A última parte da cauda é a *peça terminal*. Ela não apresenta as fibras densas externas e a bainha fibrosa (Figura 2.19) e, na sua porção final, nem os microtúbulos organizados em axonema.

Finalizando a espermogênese, há a perda do excesso de citoplasma, o *corpo residual*, tornando a célula alongada. Uma pequena quantidade de citoplasma permanece na região do pescoço do espermatozoide. É a gota citoplasmática e será perdida no epidídimos (Figura 2.20).

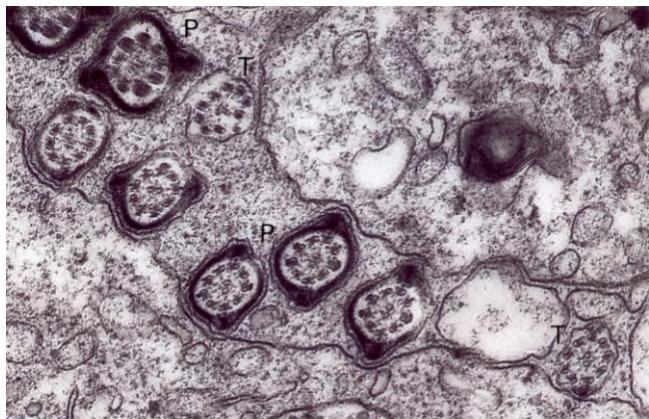


Figura 2.19 - Cortes transversais de flagelos no nível da peça principal (P) e da peça terminal (T).

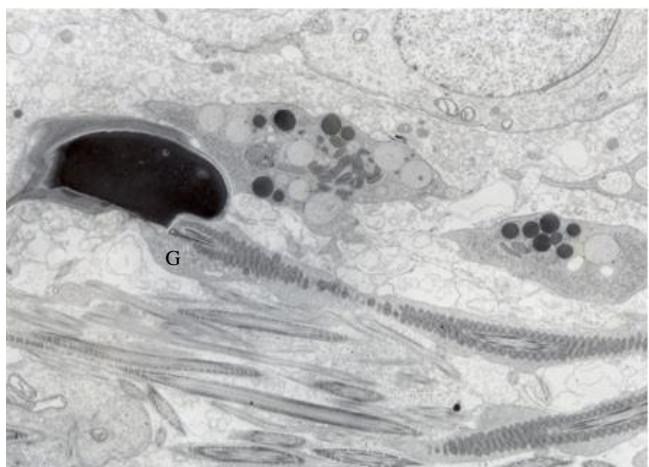


Figura 2.20 - Eletromicrografia de espermátide alongada de camundongo, mostrando a perda do corpo residual e a presença da gota citoplasmática (G) na região do pescoço.

O *espermatozoide* pode ser dividido em *cabeça* ($5\mu\text{m}$), onde há o núcleo e o acrossomo, e em *cauda* ($55\mu\text{m}$), que é subdividida em pescoço (ou colo), peça intermediária, peça principal e peça terminal (Figura 2.21).

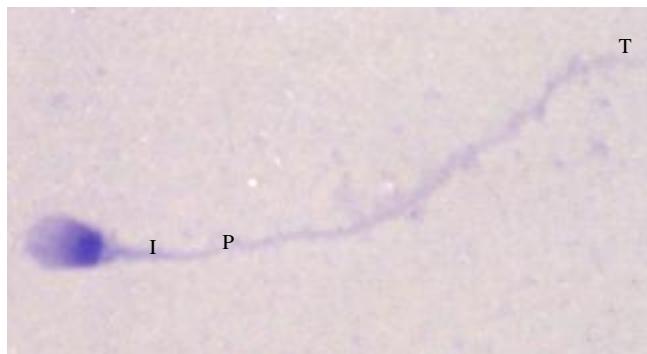


Figura 2.21 - Espermatozoide humano de esfregaço seminal observado ao microscópio de luz. Na cabeça, o acrossomo recobre parcialmente o núcleo. As peças intermediária (I), principal (P) e terminal (T) da cauda são indicadas. O pescoço (ou colo) situa-se na extremidade da cauda adjacente à cabeça. Giemsa.

3.3 – Espermatiação

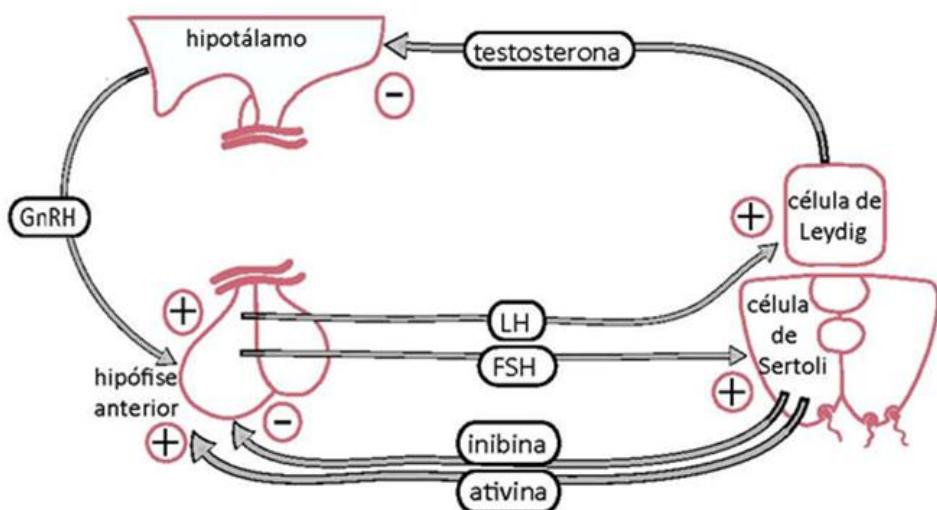
É a liberação dos espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos, que ocorre quando a espermogênese se completa e o excesso de citoplasma é perdido.

Espermatozoides morfológicamente *anormais* também são formados. Se ultrapassarem 60% do total haverá um comprometimento da fertilidade. Cabeças ou caudas duplas prejudicam a motilidade dos espermatozoides. Variações na forma e no tamanho da cabeça indicam alterações, como ausência do acrossoma, condensação insuficiente da cromatina e mutações no material genético. As anomalias morfológicas dos espermatozoides dificultam ou impedem o seu movimento e o processo de fertilização.

3.4 – Controle hormonal da espermatogênese

Entre vários fatores, a espermatogênese é promovida pela testosterona, secretada pelas células de Leydig, e regulada pela inibina, produzida pelas células de Sertoli. Essas células são estimuladas pelos hormônios hipofisários LH e FSH, respectivamente. A hipófise, por sua vez, sofre a influência do hipotálamo através do hormônio liberador de gonadotrofinas (*gonadotropin-releasing hormone* - GnRH) (Figura 2.22).

A testosterona e a inibina realizam *feedback* negativo sobre a hipófise e sobre o hipotálamo. A testosterona diminui a secreção de LH, regulando sua própria síntese. A inibina deprime a secreção do FSH, afetando as células de Sertoli, inclusive na produção de ABP. A ativina tem efeito oposto ao da inibina: estimula a liberação de FSH (Figura 2.22).



T. G. Loureiro e T. Montanari

Adaptado de Hedge et al., 1988.

Figura 2.22 - Esquema do controle hormonal da espermatogênese.

3.5 – Controle da espermatogênese por apoptose

A quantidade de espermatozoides também é regulada pela morte programada (apoptose) das células germinativas iniciais: as espermatogônias e os espermatócitos primários (Figuras 2.23 e 2.24).

O processo apoptótico reduz a população de células germinativas a um número adequado para ser sustentado pelas células de Sertoli.

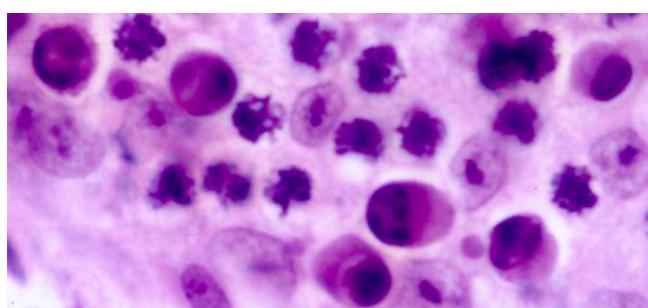


Figura 2.23 - Além do núcleo de células de Sertoli e das células germinativas em metáfase, são observadas células germinativas sofrendo apoptose. Notar a posição excêntrica do núcleo, a condensação do material genético junto à cromatina e o surgimento de vacúolos na célula. HE.

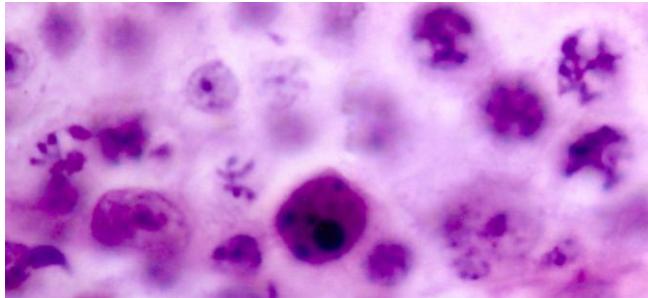


Figura 2.24 - Célula apoptótica com o material genético já fragmentado. HE.

3.6 – Ovários e folículos ovarianos

Os ovários possuem uma forma ovoide, com 3cm de comprimento e 1,5cm de largura no ser humano. Eles estão conectados ao aparelho reprodutor pelo ligamento largo do útero e pelo mesovário, uma prega do peritônio que transporta os vasos sanguíneos e linfáticos e os nervos, os quais entram, nas gônadas, pelo hilo. Não há uma ligação contínua entre os ovários e as tubas uterinas, sendo o óvulo captado pelas projeções da tuba.

O ovário é revestido por epitélio simples pavimentoso ou cúbico, contínuo ao mesovário (Figuras 2.25 e 2.26). Subjacente, há uma camada de tecido conjuntivo denso não modelado, a túnica albugínea. Entretanto ela não é uma cápsula anatomicamente distinta como aquela dos testículos.

O ovário é dividido nas zonas cortical e medular. A zona cortical tem um estroma de tecido conjuntivo frouxo, com abundância de fibroblastos. Nessa região, situam-se os *folículos ovarianos*, formados pelas células germinativas e pelas células foliculares. Há também o(s) corpo(s) lúteo(s), uma glândula endócrina cordonal, resultante da ruptura do folículo maduro na ovulação. A zona medular é contínua ao hilo e é de tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado (Figura 2.25).

Há uma interdependência entre a maturação do gameta feminino e o seu revestimento celular, porque, graças aos prolongamentos celulares e às junções comunicantes, há troca de nutrientes e fatores que

regulam a oogênese. Os folículos ovarianos podem ser classificados em: primordiais, em crescimento (unilaminares, multilaminares e antrais), maduros e atrésicos.

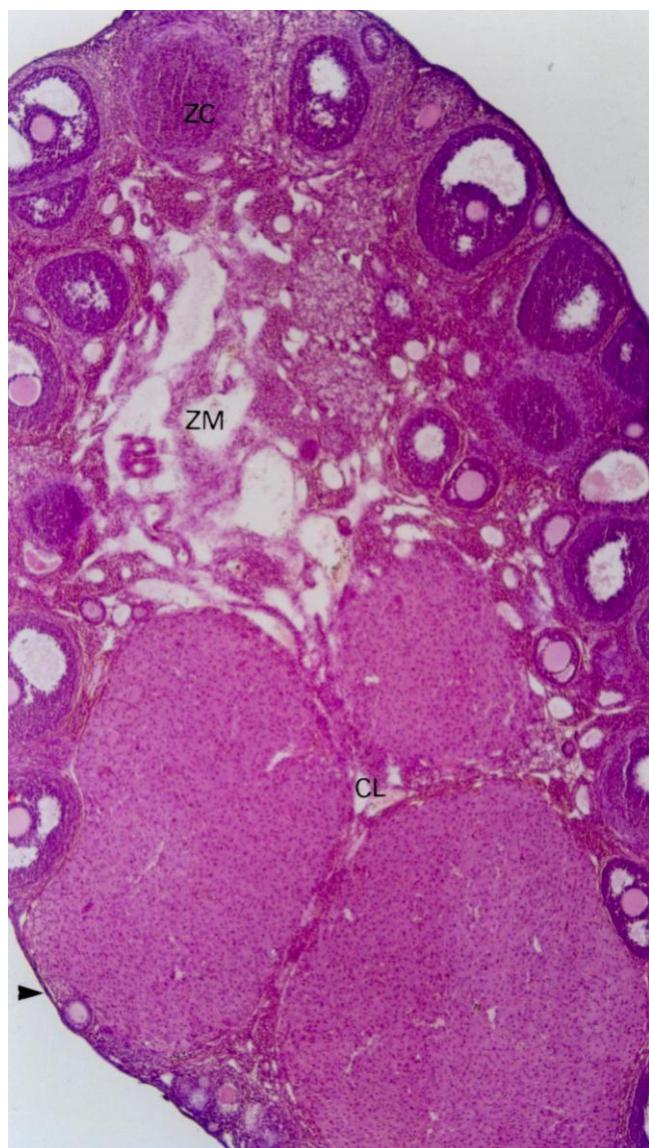


Figura 2.25 - Corte de ovário de camundongo prenhe, onde são apontados: o epitélio (►); a zona cortical (ZC) com os folículos em crescimento e os corpos lúteos (CL), e a zona medular (ZM) com os vasos sanguíneos e linfáticos. HE.

Os *folículos primordiais* são constituídos pelo oócito primário e por uma camada de células foliculares pavimentosas, unidas por desmossomas (Figuras 2.26 e 2.27).

Com o incremento de organelas relacionadas com a atividade sintética, as células foliculares adquirem uma forma cúbica. As interdigitações entre os prolongamentos das células foliculares e os microvilos do oócito e as junções comunicantes entre essas células possibilitam a passagem de substâncias para o oócito, contribuindo para o seu crescimento. Em contrapartida, o transporte de AMPc e de GMPc aumenta os níveis de AMPc no citoplasma do oócito, levando à inativação do MPF e, consequentemente, à interrupção da primeira meiose do oócito.

O oócito também desenvolve suas organelas e aumenta o seu volume. Favorecido pelo material genético duplicado produz a zona pelúcida, uma matriz extracelular com glicoproteínas, importantes na interação com o gameta masculino; sintetiza glicoproteínas e glicosaminoglicanos, que são armazenados nos grânulos corticais e exocitados na fertilização, e acumula transcritos para serem usados no início do desenvolvimento embrionário. Por apresentar somente uma camada de células foliculares, este *folículo em crescimento* é denominado *unilaminar* (Figuras 2.26 e 2.27).

A proliferação das células foliculares resulta em várias camadas celulares, e o *folículo em crescimento* é *multilaminar*. O conjunto de camadas de células foliculares é a camada granulosa. A membrana basal que a delimita impede a entrada dos vasos sanguíneos, e o oxigênio e os nutrientes entram por difusão. Fibroblastos aproximam-se e circundam a camada granulosa, constituindo a teca folicular (Figuras 2.26 e 2.27). Estabelecem-se junções comunicantes entre as células foliculares e as da teca. A teca é subdividida em interna, que é vascularizada e secretora, e externa, que é mais fibrosa. A vascularização é causada por um fator angiogênico liberado pelas células da teca. Os vasos sanguíneos dão o suporte nutritivo necessário para o crescimento do folículo.

O desenvolvimento do folículo até esse estágio é devido a fatores de crescimento e de diferenciação provenientes do oócito e das células foliculares. A

continuidade da maturação folicular depende da aquisição de receptores de superfície para FSH pelas células foliculares e da influência desse hormônio, ocorrendo após a puberdade. A proliferação das células foliculares, por exemplo, é estimulada pela ativina produzida localmente. Entretanto a ação da ativina é aumentada sob a influência do FSH.

O LH também atua sobre o folículo. Esse hormônio estimula as células da teca interna a secretarem andrógenos (androstenediona e pequenas quantidades de testosterona) a partir do colesterol. Os andrógenos difundem-se para a camada granulosa, onde são convertidos em estrógenos (estrôna e 17 β -estradiol) pela aromatase. A síntese dessa enzima é promovida pela ação do FSH sobre as células foliculares (Figura 2.28).

Os estrógenos induzem a formação de receptores para LH nas células foliculares, permitindo que respondam a esse hormônio. Realizam também feedback positivo sobre a liberação do LH. Esse hormônio hipofisário é responsável pela secreção de progesterona pelas células foliculares, pela retomada da meiose e pela ovulação (Figuras 2.28 e 2.29). Os estrógenos ainda incitam as células-alvo a produzirem receptores para progesterona, a fim de que elas se tornem sensíveis a esse hormônio.

O estrógeno e a progesterona secretados pelos folículos ovarianos entram na corrente sanguínea e atuam sobre o organismo, promovendo as características sexuais secundárias e preparando outros órgãos do aparelho reprodutor para a fertilização e para a implantação do embrião.

As células foliculares produzem ainda glicosaminoglicanos, que atraem íons de Na⁺ e, junto com eles, água do plasma sanguíneo. O fluido que se acumula entre as células foliculares coalesce em uma cavidade, o antró folicular. Com a presença do antró, tem-se o *folículo em crescimento antral* (Figuras 2.26 e 2.30). O líquido folicular contém um complemento de proteínas similar ao do soro, proteoglicanas, enzimas e hormônios (FSH, LH, estrógeno e progesterona).

Aproximadamente 24h após o nível de estrógeno atingir o seu máximo no sangue, a hipófise libera

pulsos intensos de LH. Em resposta ao LH, as células foliculares fecham as junções comunicantes, reduzindo a transferência de AMPc e de GMPc para o oócito. A redução de GMPc ativa a PDE3A, que degrada o AMPc em 5'AMP. O declínio na concentração de AMPc desencadeia a ativação do MPF.

O oócito primário conclui a primeira meiose, originando o oócito secundário. O acúmulo do fluido e o consequente aumento do antro dividem a camada granulosa. Essa denominação se mantém para as camadas de células foliculares adjacentes à teca, enquanto as células que se projetam no antro como um pedúnculo são o *cumulus oophorus*, e aquelas que circundam o oócito, a *corona radiata*. Esse é o *folículo maduro* ou *de De Graaf* (Figura 2.30). O folículo maduro pode ser observado ao ultrassom como uma grande vesícula, de quase 2cm, saliente na superfície do ovário.

A cada ciclo menstrual, até 50 folículos são recrutados para prosseguirem no desenvolvimento, mas somente um (ou alguns naqueles animais com vários filhotes) atinge o estágio de folículo maduro. Os demais degeneram: sofrem *atresia folicular*. Esse processo decorre da secreção de uma grande quantidade de inibina pela camada granulosa do folículo em crescimento dominante, o que diminui o nível tônico de FSH necessário para a continuidade do crescimento dos folículos antrais. Suas células entram em apoptose, enquanto o folículo dominante, que já está independente do hormônio hipofisário, sofrerá a ovulação. O folículo dominante adquire esse estado sete dias antes da ovulação.

A atresia folicular é regulada por produtos gênicos, como a proteína imbitória da apoptose neural (*neural apoptosis inhibitory protein – NAIP*). Ela está presente em todos os estágios de folículos em crescimento, mas ausente nos folículos atrésicos. A sua expressão é promovida pelos altos níveis de gonadotrofinas. Por isso, quando há a queda do FSH, as células foliculares, sem a síntese da NAIP, entram em apoptose.

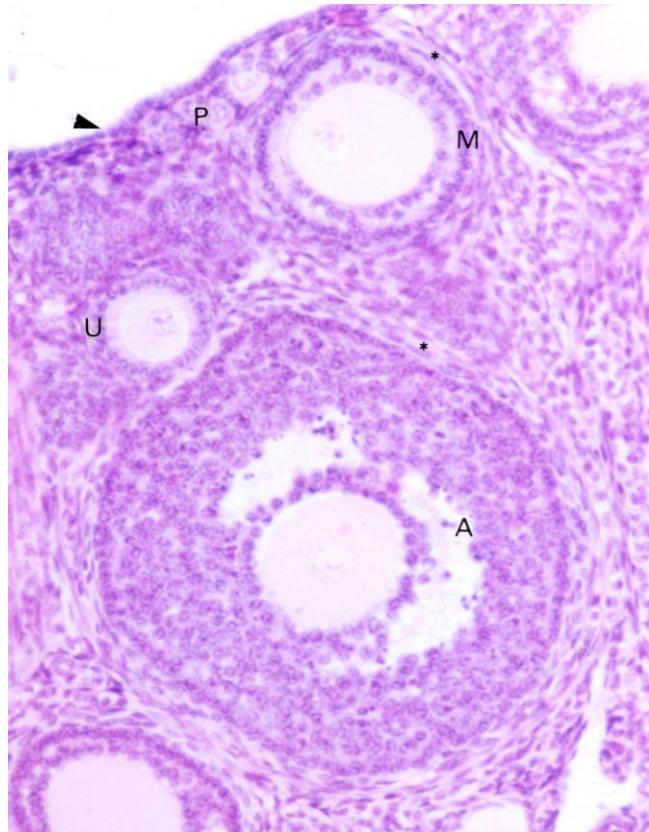
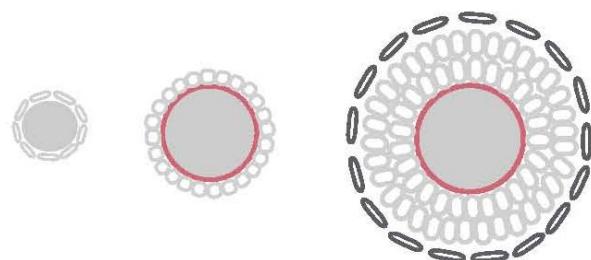
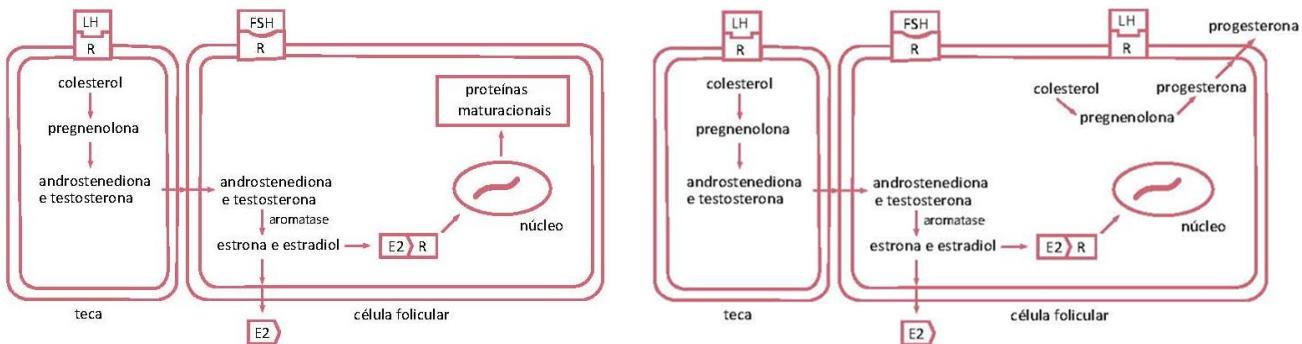


Figura 2.26 - Córtez ovariano, onde são indicados o epitélio simples cúbico que o reveste (►) e os folículos primordiais (P) e em crescimento unilaminar (U), multilaminar (M) e antral (A). A teca folicular também é assinalada (*). HE.



T. Montanari

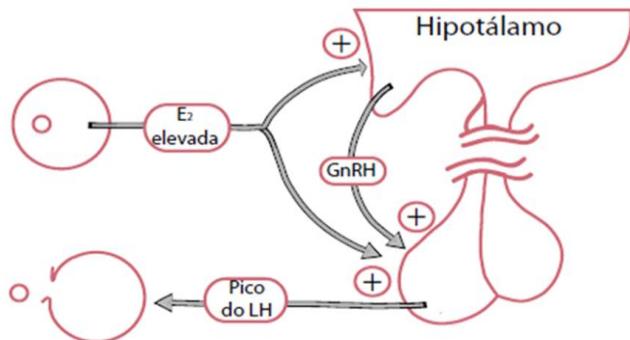
Figura 2.27 - Ilustração dos folículos primordial, unilaminar e multilaminar.



E. Leite e T. Montanari

Adaptado de Hedge et al., 1988 e de Bulun, S. E.; Adashi, E. Y. The physiology and pathology of the female reproductive axis. In: Kronenberg, H. M.; Melmed, S.; Polonsky, K. S.; Larsen, P. R. **Williams textbook of Endocrinology**. 11.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. p.559.

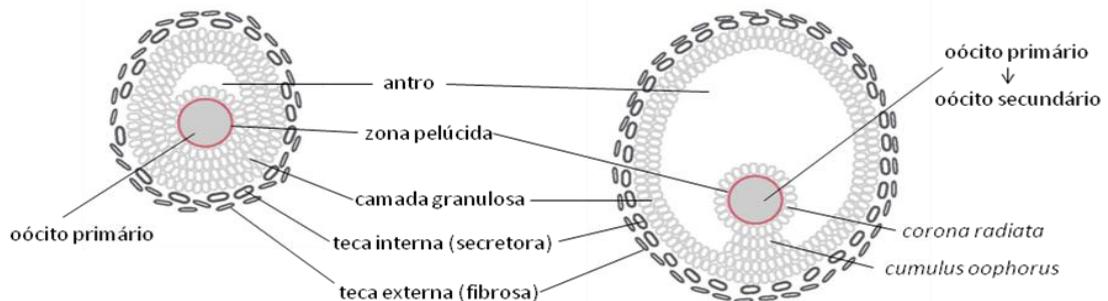
Figura 2.28 - Ilustração sobre a regulação hormonal das células da teca e das células foliculares.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Adaptado de Hedge et al., 1988.

Figura 2.29 - Esquema da influência do estrógeno sobre a secreção do LH.



T. Montanari

Adaptado de Erickson, G. F.; Magoffin, D. A.; Dyer, C. A. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relations. Endocr. Rev., v. 6, p. 371-9, 1985 apud Bulun, S. E.; Adashi, E. Y. The physiology and pathology of the female reproductive axis. In: Kronenberg, H. M.; Melmed, S.; Polonsky, K. S.; Larsen, P. R. **Williams textbook of Endocrinology**. 11.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. p. 552.

Figura 2.30 - Ilustração dos folículos antral e maduro.

No ovário, há cerca de um milhão de folículos ao nascimento e de 400.000 na menarca. Ciclos sucessivos de ovulação e atresia esgotam os folículos, e o estroma predomina nos ovários. Há a irregularidade e finalmente a interrupção dos sangramentos menstruais, a *menopausa*, em torno dos 50 anos. A diminuição na secreção de estrógeno provoca atrofia do epitélio vaginal e da pele, osteoporose e instabilidade vasomotora (notada como ondas de calor, os fogachos) e aumenta o risco de doenças cardiovasculares.

A importância do desenvolvimento de tantos folículos a cada ciclo menstrual é a secreção dos estrógenos para preparar o corpo para a ovulação e o transporte dos gametas.

Os *folículos atrésicos* unilaminares e multilaminares são reabsorvidos sem deixar cicatriz, enquanto dos antrais resta um tecido fibroso hialino. O óocito e as células foliculares, que estão dentro da lâmina basal, morrem e são substituídos pelo tecido fibroso. As células da teca, que estão fora da lâmina basal, retornam ao *pool* de células do estroma ou se diferenciam nas células intersticiais. Essas células, como aquelas masculinas, são responsivas ao LH e secretam andrógenos. Elas não são frequentes no ovário humano.

Minutos após o pico de LH, há um aumento do fluxo sanguíneo para o ovário e, em especial, para a teca do folículo maduro, levando ao extravasamento de proteínas plasmáticas e, consequentemente, em edema. O edema e a liberação de compostos farmacologicamente ativos, como prostaglandinas, histamina, vasopressina e o indutor de plasminogênio, resultam na produção local de metaloproteinases da matriz.

A degradação dos componentes da matriz extracelular, inclusive o colágeno, e a morte de algumas das células sobrejacentes, por causa da isquemia do tecido pela pressão do folículo, enfraquecem a superfície do ovário, acarretando a sua ruptura e a expulsão do óocito, cercado pela zona pelúcida e pela *corona radiata*. A *ovulação* ocorre de 28 a 36h após o pico de LH.

Quando da ovulação, algumas mulheres sentem dor, que é denominada *mittelschmerz*, dor do meio. Essa dor pode ser acompanhada de leve sangramento ocasionado pela ruptura do folículo.

Com a ovulação, a membrana basal da camada granulosa rompe-se, e os vasos da teca invadem essa camada. As células foliculares, que já adquiriram receptores para LH, sofrem a ação desse hormônio e modificam-se em um processo denominado luteinização. Forma-se o *corpo lúteo*, uma glândula endócrina cordonal que, sob a influência do LH, secreta progesterona e um pouco de estrógeno (Figuras 2.25 e 2.31).

As células luteínicas da granulosa têm diferenciação terminal. O corpo lúteo dura de 10 a 14 dias, degenerando em virtude do *feedback* negativo da progesterona sobre o LH (Figura 2.31). A inibina liberada pelas células da granulosa também suprime a secreção das gonadotrofinas. A ação de um fator luteolítico uterino, como prostaglandina F2, facilita a regressão do corpo lúteo.

Depois da apoptose, as células luteínicas da granulosa são fagocitadas pelos macrófagos, e uma cicatriz de tecido conjuntivo denso é formada. Pela cor branca, é denominado *corpus albicans*. Ele persiste por vários meses e é substituído pelo estroma. As células luteínicas tecais podem originar células intersticiais.

Se ocorrer a fertilização, o corpo lúteo será mantido pela hCG, sintetizada pelo córion do embrião, que será parte da placenta. Pela semelhança ao LH, liga-se aos receptores desse hormônio nas células luteínicas da teca, as quais respondem, dividindo-se e produzindo grandes quantidades de progesterona.

As células luteínicas da granulosa não respondem à hCG, são incapazes de se dividir e interrompem a secreção. Assim, o corpo lúteo gravídico é composto principalmente de células luteínicas da teca.

O corpo lúteo aumenta bastante o seu tamanho, atingindo 5cm de diâmetro. Permanece ativo até o quarto mês de gestação, mas, após o segundo mês, a

placenta produz estrógenos e progesterona em quantidades suficientes para sustentar a gravidez. Se, nesse momento, os ovários forem removidos, a gestação continuará.

3.7 – Controle hormonal da oogênese: ciclo estral e ciclo menstrual

A oogênese é controlada pelas gonadotrofinas produzidas pela hipófise: o hormônio folículo-estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH), assim denominados pela sua atividade funcional. A liberação desses hormônios deve-se ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) do hipotálamo. A ação dos hormônios hipofisários sobre os ovários estimula a secreção de estrógeno e progesterona (Figura 2.31), que, por sua vez, atuam sobre o restante do aparelho reprodutor, preparando-o para o transporte dos gametas e para a gestação.

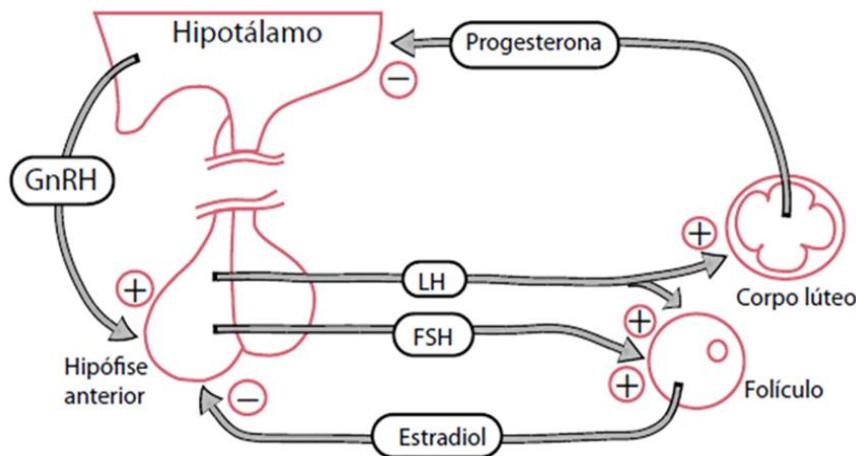
As variações cíclicas dos hormônios sexuais levam a mudanças no aparelho reprodutor feminino, que configuraram, nos mamíferos, o ciclo estral ou, no caso dos primatas, o ciclo menstrual, por causa da descamação do revestimento do útero.

Os animais podem ser monoestrícos, quando o ciclo estral é seguido por um longo período de anestro (cadela), ou poliéstricos, quando os ciclos estrais se sucedem sem intervalo (roedores, vaca e porca) ou com um breve anestro (égua e ovelha, por exemplo).

Utilizando o camundongo e o rato como exemplos, serão descritas as fases do *ciclo estral* quanto aos hormônios predominantes e o efeito desses sobre o aparelho reprodutor.

A vagina é um dos órgãos-alvo dos hormônios sexuais e assim a observação das suas células em um *esfregaço vaginal* é um método rápido para identificar qual é a fase do ciclo em que a fêmea se encontra e se está apta ao acasalamento.

A coleta de células epiteliais da vagina é feita com um pequeno *swab* (semelhante a um cotonete) umedecido em solução salina. O *swab* deve ser passado na vagina, sem profundidade. Caso contrário, a fêmea entenderá que foi copulada e entrará em pseudogravidez. O material coletado é espalhado em uma lâmina de vidro e fixado em álcool-éter (1:1) por 10min.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Adaptado de Hedge et al., 1988.

Figura 2.31 - Esquema do controle hormonal da oogênese.

Uma técnica adequada para a coloração dessas células foi criada por Shorr, em 1941. É uma simplificação do método de Papanicolaou, utilizado para a citologia vaginal humana. Ela envolve os corantes *fast green*, *briebrick scarlat* e *orange G*, que coram de forma diferenciada o citoplasma das células. A hematoxilina pode ser usada para corar o núcleo das células. A lâmina, após a fixação, é colocada em água destilada por 10seg e depois na hematoxilina por 3 a 5min. Novamente é posta em água destilada e então na solução de Shorr por 5min. O material é desidratado em álcool 95%, álcool absoluto e dois banhos de xanol. Lamínula pode ser colada sobre o material com uma resina de montagem.

O ciclo estral em ratos e camundongos dura em torno de quatro dias e meio e é dividido em: proestro, estro, metaestro e diestro.

No *proestro*, com a liberação do FSH pela hipófise, há o crescimento dos folículos ovarianos. Eles secretam principalmente estrógeno, que promove a proliferação do epitélio do útero e da vagina e o edemaciamento do tecido conjuntivo subjacente. Figuras mitóticas são comuns no epitélio desses órgãos. No esfregaço vaginal, são encontradas células nucleadas e anucleadas. As primeiras apresentam um citoplasma azulado ou esverdeado, enquanto as últimas, pela queratinização, coram-se de rosa (Figura 2.32). Essa fase tem uma duração aproximada de 15h.

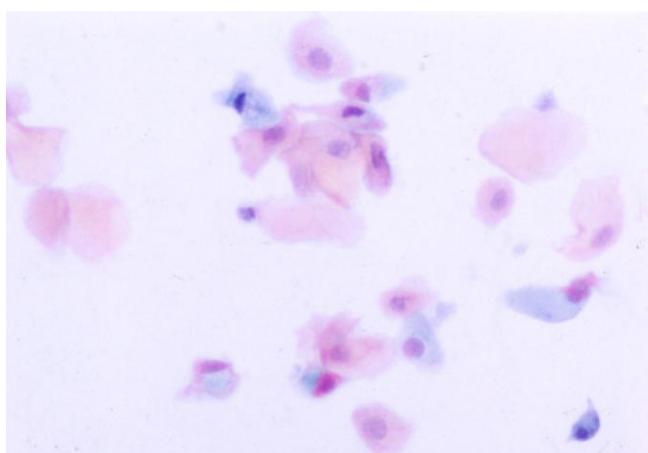


Figura 2.32 - Esfregaço vaginal de camundonga em proestro. Shorr/H.

No *estro*, o alto nível de estrógeno provoca a queratinização do epitélio vaginal, preparando-o para o coito. Por isso, são observadas, no esfregaço vaginal, somente células anucleadas (Figura 2.33). Nessa fase, ocorre a ovulação, e a fêmea aceita o macho. O estro demora cerca de 30h.

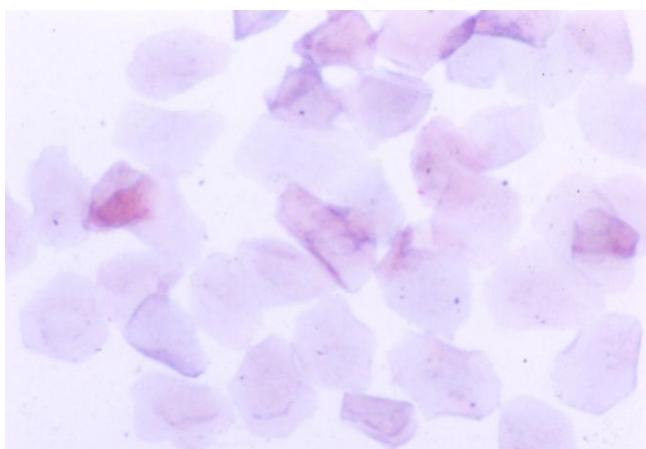


Figura 2.33 - Esfregaço vaginal de camundonga em estro. Shorr/H.

O corpo lúteo é mantido pelo LH e secreta principalmente progesterona. Esse hormônio é responsável pela infiltração leucocitária do útero e da vagina. Assim, no esfregaço vaginal em *metaestro* (ou *diestro I*), são identificados células nucleadas e anucleadas e leucócitos. Essa fase tem aproximadamente 14h.

Os níveis elevados de progesterona também estimulam a secreção das glândulas uterinas e das células do epitélio vaginal. Um muco, além das células nucleadas e anucleadas e dos leucócitos, está presente no esfregaço em *diestro* (ou *diestro II*) (Figura 2.34). Essa é a fase mais longa: 49h.

O *ciclo menstrual* inicia com a menstruação (*fase menstrual*). Foi estabelecido o primeiro dia do ciclo como aquele em que o sangramento surge. Esse sangramento consiste na descamação de parte do endométrio, a mucosa do útero. A camada basal permanece, enquanto a camada funcional é despreendida. Há também a perda de 20 a 80ml de sangue, devido ao rompimento dos vasos aí presentes.

Como as arteríolas estão contraídas, a perda de sangue arterial é mínima. Essa fase dura quatro a seis dias (Figura 2.35).

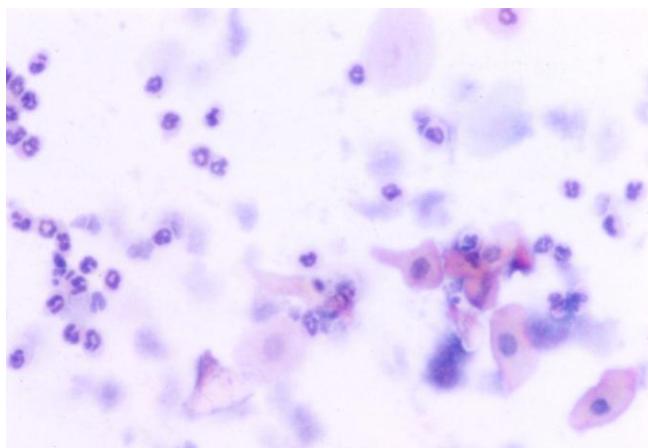


Figura 2.34 - Esfregaço vaginal de camundonga na transição de metaestro para diestro (um pouco de muco é notado ao fundo). Shorr/H.

O tecido endometrial pode sofrer um fluxo retrógrado através da tuba uterina e, se não destruído pelo sistema imunológico, implantar-se sobre órgãos da cavidade abdominal, causando a *endometriose*. Influenciado pelos hormônios sexuais, o tecido prolifera, secreta e sangra da mesma forma que o endométrio. A endometriose é uma condição bastante dolorosa devido ao sangue extravasado na cavidade peritoneal ou às adesões provocadas.

Pela ação do FSH hipofisário, há o crescimento dos folículos, os quais secretam estrógeno. Esse hormônio estimula a proliferação das células da base das glândulas uterinas e do estroma da camada basal, refazendo o endométrio. Essa fase pode ser denominada *folicular, estrogênica ou proliferativa*. O aumento brusco do estrógeno provoca a secreção de um pico de LH, que desencadeia a ovulação (Figuras 2.29 e 2.35). Um dia após esse evento termina essa fase.

O corpo lúteo formado do folículo roto é estimulado pelo LH e produz principalmente progesterona. Esse hormônio mantém o endométrio,

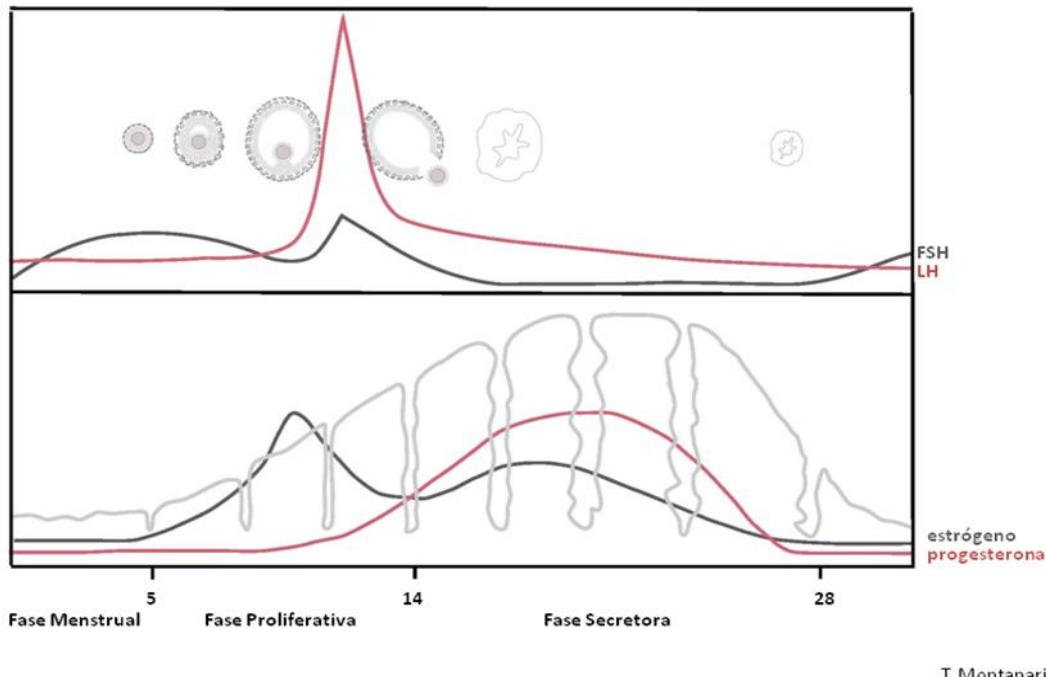
pois inibe a contratilidade do miométrio, a camada muscular do útero, e faz com que as glândulas endometriais secretem substâncias, como glicogênio e glicoproteínas, que se acumulam no endométrio e serão consumidas pelo embrião nos seus primeiros dias de desenvolvimento. Esse período é a *fase lútea, progestacional ou secretora* (Figuras 2.31 e 2.35).

Se não ocorrer a fertilização, o corpo lúteo sobrevive por 10 a 14 dias e então degenera, porque os níveis de LH diminuem e não há hCG do embrião. Sem a ação da progesterona, o endométrio libera prostaglandinas que provocam a constrição das arteríolas espiraladas. Há a isquemia da maior parte do endométrio. A camada basal, irrigada pelas arteríolas retas basais, não é afetada. Com a queda da progesterona, o miométrio contrai-se e expulsa o endométrio necrosado, tendo-se novamente a fase menstrual (Figura 2.35).

A hipófise, por ser constituída de uma parte nervosa, além da parte glandular, sofre a influência de fatores emocionais, o que pode fazer com que a data da ovulação altere-se de um ciclo para outro, modificando também a duração do ciclo menstrual. Geralmente, ele é de 28 dias, mas pode variar de 23 a 35 dias. Essa variação está relacionada com a extensão da fase proliferativa, já que o intervalo entre a ovulação e a próxima menstruação, por causa da sobrevida do corpo lúteo, é de aproximadamente 14 dias. Assim, a ovulação ocorre em torno do 14º dia em um ciclo menstrual de 28 dias, mas do nono dia em um ciclo de 23 dias e do 21º dia em um ciclo de 35 dias.

Métodos de contracepção naturais

- *Método de Billings*: avalia as características do muco produzido pela cérvix uterina. Próximo à ovulação, devido aos níveis aumentados de estrógeno, o muco cervical torna-se fluido e distensível, tipo clara de ovo (muco E), o que permite a passagem dos espermatozoides para o útero. Após a ovulação, com o aumento da secreção de progesterona, o muco fica viscoso e espesso (muco G), impedindo a entrada dos espermatozoides e também de micro-organismos.



T. Montanari

Adaptado de Larsen, 1993. p.12.

Figura 2.35 - Esquem do ciclo menstrual, exibindo as alterações que ocorrem no ovário sob a influência do FSH e do LH e no endométrio do útero sob a influência do estrógeno e da progesterona.

A mulher que não deseja engravidar não deve manter relações sexuais enquanto durar o muco fluido (período fértil) e por mais três dias como margem de segurança, já que o último dia de muco do tipo fértil ocorre cerca de 14h antes da ovulação, e o óvulo sobrevive 24h. A subida dos níveis de estrógeno, que resulta em muco tipo fértil, começa seis dias antes da ovulação, e o muco tipo fértil é produzido por oito dias. Em um ciclo menstrual de 28 dias, ocorre do 9º ao 16º dia;

- *Método de Ogino-Knaus* (ou *tabelinha*): Ogino, do Japão, estabeleceu que a ovulação acontece de 12 a 16 dias antes da menstruação, e Knaus, da Áustria, que ela ocorre de 14 a 16 dias. Esses dados e aqueles da viabilidade do óvulo e do espermatozoide serviram de base para a tabelinha. O método consiste em contar para trás (subtrair) 19 dias a partir do primeiro dia (estimado) do próximo ciclo menstrual, o que corresponde aos três dias de viabilidade do espermatozoide e a data provável da ovulação, considerando a duração máxima do corpo lúteo de 16 dias. Nesse dia, inicia o período fértil. A sua duração pode ser estimada em oito dias, porque

terminaria 11 dias antes do primeiro dia estimado do próximo ciclo menstrual, já que 12 dias antes pode dar-se a ovulação, mas o óvulo sobrevive um dia;

- *Método da temperatura basal* (ou *do ritmo*): no dia da ovulação, a temperatura aumenta 0,3 a 0,5°C por causa do alto nível de progesterona.

Métodos de contracepção hormonais

- *Pílula anticoncepcional*: os níveis de estrógeno e progesterona da pílula promovem um *feedback* negativo sobre o FSH e o LH, não estimulando o crescimento dos folículos e a ovulação. Além disso, alteram a consistência do muco cervical e a motilidade dos cílios da tuba uterina;

- *Injetáveis*: um progestágeno é administrado por via intramuscular, mensal ou trimestralmente. Ele provoca o espessamento do muco cervical e a supressão da ovulação;

- *Implantes*: cápsulas de silicone com progestágeno, como o levonorgestrel, são implantadas subcutaneamente no braço da mulher. O hormônio é liberado por três ou cinco anos. Há também o espessamento do muco e a supressão da ovulação.

4 – QUESTIONÁRIO

- 1) Compare a espermatogênese e a oogênese, segundo os órgãos onde ocorrem, o nome das células envolvidas e a sua sequência de origem, com o número de conjuntos cromossômicos (n) e a quantidade de DNA (C) que possuem, o tipo de divisão celular que sofrem e as fases da vida em que surgem.
- 2) Explique o mecanismo responsável pela interrupção do óocito primário na prófase I por um período tão longo e como é retomada a meiose.
- 3) Qual é a vantagem do crescimento do óocito primário ocorrer na fase suspensa da prófase?
- 4) O óocito secundário é liberado do ovário em qual fase da divisão meiótica? Qual é o estímulo para a conclusão da meiose?
- 5) Quais são as modificações que a espermátide sofre para se transformar em espermatozoide? Qual é o nome desse processo?
- 6) Quais são os hormônios que atuam sobre as células de Sertoli e as células de Leydig e quais são as suas funções?
- 7) Qual é a localização das células mioides peritubulares e o que fazem?
- 8) Classifique os folículos ovarianos, especificando os seus constituintes.
- 9) Quais são os hormônios que atuam sobre as células da teca e as células foliculares? E quais são os hormônios (ou substâncias) que essas células produzem?
- 10) Se vários folículos são recrutados para crescimento em cada ciclo menstrual, por que há geralmente a liberação só de um óocito?

11) O que é o corpo lúteo? É mantido por qual hormônio? O que secretam?

12) Descreva o ciclo menstrual, mencionando as suas fases, os hormônios envolvidos, o que ocorre no ovário e no endométrio.

13) Como você explicaria a uma colega a tabelinha e o método de Billings.

14) Aponte os dias prováveis da ovulação e o período fértil de um ciclo menstrual com 28 dias, de um ciclo curto e de outro longo.

15) Como a pílula promove a supressão da ovulação?

16) Se a pílula suprime a ovulação, por que a mulher que usa esse método contraceptivo continua menstruando?

5 – REFERÊNCIAS

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the cell*. 4.ed. New York: Garland Science, 2002. p.983-1062; 1127-1150.

ALLEN, E. The oestrous cycle in the mouse. *American Journal of Anatomy*, v.30, n.3, p.297-371, 1922.

BANKS, W. J. *Histologia veterinária aplicada*. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992. p.565-579.

BERTALANFFY, F. D.; LAU, C. Mitotic rates, renewal times, and cytodynamics of the female genital tract epithelia in the rat. *Acta Anatomical*, v.54, p.39-81, 1963.

BILLINGS, E.; WESTMORE, A. *O método de Billings*. São Paulo: Paulinas, 1983. 253p.

BLANDAU, R. J. O aparelho reprodutor feminino. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.740-777.

BROWDER, L. W.; ERICKSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. Philadelphia: Saunders College, 1991. p.22-53; 103-115.

BULUN, S. E.; ADASHI, E. Y. The physiology and pathology of the female reproductive axis. In: KRONENBERG, H. M.; MELMED, S.; POLONSKY, K. S.; LARSEN, P. R. *Williams textbook of Endocrinology*. 11.ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008. p.552; 559.

- CARLSON, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p.2-28.
- CARR, B. R. Disorders of the ovaries and female reproductive tract. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.751-777.
- COLLIER, J. R. Gastropods, the snails. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.189-217.
- DE ROOIJ, D. G.; LOK, D. Regulation of the density of spermatogonia in the seminiferous epithelium of the Chinese hamster: II. Differentiating spermatogonia. *The Anatomical Record*, v.217, n.2, p.131-136, 1987.
- DELLA COLLETA, H. H. M.; CARVALHO, H. F. Células de Leydig. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.325-334.
- DYM, M. O sistema reprodutor masculino. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.824-874.
- ELLIS, C. H., Jr.; FAUSTO-STERLING, A. Platyhelminths, the flatworms. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.115-130.
- FRANÇA, L. R. de; CHIARINI-GARCIA, H. Célula de Sertoli. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.302-324.
- GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. *Embriologia*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.42-71.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia em cores*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p.469-486; 495-507.
- GENESER, F. *Histologia: com bases biomoleculares*. 3.ed. Rio de Janeiro: Médica Panamericana/Guanabara Koogan, 2003. p.486-516.
- GRIFFIN, J. E.; WILSON, J. D. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.819-875.
- HAYASHI, M.; McGEE, E. A.; MIN, G.; KLEIN, C.; ROSE, U. M.; VAN DUIN, M.; HSUEH, A. J. W. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation of cultured early ovarian follicles. *Endocrinology*, v.140, n.3, p.1236-1244, 1999.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008. p.414-424; 431-445.
- KERR, J. B. A light microscopic and morphometric analysis of the Sertoli cell during the spermatogenic cycle of the rat. *Anatomy and Embryology*, v.177, n.4, p.341-348, 1988.
- KERR, J. B. An ultrastructural and morphometric analysis of the Sertoli cell during the spermatogenic cycle of the rat. *Anatomy and Embryology*, v.179, n.2, p.191-203, 1988.
- KIERSZENBAUM, A. L. *Histologia e Biologia celular: uma introdução à Patologia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.573-603; 619-634.
- LARSEN, W. J. *Human Embryology*. 2.ed. New York: Churchill Livingstone, 1997. p.1-17; 22-26.
- MARTIN, V. J. Cnidarians, the jellyfish and hydras. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.57-86.
- MARTINDALE, M. Q.; HENRY, J. Ctenophorans, the comb jellies. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.87-111.
- MOORE, K.; PERSAUD, T. V. N. *Embriologia clínica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.16-29.
- MORAES, E. G. S. *Espermocitologia: espermocitograma em critério estrito*. 2.ed. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2007. p.13-42; 91-158.
- OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. *Netter Bases da Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.378-387; 400-408; 412-416.
- PRIEDKALNS, J.; LEISER, R. Female reproductive system. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.256-274.
- ROSS, M.H.; KAYE, G. I.; PAWLINA, W. *Histology: a text and Atlas*. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. p.682-702; 714-717; 726-747; 764-769; 772-777.
- SHORR, E. A new technic for staining vaginal smears: III, a differential stain. *Science*, v.94, n.2449, p.545-546, 1941.
- STEVENS, A.; LOWE, J. *Histologia humana*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. p.309-317; 324-325; 338-348.
- WELTON, T. S. *Método moderno da limitação dos filhos*. 15.ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1963. 204p.

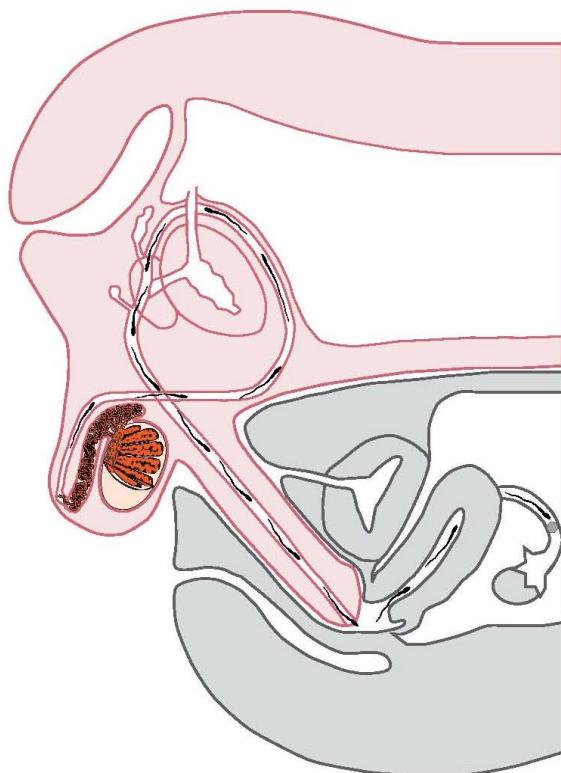
WOLPERT, L.; JESSELL, T.; LAWRENCE, P.; MEYEROWITZ, E.; ROBERTSON, E.; SMITH, J. *Princípios de Biologia do Desenvolvimento*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.461-462.

WROBEL, K. -H.; BERGMANN, M. Male reproductive system. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.233-243.

YOUNG, B.; LOWE, J. S.; STEVENS, A.; HEATH, J. W. *Wheather Histologia funcional*: texto e atlas em cores. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p.346-353; 359-367; 369-375.

1 – INTRODUÇÃO

Os gametas produzidos nos testículos e nos ovários devem se encontrar para a formação de um novo ser. Os espermatozoides são expelidos do sistema reprodutor masculino e entram no trato reprodutor feminino, onde ocorre a fertilização (Figura 3.1).



T. Montanari e T. G. Loureiro

Adaptado de Moore, K. L. **Embriologia básica**. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. p.20.

Figura 3.1 - Ilustração que demonstra o trajeto dos espermatozoides até o local de fertilização.

2 – TRANSPORTE DOS GAMETAS

2.1 – Transporte dos espermatozoides

Nos *testículos*, os espermatozoides não possuem motilidade ou exibem um fraco movimento vibratório da cauda. Eles são conduzidos pelas contrações das células mioides peritubulares, pela correnteza do fluido testicular e por gradiente de concentração (Quadro 3.1).

Os túbulos seminíferos têm a forma de U, e as extremidades abrem-se na *rede testicular* (ou *rete testis*), localizada no mediastino, o espessamento da túnica albugínea na borda posterior dos testículos. Há uma região transitória entre os túbulos seminíferos e a rede testicular: são os *túbulos retos* (Figura 3.2). Próximo aos túbulos seminíferos, em virtude da depleção de células germinativas, eles são constituídos somente por células de Sertoli. Posteriormente, assim como a rede testicular, com quem se continuam, são revestidos por epitélio simples pavimentoso a colunar (Figura 3.3).

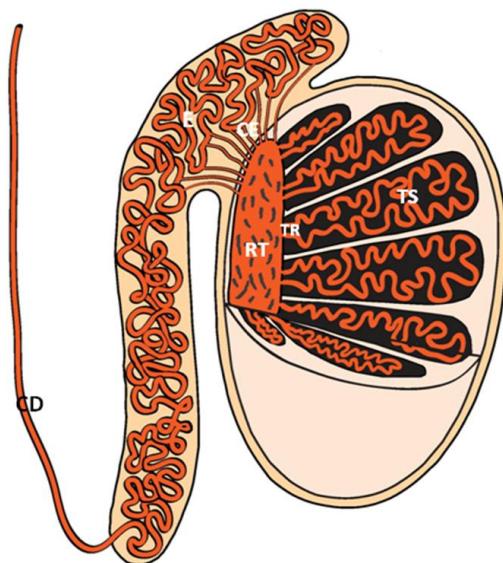
O segmento com a presença de células de Sertoli evita o refluxo do fluido da rede testicular para os túbulos seminíferos.

Os canais da rede testicular fazem comunicação com 8 a 15 *dúctulos eferentes* (Figura 3.2), de epitélio pseudoestratificado colunar. As células colunares possuem cílios, mas há células cúbicas com estereocílios, que reabsorvem a maior parte do fluido testicular. Os cílios e as contrações da musculatura lisa permitem o transporte dos espermatozoides para os epidídimos (Figura 3.4 e Quadro 3.1).

Os *epidídimos* situam-se ao longo da face posterior dos testículos (Figura 3.1). Estão envolvidos pela túnica albugínea e pela túnica vaginal. Medem 7cm de comprimento, mas contêm um duto de 5m

(portanto, bastante enovelado), onde os espermatozoides passam 4 a 12 dias. Anatomicamente, o órgão é dividido em três regiões: cabeça, corpo e cauda. A cabeça é a porção onde os díctulos eferentes fundem-se no ducto epididimário, e a cauda comporta a região mais distal do ducto (Figura 3.2).

O epitélio é pseudoestratificado colunar com estereocílios, o que aumenta a superfície absorptiva. Nesse órgão, ocorre a absorção do fluido testicular restante, da gota citoplasmática perdida pelos espermatozoides e de espermatozoides velhos. Dentre as organelas da célula epitelial, o Golgi é proeminente, porque está envolvido na síntese de glicoproteínas que serão inseridas à superfície dos espermatozoides (Figura 3.5).



T. G. Loureiro e T. Montanari

Figura 3.2 - Representação do testículo (TS – túbulos seminíferos; TR – túbulos retos; RT – rede testicular), dos canais eferentes (CE), do epidídimo (E) e do canal deferente (CD). Baseado em Moraes, G. E. S. **Espermocitograma:** espermocitologia em critério estrito. 2.ed. Caxias do Sul: EDUCS, 2007. p.14.

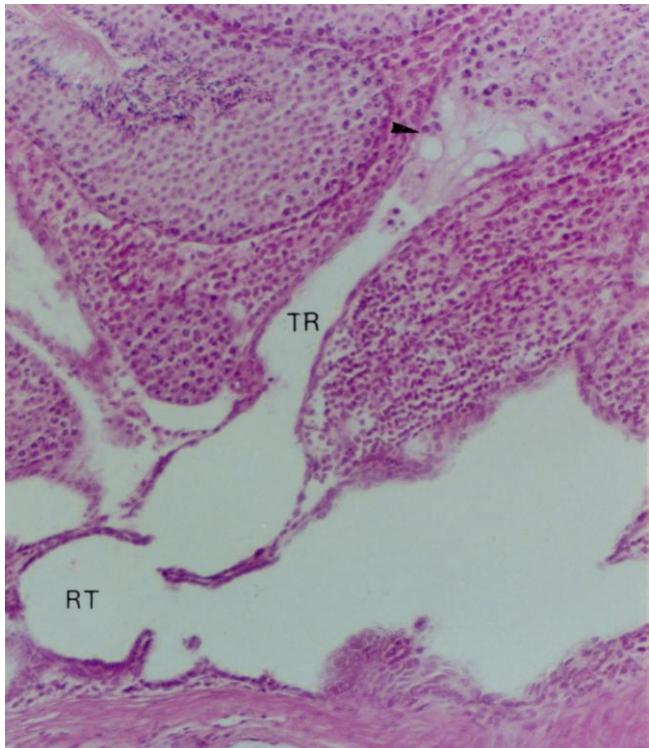


Figura 3.3 - Túbulo reto, constituído por células de Sertoli (►) e epitélio simples (TR), desembocando na rede testicular (RT). HE.

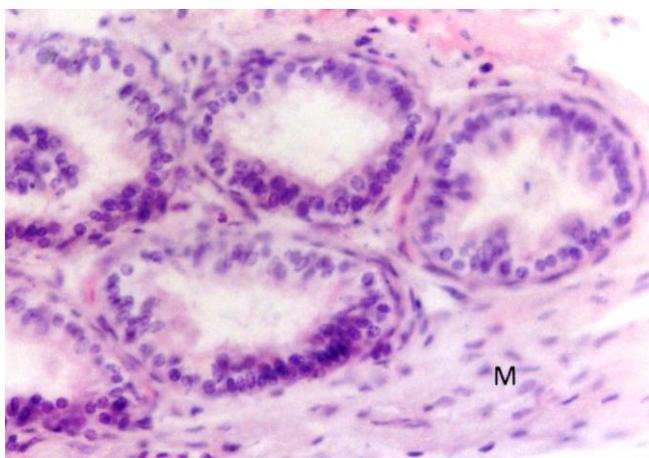


Figura 3.4 - Díctulos eferentes, de epitélio pseudoestratificado colunar, cujas células colunares possuem cílios e as células cúbicas, estereocílios. A musculatura lisa (M) contribui para o transporte dos espermatozoides. HE.

A modificação de glicoproteínas na superfície celular e a perda da gota citoplasmática fazem parte da maturação dos espermatozoides e torna-os móveis (motilidade progressiva e direcional) e aptos a fertilizarem o óvulo.

Devido à maior atividade absorvente e secretora, o epitélio é mais alto nas regiões da cabeça e do corpo do que na cauda. A luz do ducto, por sua vez, é mais ampla e preenchida de espermatozoides na cauda, onde eles são armazenados até a ejaculação.

Além das células principais (colunares com estereocílios) e das células basais do epitélio pseudoestratificado, é comum a presença de linfócitos intraepiteliais, identificados pelo núcleo esférico, escuro, com um halo não corado ao redor. Eles participam da barreira imunológica do epidídimos.

O epitélio do epidídimos é dependente de andrógeno para sua atividade funcional. O ambiente rico desse hormônio é proporcionado pelo complexo ABP-testosterona proveniente dos testículos.

Subjacente ao epitélio, unindo as alças do ducto entre si, há tecido conjuntivo frouxo, com vasos sanguíneos e nervos. O transporte dos espermatozoides é garantido pelas contrações de miofibroblastos dispostos em torno do ducto e da musculatura lisa, especialmente desenvolvida na região da cauda (Figura 3.5 e Quadro 3.1).

O músculo liso da cabeça e do corpo do epidídimos sofre contrações peristálticas espontâneas, enquanto a contração do músculo da cauda é desencadeada pelo estímulo sexual, provocando a ejaculação. Os espermatozoides são liberados para o exterior, passando rapidamente pelos canais deferentes (35cm) e pela uretra (20cm) (Figura 3.1).

Os *canais deferentes* correm no interior dos cordões espermáticos, que incluem ainda vasos e nervos. Da bolsa escrotal, atravessam o canal inguinal e penetram na pelve, atrás da bexiga urinária (Figura 3.1).

Como os epidídimos, os canais deferentes são revestidos por epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios. Subjacente ao epitélio, há uma delgada lámina própria de tecido conjuntivo frouxo,

com fibras elásticas. A espessa camada de músculo liso, com subcamadas interna e externa longitudinal e média circular, promove o transporte dos espermatozoides durante a ejaculação. Externamente, os canais deferentes possuem uma adventícia, cujo tecido conjuntivo frouxo é compartilhado com outras estruturas do cordão espermático (Figura 3.6 e Quadro 3.1).



Figura 3.5 - Ducto da região da cabeça do epidídimos, de epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios. A porção supranuclear das células é menos corada, de aspecto floculento, por causa do Golgi bem desenvolvido. Na luz do ducto, há espermatozoides. As células alongadas sob o epitélio são miofibroblastos. HE.

A porção terminal dos canais deferentes tem uma camada muscular mais delgada e dilata-se, formando a *ampola*, onde desembocam as vesículas seminais. Mais distalmente, no interior da próstata, transformam-se nos *ductos ejaculatórios* (1cm), de epitélio simples colunar.

A *uretra* pode ser dividida em: *prostática*, *membranosa* e *peniana*. Os espermatozoides são expelidos da uretra prostática pelas contrações dos músculos perineais e bulbouretrais (Quadro 3.1).

A uretra prostática (Figura 3.7) apresenta epitélio de transição, enquanto a uretra membranosa e a peniana variam de epitélio pseudoestratificado a estratificado colunar e, próximo ao meato uretral,

epitélio estratificado pavimentoso. A uretra membranosa é circundada por um esfínter de músculo liso e por outro de músculo estriado esquelético, que controlam a passagem da urina e do sêmen (Quadro 3.1).

Um par de *glândulas bulbouretrais* (ou *de Cowper*) situa-se na parte posterior do bulbo do pênis, com ductos abrindo-se na porção proximal da uretra peniana (Figura 3.1). Possuem o tamanho de uma ervilha, com 1cm de diâmetro, e são glândulas tubuloalveolares compostas. Antes da fase orgâsmica da resposta sexual, liberam um fluido ligeiramente mucoso que lubrifica a uretra.

Durante o orgasmo, há a ejaculação do *sêmen* (*esperma* ou *ejaculado*), que, na verdade, são frações expelidas em sequência: a secreção da próstata, os espermatozoides e a secreção das vesículas seminais. Os espermatozoides perfazem 5% do sêmen, e o componente líquido, o líquido seminal, corresponde a 95%. O fluido seminal coagula logo após a ejaculação e liquefaz dentro de 15 a 30 min.

Um ejaculado normal, após três a quatro dias de abstinência, tem 2 a 4mL e 20 a 250 milhões/mL de espermatozoides.

Assim como as glândulas bulbouretrais, a próstata e as vesículas seminais são órgãos-alvo de testosterona. Esse hormônio difunde-se pela membrana plasmática, atingindo o citoplasma. Geralmente é convertida em diidrotestosterona pela enzima 5 α -redutase e, em menor proporção, em androstenediona pela 3 α -redutase. A diidrotestosterona é um potente andrógeno: comparada à testosterona, possui maior afinidade pelo receptor de andrógeno e atividade biológica superior.

A *próstata* tem a forma e o tamanho de uma castanha e pesa cerca de 20g. Possui uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado, com células musculares lisas interpostas e 30 a 50 glândulas tubuloalveolares, ramificadas e compostas, que desembocam na uretra que corre no seu interior (Figura 3.7).

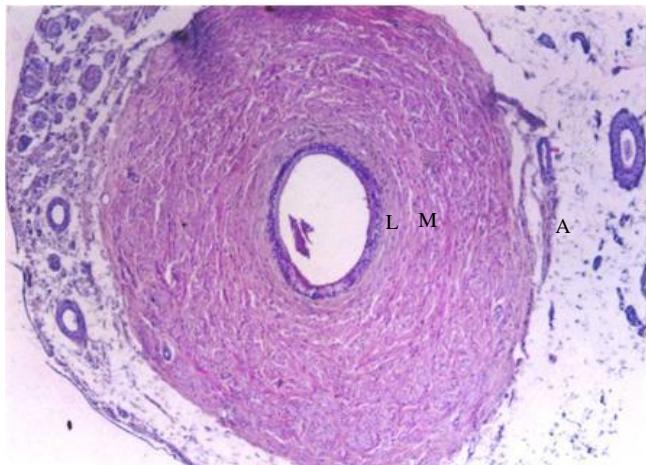


Figura 3.6 - Corte transversal de canal deferente. O ducto é revestido internamente pelo epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios. Subjacente há uma delgada lámina própria (L), uma espessa camada muscular (M) e uma adventícia (A). HE.

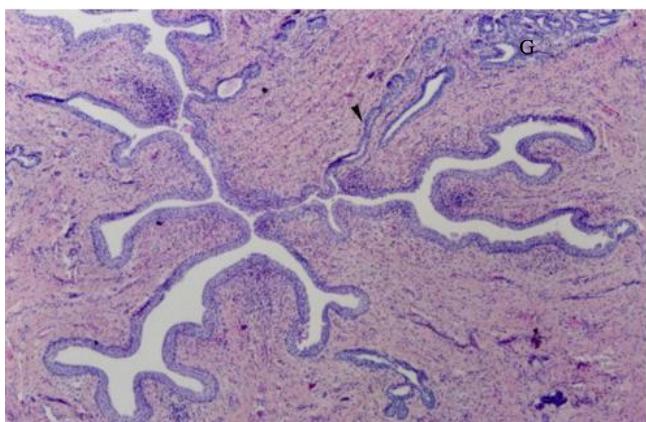


Figura 3.7 - Corte da uretra prostática com epitélio de transição e luz irregular, onde os ductos (►) das glândulas (G) desembocam. HE.

A próstata pode ser dividida em três zonas: a interna (25% do órgão) contém as glândulas da mucosa, que são as menores glândulas e desembocam na uretra sem ductos; a intermediária tem as glândulas submucosas, as quais se abrem na uretra por ductos curtos, e a periférica (70% do órgão) é constituída pelas glândulas principais, as maiores e com ductos longos.

A porção secretora das glândulas exibe três fenótipos celulares: as células basais, as células neuroendócrinas e as células epiteliais luminas.

As células basais são pequenas, piramidais e localizadas entre as células epiteliais luminas (colunares) e a membrana basal. Pela sua capacidade mitótica, são responsáveis pela proliferação do epitélio. Diferenciam-se nos outros tipos celulares.

As células neuroendócrinas têm características intermediárias entre epiteliais, neurais e endócrinas. Possuem prolongamentos dendríticos e grânulos citoplasmáticos diversos. Para identificação dessas células, são necessárias reações citoquímicas para aminas biogênicas ou imunocitoquímicas para os neurotransmissores sintetizados.

As células neuroendócrinas regulam o crescimento e a atividade funcional da próstata. Elas contatam as células epiteliais vizinhas e o conteúdo do lúmen, monitoram a composição do fluido prostático e modulam a secreção das células epiteliais luminas, segundo a concentração de proteínas e o pH.

As células epiteliais luminas são colunares, com núcleo basal, sendo a região supranuclear ocupada pelas organelas bem desenvolvidas, como o Golgi, e pelas vesículas de secreção. Possuem receptores para andrógenos. A ação desses hormônios ativa os genes responsáveis pelos produtos a serem secretados. Essas células sintetizam enzimas, como amilase, lisozima, fibrinolisina e uma serina protease, denominada antígeno específico prostático (*prostate specific antigen* – PSA). A fibrinolisina e o PSA liquefazem o sêmen.

O PSA circulante é produzido pelo fígado, não pela próstata. Entretanto, em caso de alterações, como no câncer, a próstata aumenta a atividade secretora de PSA e também o libera para o sangue, elevando a concentração sérica dessa substância. Assim, o PSA serve de marcador em exames de sangue para avaliar a normalidade da próstata.

As células epiteliais luminas produzem ainda citrato, que se liga a cátions, como os íons de zinco e

de magnésio, os quais servem de cofatores nas reações enzimáticas. Os numerosos lisossomos liberam fosfatase ácida.

Com a idade, acumulam-se, na luz das glândulas, concreções de glicoproteínas, geralmente calcificadas.

No estroma, ao redor das glândulas, há fibras musculares lisas, cuja contração promove a saída da secreção, um fluido branco e seroso. As células musculares lisas também convertem testosterona em diidrotestosterona. Ainda atuam sobre o epitélio secretor, produzindo TGF- β que inibe a proliferação e fatores que evitam a apoptose.

A próstata aumenta progressivamente a partir dos 45 anos, sendo que a *hiperplasia benigna da próstata* atinge 95% dos homens acima de 70 anos. Ela é causada pela hiperplasia das glândulas mucosas e submucosas, o que leva à obstrução parcial da uretra, provocando retenção da urina na bexiga urinária e dificuldade na micção.

O *adenocarcinoma da próstata* afeta 30% da população masculina, sendo o segundo câncer mais frequente nessa população. As glândulas principais são afetadas. Como essas glândulas são distantes da uretra, não há os sintomas urinários nos estágios iniciais, e o crescimento tumoral pode ser detectado pelos altos níveis sorológicos do PSA, pela apalpação digital da próstata no toque retal, pela ecografia e pela biópsia.

As *vesículas seminais* são um par. Cada uma tem 5cm de comprimento, mas consiste de um tubo de 15cm enrolado sobre si mesmo. São glândulas exócrinas tubuloenoveladas. A mucosa é pregueada, e o seu epitélio tem uma camada de células colunares ou cúbicas. Subacente à delgada lámina própria da mucosa, há uma camada interna circular e uma camada externa longitudinal de músculo liso, cuja contração impele a secreção para os ductos ejaculatórios. Externamente, há uma adventícia (Figura 3.8).

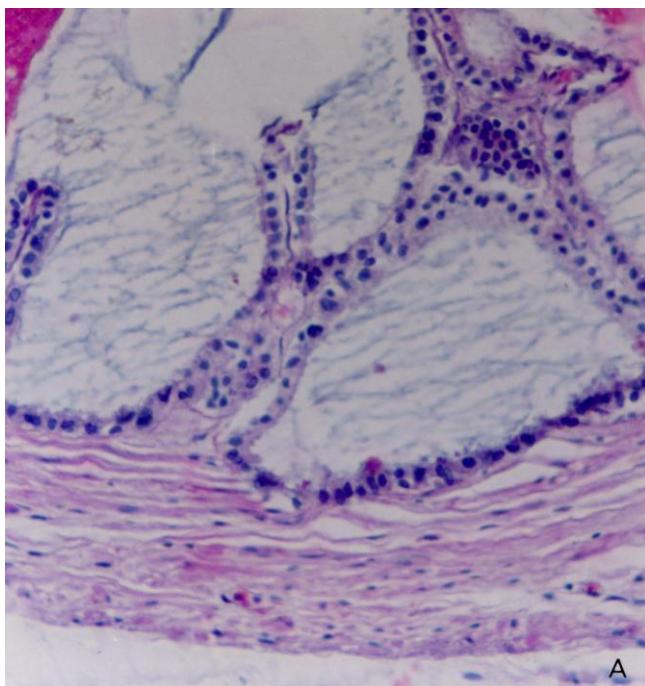


Figura 3.8 - Corte de vesícula seminal, mostrando as pregas de epitélio secretor com conjuntivo interposto, a camada muscular bem desenvolvida e a adventícia (A) de tecido conjuntivo frouxo. HE.

A secreção das vesículas seminais é viscosa, devido à riqueza de açúcares, como a frutose, que é a principal fonte de energia para o batimento do flagelo dos espermatozoides. É amarelada pela presença do pigmento lipocromo. Tem também proteínas, prostaglandinas, ácido cítrico e ácido ascórbico. A enzima vesiculase coagula parte do ejaculado, formando um tampão vaginal que evita o seu retorno. As prostaglandinas estimulam a contratilidade uterina, contribuindo para o rápido movimento dos espermatozoides para o sítio de fertilização.

O pH do sêmen está entre 7,0 e 8,3, já que a contribuição de secreção alcalina pelas vesículas seminais é bem maior do que a de secreção ácida pela próstata. As vesículas seminais produzem 70% do líquido seminal, enquanto a próstata, 30%.

O pênis é recoberto por pele delgada, com epitélio estratificado pavimentoso pouco queratinizado, mas mais pigmentado que o do resto do corpo. A glande é

revestida por epitélio estratificado pavimentoso, não queratinizado. O tecido conjuntivo da pele é bastante frouxo, o que permite o seu movimento durante a relação sexual. A riqueza em fibras elásticas no tecido conjuntivo do prepúcio contribui para a sua retração, expondo a glande. O pênis é ricamente inervado com muitos fascículos nervosos e receptores sensoriais.

O corpo do pênis possui o corpo esponjoso (ventral), através do qual a uretra corre, e dois corpos cavernosos (localizados dorsalmente). Esses corpos são envolvidos por uma bainha de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea. Na glande, há somente o corpo esponjoso, que se expande distalmente. Os corpos cavernosos e o corpo esponjoso são constituídos pelo tecido erétil: tecido conjuntivo denso não modelado, com muitas fibras elásticas e células musculares lisas e com espaços revestidos por endotélio (sinusoides), que se preenchem de sangue com o estímulo sexual.

A uretra não se fecha durante a ereção (o que permite a passagem do sêmen), porque a cápsula de conjuntivo ao redor do corpo esponjoso é bem mais delgada e com mais fibras elásticas do que a túnica albugínea em torno dos corpos cavernosos, além do ingurgitamento do corpo esponjoso ser menor.

O estímulo sexual, ao atingir os nervos do pênis, desencadeia a liberação de óxido nítrico (NO), que se difunde, através das junções comunicantes, pelas células musculares lisas. Dentro das células musculares, o NO ativa a guanilato-ciclase para produzir o monofosfato de guanosina cíclica (GMPc) a partir do trifosfato de guanosina (GTP). O GMPc sequestra o Ca^{2+} citoplasmático, relaxando as células musculares em torno dos vasos sanguíneos. O fluxo de sangue arterial para esses vasos provoca a *ereção*, que se mantém enquanto as pequenas veias que drenariam o sangue estiverem comprimidas pelos sinusoides aumentados.

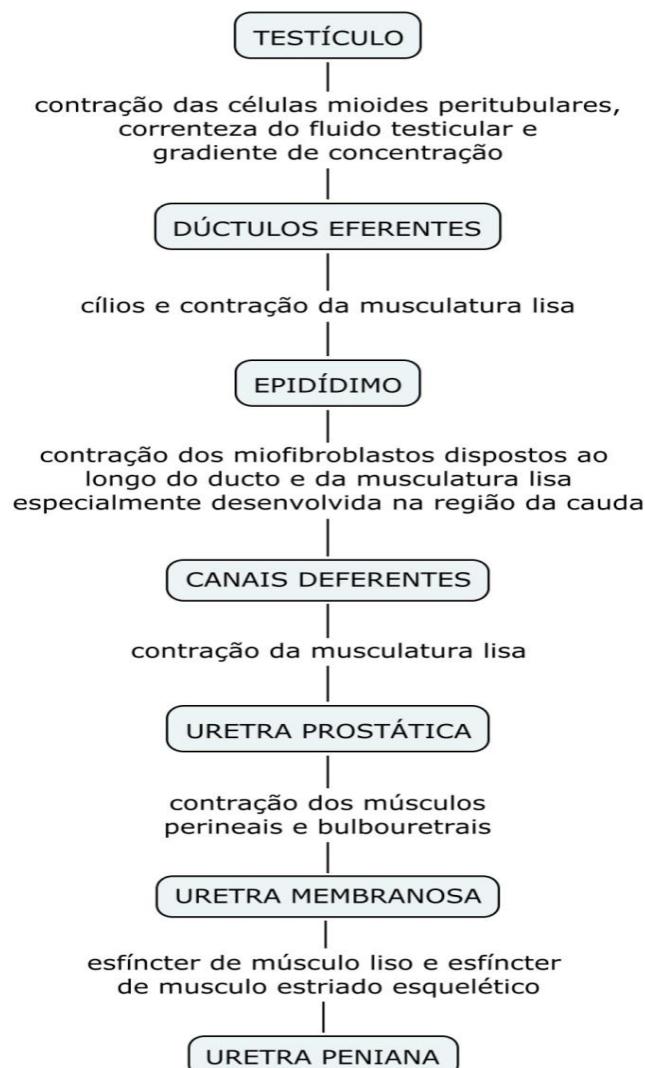
A enzima fosfodiesterase destrói o GMPc, elevando os níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} , o que leva à contração muscular da parede dos vasos, e o sangue retorna pelas veias.

As drogas medicamentosas para o tratamento da disfunção erétil agem bloqueando a fosfodiesterase, o

que inibe a degradação da GMPc e, consequentemente, prolonga o armazenamento de Ca^{2+} e o relaxamento da musculatura ao redor dos sinusoides.

Na uretra, desembocam as glândulas de Littré, pequenas glândulas mucosas.

Quadro 3.1 - Mapa conceitual sobre o transporte dos espermatozoides pelo trato reprodutor masculino.



T. G. Loureiro

O sêmen ejaculado na vagina deposita-se na bacia seminal, que se forma durante a relação sexual, na região mais posterior da vagina, devido ao intumescimento das paredes no terço próximo ao exterior. Com o pH alcalino do sêmen, o pH da vagina superior passa, em 10 segundos, de 4,3 para 7,2, permitindo a sobrevivência dos espermatozoides. O tamponamento é de alguns minutos, mas o suficiente para os espermatozoides chegarem à cérvix uterina, onde o pH do muco fértil é de 7 a 8,5.

A vagina é revestida por um epitélio estratificado pavimentoso, cujas células, sob o estímulo do estrógeno, sintetizam e armazenam glicogênio. Ao ser lançado na luz da vagina, quando as células descamam, o glicogênio é quebrado em ácido láctico pelos bacilos de Döderlein (*Lactobacillus acidophilus*).

A acidez da vagina exerce uma função bacteriostática, impedindo a entrada de agentes infeciosos no trato genital superior. Um ambiente anormalmente alcalino favoreceria a proliferação de patógenos, como *Candida albicans* e *Trichomonas vaginalis*, causando vulvovaginite.

Quando as paredes da vagina colabam por causa da saída do pênis, a bacia seminal aproxima-se da abertura do útero e os espermatozoides entram para o útero, batendo o seu flagelo. Podem atravessar a cérvix lentamente, em uma velocidade de 2 a 3mm/h, levando dois a quatro dias. Entretanto contrações musculares do útero promovem um transporte rápido, e eles alcançam as tubas uterinas 5 a 20min após a ejaculação.

Sinais químicos do oócio ou da *corona radiata* atraem os espermatozoides. A quimiotaxia foi bem demonstrada em animais aquáticos e recentemente detectada no fluido folicular.

A viabilidade do espermatozoide no aparelho reprodutor feminino é de cerca de 80h. Os espermatozoides que não fertilizam o oócio degeneram e são reabsorvidos.

Dos 250 milhões de espermatozoides depositados na vagina, entram, no útero, uns cinco milhões e

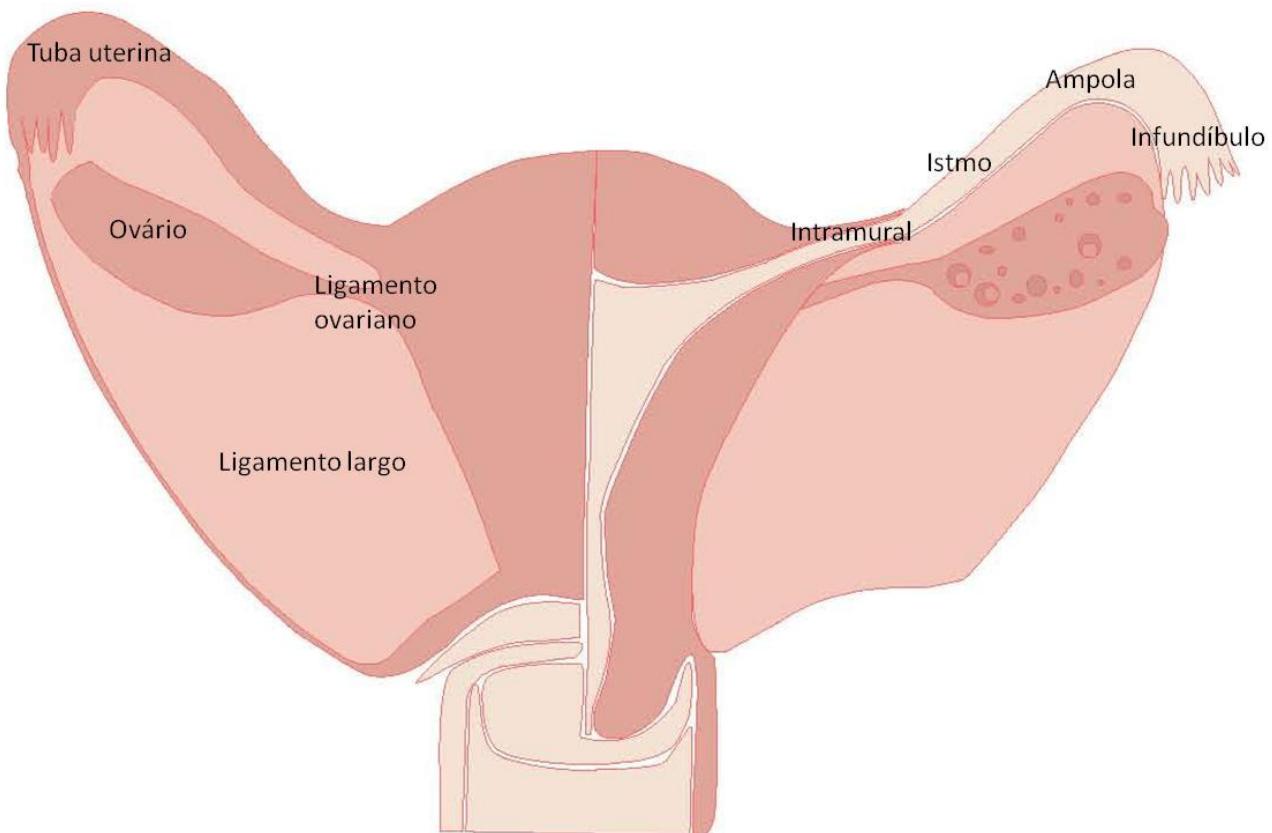
destes 50 a 200 espermatozoides alcançam o óócio secundário na tuba uterina.

Para que um espermatozoide chegue à tuba uterina é necessário que, pelo menos, um milhão seja lançado no momento da ejaculação. Deve haver cerca de 80 milhões de espermatozoides móveis no ejaculado para que a fertilidade seja assegurada.

2.2 – Transporte do óócio

As *tubas uterinas* têm 12cm de comprimento e 1 a 2mm de diâmetro e, partindo da extremidade aberta junto aos ovários para aquela inserida no útero, são divididas em: infundíbulo, ampola, istmo e intramural (Figura 3.9).

Na época da ovulação, em consequência da elevação do estrógeno, as projeções da mucosa (fímbrias) do infundíbulo (Figura 3.9) “varrem” constantemente o ovário, captando o óócio à medida que ele surge na superfície.



E. Leite e T. Montanari

Baseado em **Population Reports**, série C, n.8, junho de 1981, p.C-3.

Figura 3.9 - Representação do aparelho reprodutor feminino, onde são identificadas as partes da tuba uterina.

A fertilização geralmente ocorre na ampola. Ela é o segmento mais longo, compreendendo dois terços da tuba. Apresenta pregas bem desenvolvidas da mucosa, mas a camada muscular é delgada. O istmo tem luz mais estreita, menor número de pregas e uma camada muscular espessa. A região intramural mede 1cm de comprimento e é localizada na parede do útero (Figura 3.9).

As tubas possuem um epitélio simples colunar ciliado, que inclui células endócrinas e células secretoras. As células secretoras são células colunares, com microvilos. Produzem um fluido aquoso, rico em potássio, cloro e proteínas do soro, como imunoglobulinas. Esse fluido fornece nutrientes para os gametas e o embrião inicial. O tecido conjuntivo subjacente ao epitélio é frouxo e bastante vascularizado. Abaixo da mucosa, há a camada muscular, constituída por subcamadas interna circular e externa longitudinal. Delimitando as tubas, contínua ao peritônio, há uma serosa (Figura 3.10).

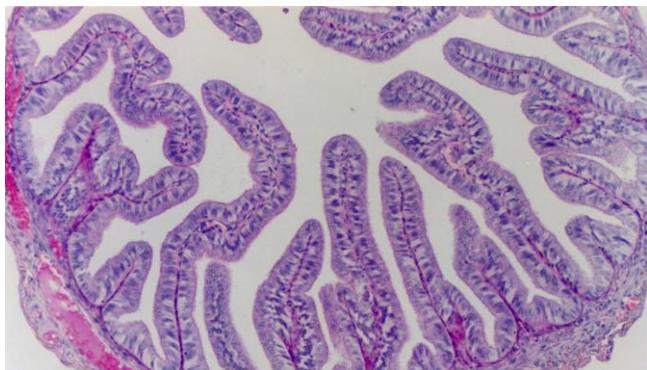


Figura 3.10 - Corte transversal de tuba uterina na região da ampola, onde são bem desenvolvidas as pregas de epitélio simples colunar e tecido conjuntivo frouxo, mas a camada muscular é menos espessa. Delimitando a tuba, há a serosa. HE.

A atividade dos cílios e da musculatura lisa também é estimulada pelo estrógeno, favorecendo o transporte do oócito e do embrião. Os cílios movimentam a película de muco no sentido do útero, levando o oócito e o embrião e dificultando a

migração de micro-organismos para a cavidade peritoneal.

Como mulheres com síndrome dos cílios imóveis são frequentemente férteis, o transporte do embrião pela tuba uterina deve ser promovido principalmente pelas contrações da musculatura lisa.

O movimento dos gametas masculino e feminino em sentidos opostos da tuba uterina é decorrente da sua subdivisão em compartimentos, com contrações peristálticas independentes.

O transporte do embrião pela tuba leva três a quatro dias, sendo que há um transporte lento na ampola (cerca de 72h) e um mais rápido pelo istmo e pela região intramural (8h). Sob a influência da progesterona, a junção uterotubária relaxa e permite a entrada do embrião na cavidade uterina.

Métodos de contracepção de barreira

- *Condom (ou camisinha)*: é de látex e adapta-se ao pênis ereto. Possui um reservatório na ponta, onde o sêmen fica após a ejaculação. Deve ser retirado antes da perda da ereção;

- *Camisinha feminina*: é de poliuretano, um material mais fino e mais resistente que o látex. Tem a forma da vagina, com fundo cego e um anel em cada extremidade. O anel da extremidade fechada é empurrado para o fundo da vagina, enquanto aquele que circunda a extremidade aberta fica no exterior. Deve ser descartada após a ejaculação;

- *Diaphragma*: é de látex ou de silicone e tem forma circular e côncava, com uma borda flexível, que é dobrada para a inserção na vagina. É encaixado atrás da arcada do púbis, tampando o colo do útero, o que não permite a entrada dos espermatozoides. Cremes espermicidas devem ser adicionados para aumentar a sua eficácia. O diafragma deve ser retirado de 8 a 24h após a relação, o tempo necessário para a morte dos espermatozoides. Deve ser lavado e seco para ser reutilizado.

Métodos de contraceção cirúrgicos

- *Vasectomia*: é um procedimento cirúrgico ambulatorial, onde é realizada uma pequena incisão na bolsa escrotal. Os canais deferentes são seccionados, e as suas extremidades, cauterizadas. Isso interrompe o transporte dos espermatozoides, e eles são absorvidos pelo epitélio dos epidídimos e dos canais deferentes;
- *Ligadura* (ou *laqueadura*): as tubas uterinas são seccionadas, e as extremidades, fechadas, o que impede a passagem do oócio.

3 – FERTILIZAÇÃO

A fertilização não se restringe ao encontro dos gametas masculino e feminino. Ela envolve processos anteriores e posteriores a esse momento, importantes para o sucesso do evento. Em humanos, leva em torno de 24h.

Durante a passagem dos espermatozoides pelo trato reprodutor feminino, ocorre a *capacitação*. Ao migrar pelas secreções femininas, como o muco cervical e o fluido folicular, há o desprendimento de uma cobertura superficial de glicoproteínas e proteínas oriundas do líquido seminal e a alteração dos componentes da membrana plasmática do espermatozoide. Em muitas espécies, foi verificada a diminuição na quantidade de colesterol e a perda de proteínas e carboidratos da membrana plasmática. É possível que essas mudanças aumentem a atividade respiratória e a motilidade do espermatozoide e desbloqueiem as proteínas que se ligam à zona pelúcida.

Uma vez capacitado, o espermatozoide sofre a *reação acrossônica* nas vizinhanças do oócio. Um influxo de Ca^{2+} provoca a fusão da membrana externa do acrossomo com a membrana plasmática do espermatozoide em vários pontos. Nesses locais, as membranas rompem-se, liberando as enzimas do acrossomo. A hialuronidase, por exemplo, degrada o ácido hialurônico, um glicosaminoglicano da matriz extracelular da *corona radiata*. A protease acrosina, situada na membrana acrossônica interna, fica

exposta e digere as glicoproteínas da zona pelúcida (Figura 3.11). Os movimentos da cauda também contribuem para a passagem dos espermatozoides pela *corona radiata* e pela zona pelúcida.

Há a *interação entre os gametas*. A zona pelúcida é constituída por quatro glicoproteínas sulfatadas e secretadas pelo oócio: a ZP1, a ZP2, a ZP3 e a ZP4. A ZP2 e a ZP3 interagem para formar complexos filamentosos longos, interconectados por dímeros de ZP1 e de ZP4. Uma glicoproteína presente na membrana do espermatozoide, a β -1,4-galactosil-transferase, liga-se aos resíduos oligossacarídicos da ZP3 em uma ligação específica da espécie. A ZP2 mantém o espermatozoide ligado ao oócio.

Diferente do espermatozoide de ouriço-do-mar que faz um contato perpendicular com o gameta feminino através do processo acrossônico, o espermatozoide de mamífero faz um contato tangencial com o oócio, já que, após a reação acrossônica, somente a membrana plasmática da porção posterior da cabeça permanece intacta para se fusionar com a membrana do oócio (Figura 3.11).

A fusão das membranas é promovida pela fertilina, uma glicoproteína transmembrana do espermatozoide, com um domínio que se liga à integrina da membrana do oócio e uma região extracelular hidrofóbica, semelhante à proteína fusogênica responsável pela fusão dos vírus às células hospedeiras.

Com a fusão do espermatozoide no oócio, há o *bloqueio à polispermia*. Em 3seg, ocorre a despolarização da membrana do oócio, devido a um influxo de Ca^{2+} , e o potencial de repouso muda de -70mV para +10mV. A voltagem positiva é mantida por um aumento lento na permeabilidade de Na^+ . Com a membrana plasmática positiva, outro espermatozoide não consegue inserir a proteína fusogênica, também de carga positiva. Esse bloqueio tem curta duração: cerca de 1min, mas é o tempo suficiente para um bloqueio definitivo ser desencadeado.

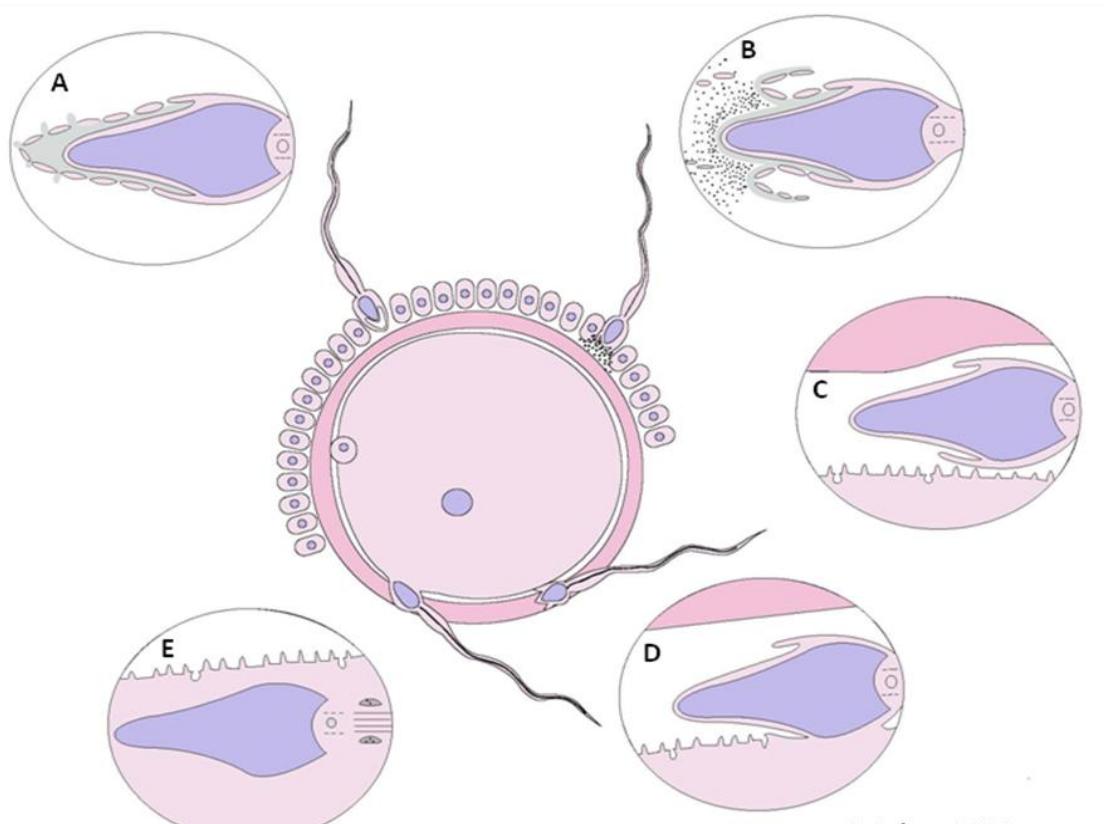
A fosfolipase C isoforma ζ (zeta), trazida pelo espermatozoide, hidrolisa o fosfatidilinositol, lipídio da membrana, em diacilglicerol e 1,4,5-trifosfato

inositol (IP_3). O diacilglicerol permanece na membrana plasmática, onde ativa a bomba de Na^+/H^+ . Há uma troca de Na^+ extracelular por H^+ intracelular, levando a um aumento do pH. O IP_3 é liberado da membrana e liga-se ao retículo endoplasmático, promovendo a liberação de Ca^{2+} para o citoplasma (nos moluscos e nos anelídeos, o Ca^{2+} origina-se de fora do ovo).

O aumento dos níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} provoca a exocitose dos grânulos corticais (Figura 3.12). A reação cortical é o bloqueio definitivo à polispermia. Dos grânulos são liberados enzimas e glicosaminoglicanos. As enzimas hidrolisam os resíduos de açúcar da ZP3, impossibilitando a ligação

de outros espermatozoides, e clivam parcialmente a ZP2, causando sua mudança conformatacional, o que modifica a estrutura da zona pelúcida e transforma-a na membrana hialina, de difícil penetração. Os glicosaminoglicanos, devido à sua carga negativa, atraem Na^+ , que, por ser osmoticamente ativo, atrai água, afastando a membrana hialina da membrana plasmática do oócito secundário (Figura 3.12).

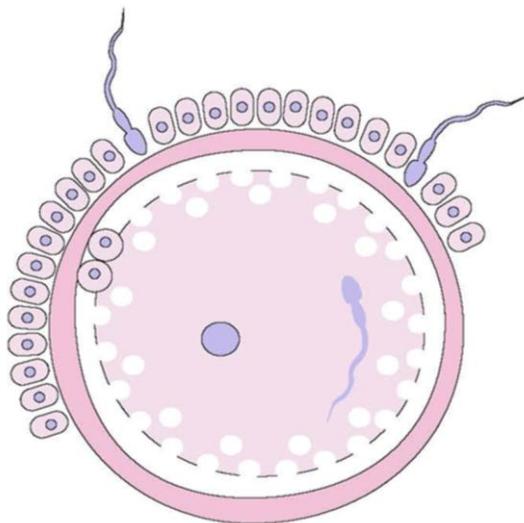
A onda de Ca^{2+} promovida pela entrada do espermatozoide resulta na ativação da enzima CAM-quinase II e na consequente degradação da ciclina do MPF. Assim, o oócito completa a segunda meiose, transformando-se em óvulo e liberando o segundo corpúsculo polar (Figura 3.12).



E. Leite e T. Montanari

Baseado em Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. **Molecular biology of the cell**. 4.ed. New York: Garland Science, 2002. p.1152 e em www.embryology.ch.

Figura 3.11 - Representação da interação entre os gametas e da reação acrossônica: A-B) o espermatozoide liga-se à zona pelúcida e sofre a reação acrossônica; C-D) as enzimas do acrossoma digerem a zona pelúcida, o espermatozoide faz um contato tangencial com oócito, e ocorre a fusão das membranas dos gametas, e E) o espermatozoide entra no oócito.



E. Leite e T. Montanari

Figura 3.12 - Representação da reação cortical: exocitose de enzimas e glicosaminoglicanos dos grânulos corticais.

Os núcleos dos gametas são denominados pronúcleos. Com a substituição das protamina pelas histonas acumuladas no citoplasma do óvulo, o material genético do espermatozoide descondensa-se. Os envoltórios nucleares desintegram-se, e os cromossomos pareiam-se. Tem-se uma célula diploide, o *zigoto*.

O espermatozoide pode contribuir com o(s) centríolo(s) para organizar o fuso mitótico do zigoto. Isso ocorre, por exemplo, em ouriço-do-mar, onde há a entrada dos dois centríolos do espermatozoide no ovo, e em humanos, onde o centríolo proximal do espermatozoide sofre duplicação no gameta feminino para formar os ásteres. Em insetos e em alguns mamíferos, como os roedores, onde há a perda da integridade dos centríolos do espermatozoide, o fuso surge a partir do centrossoma materno.

As outras organelas do espermatozoide, como as mitocôndrias, são degradadas. Ainda durante a espermatogênese, nos estágios de espermatócito secundário e de espermátide redonda, proteínas da membrana interna da mitocôndria (*prohibitin*) são marcadas com ubiquitina para sofrerem proteólise. Mas, durante a passagem pelo epidídimo, os epitópos

com ubiquitina são mascarados por ligações cruzadas de pontes dissulfeto. Os epitópos são expostos, após a fertilização, pela redução das pontes dissulfeto, induzida pela glutatona do citoplasma do ovo, e as mitocôndrias de origem paterna são destruídas até o estágio de embrião com oito células.

Essa destruição parece ser uma vantagem evolutiva, porque as mitocôndrias paternas e o seu DNA podem ser afetados por espécies reativas de oxigênio durante a espermatogênese e a fertilização. Além disso, a *prohibitin* bloqueia a entrada na fase S, e, portanto, a sua liberação no citoplasma do ovo prejudicaria o desenvolvimento.

A etapa final da fertilização é a *ativação do metabolismo do zigoto*. O aumento intracelular de Ca^{2+} e do pH (descrito anteriormente) ativam a NADquinase e o transporte de K^+ e aminoácidos, respectivamente. A síntese de DNA, RNA e proteínas, as reações metabólicas e a divisão celular são retomadas.

Casos de infertilidade devido a um número inadequado ou problemas de motilidade dos espermatozoides ou pela obstrução das tubas uterinas são

tratados pela fertilização *in vitro* e pela transferência de embriões. A ovulação de múltiplos oócitos é provocada por drogas, como citrato de clomifeno ou gonadotrofinas, e os oócitos são aspirados dos folículos maduros. Os oócitos são fertilizados *in vitro*, sendo que os espermatozoides coletados pela masturbação são capacitados pela lavagem com meios de cultura para retirada dos fatores decapacitantes do fluido seminal. Os embriões no início da clivagem (no máximo três) são transferidos para a cavidade uterina por um cateter pela cérvix. O índice de sucesso desse procedimento é de 25 a 30%.

4 – QUESTIONÁRIO

- 1) Mencione qual é o epitélio do epidídimos e relacione suas características com as funções exercidas por esse órgão.
- 2) Por que a cauda do epidídimos, o canal deferente e as tubas uterinas apresentam uma camada muscular espessa?
- 3) Quais são os constituintes do sêmen e onde são produzidos? Por que o seu pH é alcalino e qual é a importância disso?
- 4) Qual é a substância marcadora usada em exames de sangue para avaliar alterações hiperplásicas da próstata?
- 5) Quais são os eventos que tornam os espermatozoides aptos a fertilizar o oócio? Onde eles ocorrem e no que consistem?
- 6) Como os espermatozoides conseguem penetrar as camadas envoltórias do oócio?
- 7) Qual é a proteína presente na zona pelúcida receptora do espermatozoide?
- 8) Como é evitada a entrada de mais de um espermatozoide no oócio?

5 – REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the cell*. 4.ed. New York: Garland Science, 2002. p.1151-1156.
- BLANDAU, R. J. O aparelho reprodutor feminino. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.740-777.
- BROWDER, L. W.; ERICKSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. Philadelphia: Saunders College, 1991. p.126-161.
- CARLSON, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p.24-36.
- DYM, M. O sistema reprodutor masculino. In: WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p.824-874.
- FLÓREZ, M. G.; CARVALHO, H. F. Célula epitelial prostática. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.335-345.
- GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. *Embriologia*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.87-94.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia em cores*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p.480-491; 507-515.
- GENESER, F. *Atlas de Histologia*. São Paulo: Médica Panamericana, 1987. p.167-193.
- GENESER, F. *Histologia: com bases biomoleculares*. Rio de Janeiro: Médica Panamericana/Guanabara Koogan, 2003. p.497-505; 516-526.
- GILBERT, S. F. *Biologia do Desenvolvimento*. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 563p.
- GRIFFIN, J. E.; WILSON, J. D. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.838, 850-851, 859.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.424-430; 440-448.
- KIERSZENBAUM, A. L. *Histologia e Biologia celular: uma introdução à Patologia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.604-616; 627-644.
- MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. *Embriologia clínica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.29-36.
- MORAES, G. E. S. *Espermocitologia: espermocitograma em critério estrito*. 2.ed. Caxias do Sul: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2007. p.14; 42-54; 138.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. *Netter Bases da Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.388-398; 409-411; 417-419.

PRIEDKALNS, J.; LEISER, R. Female reproductive system. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.263-270.

ROSS, M. H.; KAYE, G. I.; PAWLINA, W. *Histology: a text and Atlas*. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003. p.702-712; 718-725; 742; 755-757; 770-771; 782-783.

SAUNDERS, C. M.; LARMAN, M. G.; PARRINGTON, J.; COX, L. J.; ROYSE, J.; BLAYNEY, L. M.; SWANN, K.; LAI, F. A. PLC ζ : a sperm-specific trigger of Ca $^{2+}$ oscillations in eggs and embryo development. *Development*, v.129, p.3533-3544, 2002.

STEVENS, A.; LOWE, J. *Histologia humana*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. p.318-338.

SUTOVSKY, P.; MORENO, R. D.; RAMALHO-SANTOS, J.; DOMINKO, T.; SIMERLY, C.; SCHATTEN, G. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. *Biology of Reproduction*, v.63, p.582-590, 2000.

WROBEL, K. -H.; BERGMANN, M. Male reproductive system. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.243-255.

YOUNG, B.; LOWE, J. S.; STEVENS, A.; HEATH, J. W. *Wheather Histologia funcional: texto e atlas em cores*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p.353-358; 367-368; 376-377.

DESENVOLVIMENTO COMPARADO

Capítulo 4

1 – VARIABILIDADE DO GAMETA MASCULINO

Há uma grande diversidade na morfologia do espermatozoide entre os animais. Essa variabilidade morfológica está relacionada a adaptações às condições de fertilização. Apesar da variedade, estão geralmente presentes: o núcleo, que contém o material genético; o acrossomo, que permite a penetração das camadas envoltórias do gameta feminino, e o flagelo, responsável pela locomoção da célula.

O acrossoma e o núcleo determinam a forma da cabeça do espermatozoide. Por exemplo, em roedores, ela tem a forma de foice (Figura 4.1), enquanto, em humanos, de raquete (Figura 4.2). Nos espermatozoides de insetos, peixes, anfíbios, répteis e aves, o núcleo é geralmente longo e delgado, sendo que, em alguns, ele é ainda espiralado.

A grande variação na morfologia do acrossomo foi possibilitada evolutivamente, porque ele se rompe para a liberação das enzimas, não tendo um papel mecânico na penetração dos envelopes do ovo.

Há animais, como os ouriços-do-mar, que projetam o acrossoma quando se aproximam do gameta feminino. Um longo e delgado processo, o processo acrossômico, é formado. Sua membrana tem as proteínas bindinas que interagem com glicoproteínas do envelope vitelino, o envoltório mais interno do ovo. A fusão entre a ponta do processo acrossômico e um microvilo do gameta feminino estabelece uma ponte citoplasmática, através do qual o espermatozoide entra.

Na maioria das espécies de poríferos e cnidários, o espermatozoide não possui acrossoma. Nas esponjas, os espermatozoides são transportados até os ovos engolfados por coanócitos modificados, e, nos cnidários, os espermatozoides emitem projeções que interagem com a superfície do ovo.

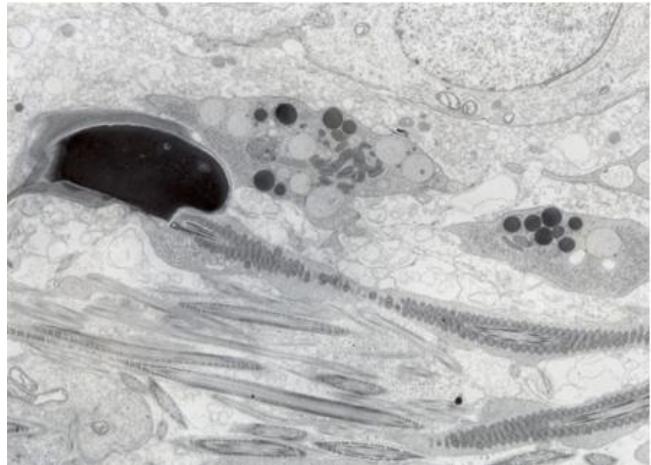


Figura 4.1 - Eletromicrografia de espermátide alongada de camundongo, mostrando a cabeça em forma de foice.

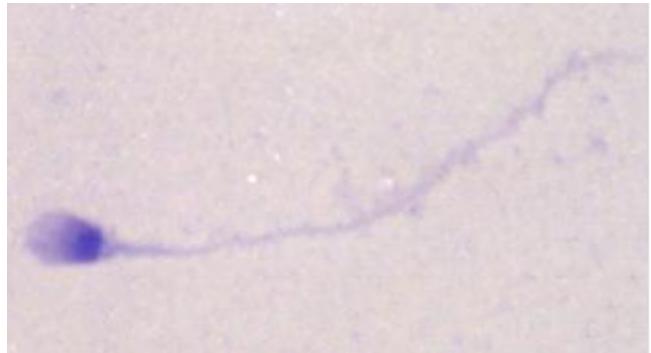


Figura 4.2 - Espermatozoide humano de esfregaço seminal observado ao microscópio de luz. A cabeça assemelha-se a uma raquete quando vista de cima. Giemsa.

A presença de flagelo também não é universal. Nematódeos possuem espermatozoides arredondados com pseudópodos para migração. Em crustáceos, os espermatozoides são esféricos ou estrelados e são imóveis ou movimentam-se através de pseudópodos. O espermatozoide do carapato-bovino (*Boophilus*

microplus) tem uma forma alongada e realiza movimento ameboide (Figura 4.3).

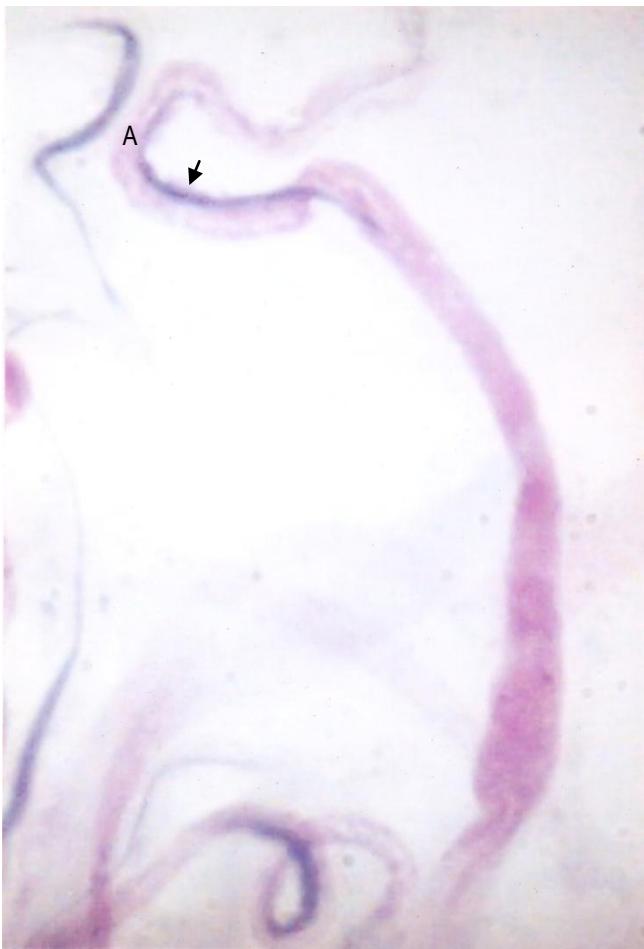


Figura 4.3 - Espermatozoides de carapato. O núcleo alongado foi apontado. Paralelo a ele, não corado, há o acrosomo (A), que é projetado na fertilização. A extremidade oposta, mais dilatada, executa os movimentos ameboídeos (cortesia de Casimiro García Fernández). PAS/H.

Por outro lado, o espermatozoide do peixe-sapo (*Opisamus*) é biflagelado, e o espermatozoide da formiga (*Mastotermes*) é multiflagelado. A maioria dos platelmintos tem espermatozoides com dois flagelos, e, em algumas ordens, há variação na estrutura do axonema, com nenhum ou somente um microtúbulo central (ao invés do par).

Nos mamíferos, o flagelo é constituído pelo axonema, com nove pares periféricos e um par central de microtúbulos. Ao redor do axonema, na porção proximal (peça intermediária), há nove fibras densas externas e a bainha mitocondrial (Figura 4.4). Na porção principal, há sete fibras densas externas e a bainha fibrosa. Na parte terminal do flagelo, há somente o axonema ou microtúbulos isolados (Figura 4.5).

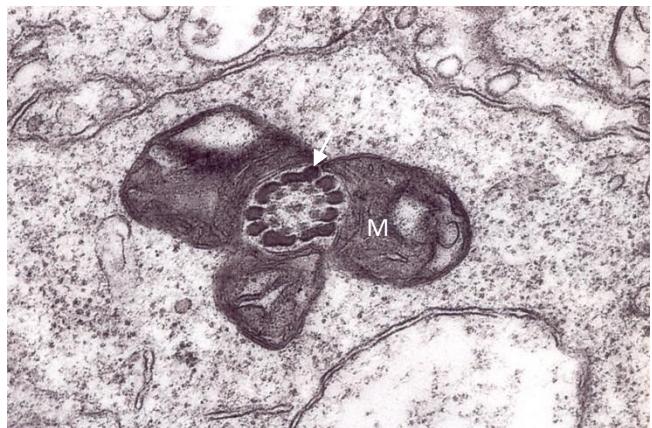


Figura 4.4 - Eletromicrografia de corte transversal da peça intermediária, mostrando a presença de fibras densas externas (←) e de mitocôndrias (M) ao redor do axonema.

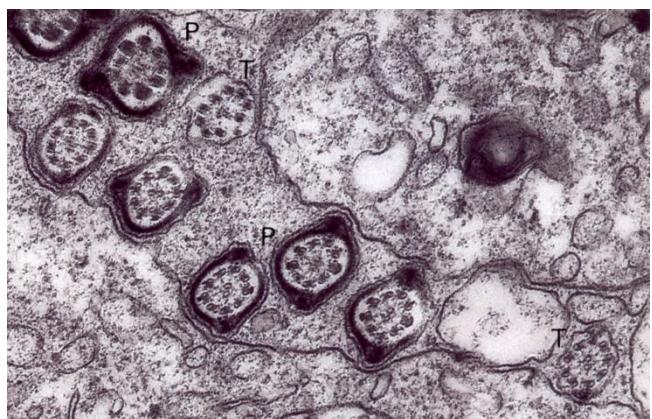


Figura 4.5 - Eletromicrografia de cortes transversais da peça principal (P) e da peça terminal (T).

Nos anfíbios, além do axonema, há uma ou duas fibras axiais interligadas por uma membrana ondulante.

Nos insetos, ao invés das fibras densas externas, nove túbulos acessórios (microtúbulos com 13 a 16 protofilamentos) estão associados com o axonema. Ao invés de uma bainha mitocondrial, há somente uma ou duas longas mitocôndrias paralelas ao axonema (Figuras 4.6 e 4.7).

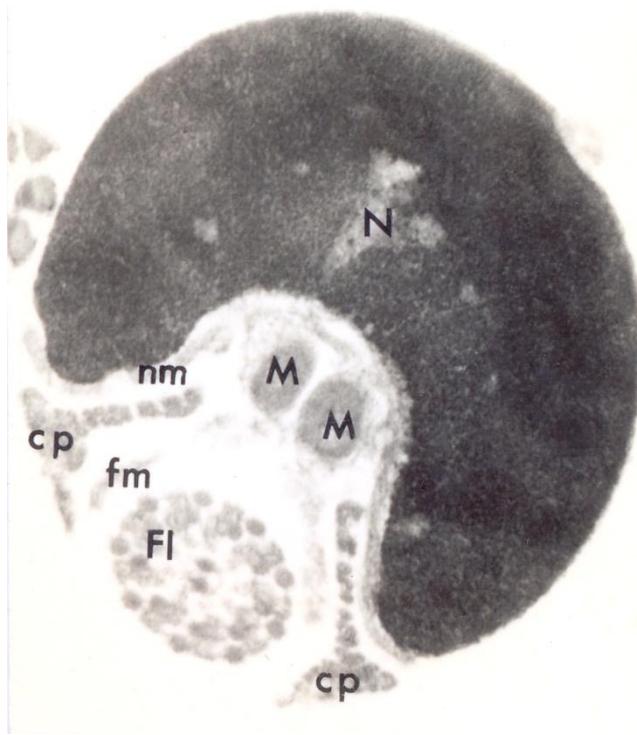


Figura 4.6 - Corte transversal do espermatozoide de grilo (*Acheta domesticus*), onde é possível observar o axonema e os microtúbulos acessórios constituindo o flagelo (Fl) e as duas mitocôndrias (M) paralelas ao flagelo e inseridas em uma concavidade do núcleo (N). nm - envelope nuclear, cp - peça conectora e fm - membrana flagelar (cortesia de Casimiro García Fernández).

2 – VARIABILIDADE DO GAMETA FEMININO

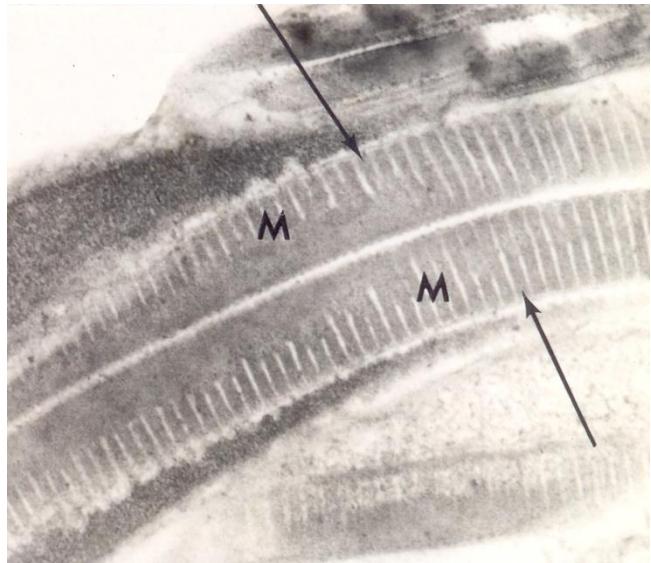


Figura 4.7 - Corte longitudinal do espermatozoide de grilo, onde são visíveis as duas longas mitocôndrias (M e setas), resultantes da fusão mitocondrial (cortesia de Casimiro García Fernández).

2.1 – Organização do ovo

O gameta feminino contém nucléolo proeminente e organelas em abundância para produzir as substâncias necessárias para o desenvolvimento inicial do embrião, quando ele ainda não é capaz de obtê-las do ambiente ou sintetizá-las. Os constituintes podem ser distribuídos desigualmente ao longo do maior eixo do ovo, criando dois polos: o polo animal e o polo vegetal.

Quando presentes, os grânulos de vitelo, uma mistura de carboidratos, lipídios e proteínas, são concentrados no polo vegetal. O núcleo e as demais organelas são deslocados para o polo animal, e os corpúsculos polares liberados daí.

Os grânulos de pigmento, como, por exemplo, de melanina, contidos em ovos depositados em locais iluminados como os de anfíbios, estão no córtex do polo animal para proteger o material genético da radiação ultravioleta.

No córtex do ovo, também há os grânulos corticais, que são exocitados na fertilização para evitar a polispermia, e filamentos de actina, que são responsáveis pela citocinese e pela mudança na forma das células-filhas durante o desenvolvimento.

Nos ovos de insetos, onde o vitelo ocupa uma posição central, não são observados polos animal e vegetal, mas, devido à forma, uma polaridade anteroposterior. O lado mais arredondado do ovo de *Drosophila* será a porção posterior do embrião, e o lado oposto, a porção anterior. O lado convexo será o lado ventral, e o lado côncavo, o dorsal.

2.2 – Tipos de ovos

Segundo a quantidade e a distribuição de vitelo, os ovos são classificados em:

- *ovos alécitos*, sem vitelo. São produzidos pelos mamíferos placentários;
- *ovos oligolécitos*, com pouco vitelo. Ocorrem em muitos invertebrados, como nos platelmintos, nos anelídeos, nos moluscos não céfalópodos, nos equinodermas e nos cordados inferiores (anfioxos e tunicados);
- *ovos mesolécitos*, com uma quantidade moderada de vitelo, o qual se concentra no polo vegetal. São os ovos de peixes, como os ciclostomados, elasmobrânquios, gnoides e peixes pulmonados, e de anfíbios;
- *ovos telolécitos*, ricos em vitelo, sendo que o citoplasma com o núcleo e as demais organelas fica restrito ao polo animal. São encontrados em moluscos céfalópodos e alguns gastrópodos, peixes ósseos, répteis, aves e mamíferos não placentários (ornitorrinco e équidna);
- *ovos centrolécitos*, onde o vitelo ocupa a maior parte do ovo, restando uma região periférica e uma região central de citoplasma sem vitelo, sendo que, nesta última, se localiza o núcleo. É o caso dos ovos dos ctenóforos e dos artrópodos, particularmente dos insetos.

Nos platelmintos, há casos onde o ovo sem vitelo é circundado por células vitelinas dentro de uma cápsula. Ele é denominado ovo ectolécito.

2.3 – Células acessórias

No ovário, além das células germinativas, há células que são importantes na secreção de hormônios, no crescimento do oócito e na formação de camadas que envolvem o ovo. São as *células acessórias*: as células *nurse* (ou trofócitos) e as células foliculares.

As *células nurse* são derivadas da linhagem germinativa e permanecem associadas ao oócito, após as divisões mitóticas, através de pontes citoplasmáticas, devido à citocinese incompleta. Elas são encontradas nas esponjas, nos cnidários, nos ctenóforos, nos anelídeos e nos insetos.

Nos cnidários, as células *nurse* desintegram-se e são incorporadas ao citoplasma do oócito.

Em muitas esponjas, após produzirem o vitelo que se acumula no oócito, as células *nurse* infiltram-se entre as células foliculares e são engolfadas pelo oócito, transferindo suas macromoléculas e organelas. Em outras, o material é transportado das células *nurse* para o oócito por meio de pontes citoplasmáticas.

A *oogênese* em insetos com a presença de células *nurse* é chamada *meroística*. Há dois tipos de ovários meroísticos: ovários politróficos e ovários telotróficos.

Nos ovários *politróficos*, as células *nurse* estão intimamente conectadas com o oócito, e o complexo células *nurse*-oócito está circundado pelas células foliculares (Figura 4.8). *Drosophila melanogaster* é um exemplo de espécie com ovários politróficos. Ela possui um oócito e 15 células *nurse* por câmara de ovo.

Devido à endorreduplicação, as células *nurse* são poliploides, com 1.024 vezes mais DNA que o número haploide, o que possibilita uma intensa transcrição. O RNA, macromoléculas e ribossomas entram no oócito pelas pontes citoplasmáticas. Isso faz com que o gameta cresça rapidamente: o volume citoplasmático aumenta 90.000 vezes em três dias.

O transporte das células *nurse* para o oócito é promovido por diferença no potencial elétrico. O citoplasma do oócito é positivo em relação ao das células *nurse*, fazendo com que as proteínas com carga negativa migrem das células *nurse* para o oócito.

Nos ovários *telotróficos*, na porção anterior de cada ovaríolo, há um grupo de células *nurse* conectado, através de cordões tróficos, aos oócitos situados posteriormente (Figura 4.8). Há também um transporte polarizado de macromoléculas das células *nurse* para os oócitos. As células foliculares delimitam tanto as células *nurse* como os oócitos. Esse tipo de ovário é encontrado nos hemípteros, como, por exemplo, o percevejo (*Rhodnius*), e em alguns coleópteros.

As células foliculares são células somáticas. A membrana plasmática do oócito interdigita-se com aquela das células foliculares, e há a passagem de pequenas substâncias pelas junções comunicantes.

Nos gastrópodos, as células foliculares participam da oogênese, da vitelogênese, da formação dos envoltórios do oócito, da determinação da polaridade do ovo, da ovulação e da produção hormonal.

Nos insetos, as células foliculares estão envolvidas na vitelogênese: captam precursores de vitelo da hemolinfa e transportam para o oócito e, em algumas espécies, podem sintetizá-los. Elas também secretam o envelope vitelino e o córion, envelopes do ovo (Figura 4.8).

Nos mamíferos, as células foliculares (Figura 4.9) passam para o oócito substâncias que contribuem para o seu crescimento e fatores que regulam a oogênese.

2.4 – Envelopes do ovo

O gameta feminino geralmente apresenta camadas acelulares envoltórias que servem para proteção, nutrição e barreira pela qual os espermatozoides devem atravessar. Conforme a sua origem, esses envelopes podem ser classificados em:

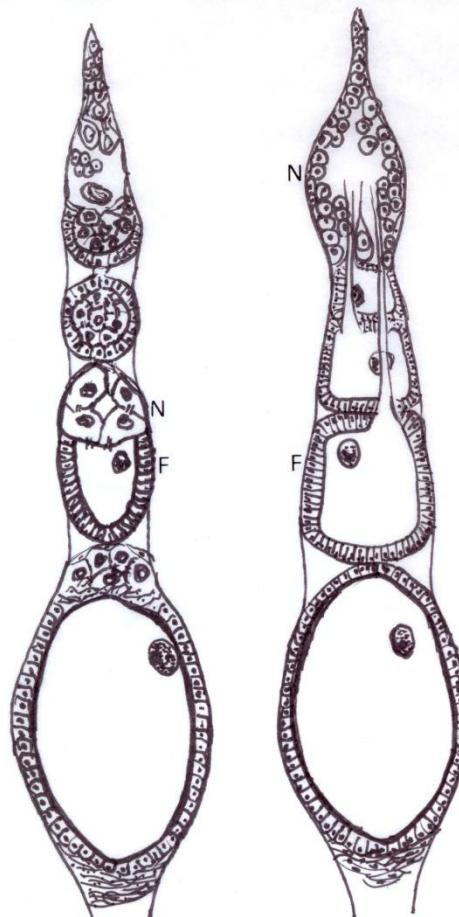


Figura 4.8 - Representação dos ovários politrófico e telotrófico. N – células *nurse*; F – células foliculares. Baseado em Schwalm, F. E. Arthropods: the insects. In: Gilbert, S. F.; Raunio, A. M. **Embryology: constructing the organism**. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.261.

- *envelope primário*, o qual é secretado pelo próprio oócito. Ex: membrana vitelina dos ctenóforos, envelope vitelino e camada gelatinosa em ovos de equinodermos, córion em ovos de peixe, envelope vitelino em ovos de anfíbios, membrana vitelina dos ovos de aves e zona pelúcida em mamíferos (Figura 4.9);

- *envelope secundário*, sintetizado pelas células foliculares. Ex: envelope vitelino e córion em ovos de insetos;

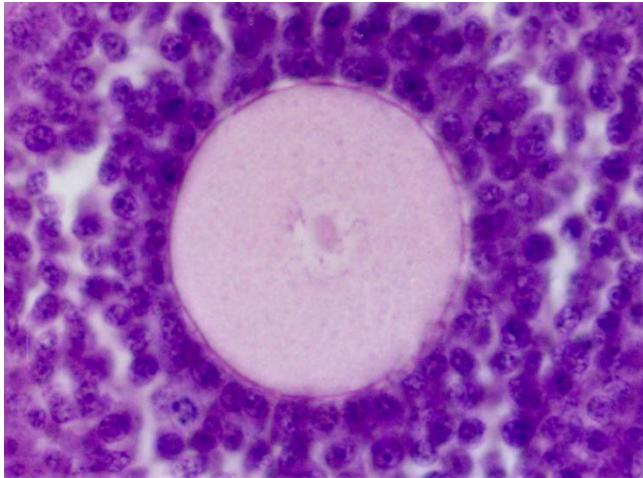


Figura 4.9 - Oócito primário envolto pela zona pelúcida e pelas células foliculares. HE.

- *envelope terciário*, produzido pelas células do trato reprodutor feminino, sendo adicionado ao gameta após a sua ovulação. Ex: camada gelatinosa nos ovos de ctenóforos e de anfíbios, albúmen (clara), membranas interna e externa da casca e casca nos ovos de répteis e aves.

3 – CLIVAGEM

3.1 – Conceito

Com a fertilização, a célula diploide gerada, o zigoto, sofre divisões mitóticas sucessivas, sem a fase de crescimento do ciclo celular. Essas divisões são denominadas *clivagens*, e as células geradas são os blastômeros. Nesse período, portanto, não há um aumento do volume total do embrião.

O citoplasma da célula-mãe é repartido entre as células-filhas até que se restabeleça a razão volume do citoplasma/volume do núcleo das células somáticas, adequada ao metabolismo. O volume citoplasmático do ovo de ouriço-do-mar, por exemplo, é quase 550 vezes àquele de seu núcleo, mas, com essas divisões, passa para seis vezes.

O sulco de clivagem é uma constrição da superfície da célula promovida pelo anel contrátil de filamentos de actina e moléculas de miosina. Ele se situa perpendicular ao eixo longitudinal do fuso mitótico. Os ásteres, mais do que o fuso, controlam a organização do anel contrátil, porque ele se forma mesmo entre os ásteres que não estão conectados pelo fuso.

A membrana plasmática para as células-filhas é proveniente da membrana dos grânulos corticais exocitados na fertilização e incorporados como microvilos ou, em embriões de anfíbios, pela inserção de vesículas citoplasmáticas na região do sulco de clivagem.

3.2 – Classificação

O padrão de clivagem é afetado pela quantidade e pela distribuição do *vitelo*. A concentração de vitelo desloca o fuso mitótico e inibe o progresso do sulco de clivagem.

Nos ovos alécitos e oligolécitos, o fuso mitótico está localizado no centro, e o sulco de clivagem divide o zigoto totalmente em blastômeros de igual tamanho. Essa clivagem é classificada como *total* (ou *holoblástica*) e *igual*.

Nos ovos mesolécitos dos anfíbios, o vitelo localizado no polo vegetal desloca o fuso mitótico para o polo animal, onde inicia a citocinese. O zigoto é dividido totalmente, mas as divisões das células oriundas do polo animal são mais rápidas do que aquelas do polo vegetal, e um número maior de células, bem como um tamanho menor destas, é encontrado. A clivagem é do tipo *total e desigual*.

Nos ovos telolécitos, como os de peixes teleósteos, répteis e aves, devido ao grande acúmulo de vitelo, o fuso mitótico é deslocado para um pequeno disco de citoplasma no polo animal. As clivagens limitam-se a essa região sem vitelo, não havendo a separação completa da célula-mãe. A clivagem é *parcial* (ou *meroblastica*) e *discoidal*.

Nos ovos centrolécitos da maioria dos artrópodos, como, por exemplo, os insetos, a clivagem também é *parcial*. O núcleo sofre ciclos sucessivos de divisão, e a célula torna-se multinucleada, um sincício. Os núcleos migram para a periferia, e a citocinese ocorre entre eles. Por causa disso, a clivagem é dita *superficial*.

O padrão de clivagem também depende da *orientação do fuso mitótico*. Quando ele é perpendicular ou paralelo em relação ao eixo animal-vegetal, a clivagem é *regular*. Quando é inclinado em relação ao eixo animal-vegetal, a clivagem é *oblíqua* (ou *espiral*). A clivagem regular pode ser radial, bilateral ou rotacional.

Na *clivagem radial*, qualquer plano que passa pelo eixo animal-vegetal divide o embrião em metades simétricas. É o caso dos equinodermos (Figura 4.10).

Na *clivagem bilateral*, somente um plano divide o embrião em duas metades simétricas. É exibida pela maioria dos animais, como, por exemplo, os tunicados, os peixes, os anfíbios, os répteis e as aves (Figura 4.10).

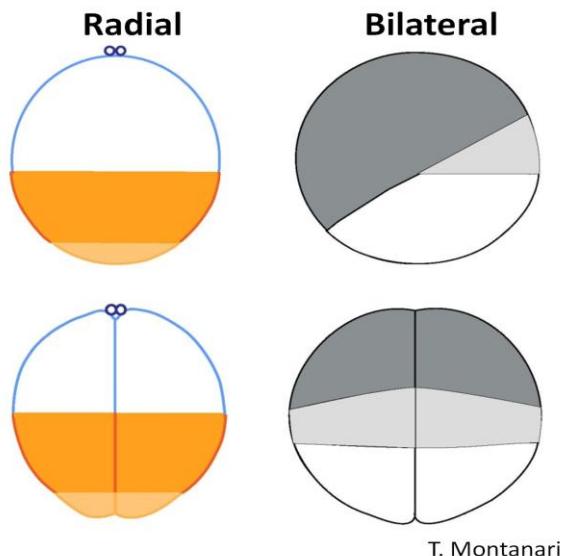
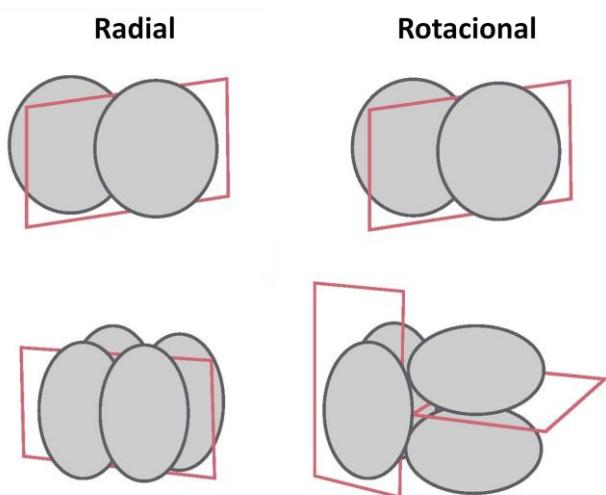


Figura 4.10 - Representação da primeira clivagem de ouriço-do-mar e de anfíbios, que possuem clivagem radial e bilateral, respectivamente.

A *clivagem rotacional* ocorre em ovos de nematódeos e de mamíferos. Na clivagem radial e na bilateral, as primeiras duas clivagens são meridionais (paralelas ao eixo animal-vegetal), enquanto a terceira clivagem é equatorial (perpendicular ao eixo animal-vegetal). Na clivagem rotacional, os planos são diferentes: a primeira clivagem é meridional, mas a segunda clivagem é meridional em uma célula-filha e equatorial noutra (Figura 4.11).

Antes da segunda clivagem, nos nematódeos, o fuso mitótico de um dos blastômeros sofre rotação para uma posição perpendicular em relação ao da outra célula, enquanto, nos mamíferos, um dos blastômeros rota 90° em relação ao outro.



Adaptado de Browder et al., 1991, p.182.

T. Montanari

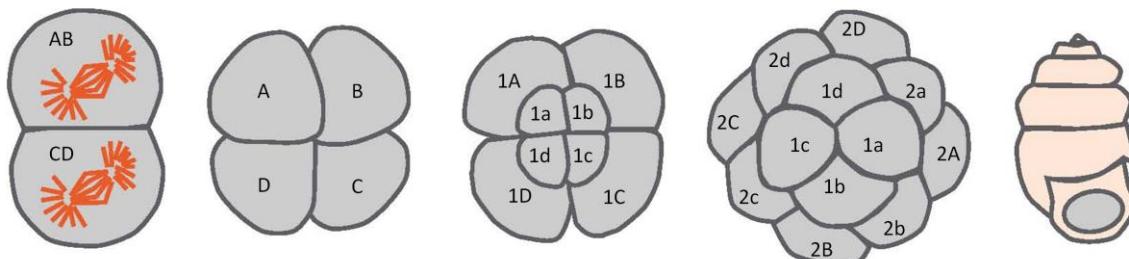
Figura 4.11 - Ilustração comparativa da clivagem radial e da clivagem rotacional.

Anelídeos, moluscos não cefalópodos, alguns platelmintos e vermes nemertinos possuem *clivagem espiral*. O fuso mitótico é orientado obliquamente em relação ao eixo animal-vegetal, e ele se inclina em direções opostas a cada divisão (Figura 4.12).

A primeira clivagem é meridional, mas levemente inclinada. Os dois blastômeros resultantes são chamados de AB e CD. A segunda clivagem é também meridional e inclinada. São formados os blastômeros A, B, C e D, sendo o D a célula maior. A

terceira clivagem é equatorial e desigual. A inclinação é acentuada. Os blastômeros A, B, C e D originam, respectivamente, os macrômberos 1A, 1B, 1C e 1D no polo vegetal e os micrômberos 1a, 1b, 1c e 1d no polo animal (Figura 4.12).

No embrião de oito células, visto pelo polo animal, os micrômberos estão dispostos geralmente no sentido horário, entre os macrômberos-irmãos. Esse deslocamento para a direita dos micrômberos é conhecido como clivagem espiral destra (Figura 4.12). Alguns espiralados exibem clivagem espiral sinistra:



Adaptado de Browder et al., 1991. p. 186.

T. Montanari

Figura 4.12 - Clivagem espiral dos moluscos.

Os padrões de clivagem espiral destra e sinistra (determinados na terceira clivagem) refletem-se na organização do corpo adulto e no enrolamento da concha. Quando a abertura da concha está direcionada para o lado direito, a concha é dita destrógira e, quando para a esquerda, levógira ou sinistrógira. A orientação do fuso mitótico é controlada por fatores citoplasmáticos acumulados durante a oogênese (herança materna) a partir do gene *destro*, que é dominante. Na presença do produto desse gene, a orientação do fuso mitótico é destra, e, na sua ausência, sinistra.

Um mapa conceitual sobre as classificação da clivagem é exibida no Quadro 4.1 e um resumo dos tipos de clivagem apresentados por diferentes grupos de animais é mostrado na Tabela 4.1.

os micrômberos são formados à esquerda dos macrômberos.

Na quarta clivagem, cada macrônemo divide-se no plano equatorial, resultando em um macrônemo no polo animal e um micrônemo no polo vegetal. Assim, as células 1A, 1B, 1C e 1D produzem os macrômberos 2A, 2B, 2C e 2D e os micrômberos 2a, 2b, 2c e 2d (Figura 4.12). Cada micrônemo (1a, 1b, 1c e 1d) divide-se igualmente, formando dois micrômberos. Por exemplo, 1a origina 1a¹e 1a², cujo expoente indica se a célula está presente na camada superior ou inferior.

4 – GASTRULAÇÃO E MOVIMENTOS MORFOGENÉTICOS

4.1 – Estabelecimento do plano corporal e gastrulação

O plano corporal é estabelecido pelo desenvolvimento da simetria e pela gastrulação. A maioria das espécies possui ovos com simetria radial e polaridade no eixo animal-vegetal, enquanto os embriões têm simetria bilateral e polaridade ao longo dos eixos anteroposterior, dorsoventral e esquerdo-direito. Conforme o animal, a polarização pode ocorrer na oogênese, na fertilização, na clivagem ou mais tarde no desenvolvimento. Estímulos externos como a entrada do espermatozoide e a gravidade podem desencadear a polarização em determinados embriões.

Quadro 4.1 - Mapa conceitual da classificação da clivagem.

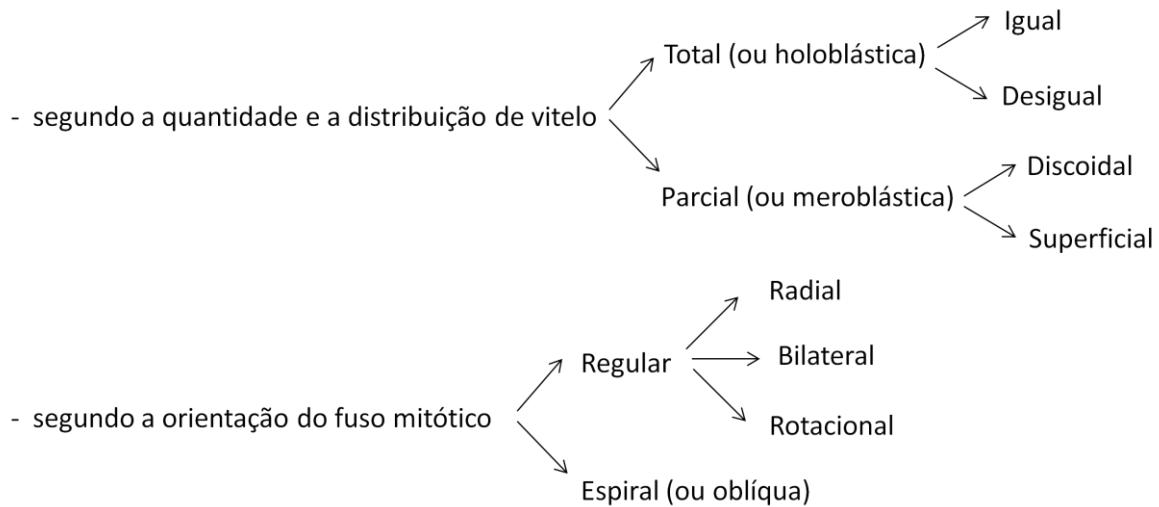


Tabela 4.1 - Resumo dos tipos de clivagem nos diferentes grupos de animais.

Grupos Animais	Tipo de ovo	Clivagem
nematódeos	oligolécito	total, igual e rotacional
platelmintos, nemertinos, anelídeos, moluscos não cefalópodos	oligolécito	total e espiral
maioria dos artrópodos	centrolécito	parcial e superficial
equinodermos	oligolécito	total, igual e radial
tunicados	oligolécito	total, igual e bilateral
anfíbios, peixes pulmonados	mesolécito	total, desigual e bilateral
moluscos cefalópodos, peixes teleósteos, répteis, aves, mamíferos monotremados	telolécito	parcial, discoidal e bilateral
mamíferos placentários	alécito	total, igual e rotacional

Durante as clivagens, os blastômeros diferenciam-se em tipos celulares distintos. Nesse período, as células geralmente não mudam sua posição, mas, depois da blástula formada, tornam-se móveis e migram, estabelecendo os folhetos embrionários. Esse processo é a *gastrulação*.

Nas esponjas e nos cnidários, há duas camadas germinativas, a ectoderme e a endoderme, e são, portanto, diploblásticos. Os demais animais são triploblásticos, isto é, possuem três camadas

germinativas: a ectoderme, a mesoderme e a endoderme.

A *ectoderme* (*ektos* – por fora e *derma* – pele) origina a epiderme e seus anexos e o tecido nervoso. A *mesoderme* (*meso* – meio) dá surgimento ao epitélio que reveste os vasos e as cavidades, ao tecido conjuntivo e ao tecido muscular. A *endoderme* (*endo* – dentro) diferencia-se no epitélio dos sistemas digestório e respiratório.

O destino das camadas germinativas é o mesmo nos diversos grupos de animais, mas pode haver variação em como são originadas. O modo de migração celular depende da quantidade e da distribuição de vitelo. Em animais com ovos oligolécitos, a gastrulação é relativamente simples e é iniciada pelas células oriundas do polo vegetal. Em organismos com ovos mesolécitos, as células do polo vegetal são grandes e cheias de vitelo, e mecanismos alternativos evoluíram para internalizá-las. Nos embriões com ovos telolécitos, a gastrulação acontece em uma área em forma de disco, oriunda do polo animal e onde as clivagens ocorreram.

A gastrulação também depende do número de células do embrião. Por exemplo, em anelídeos, ela inicia no estágio de 30 células e é relativamente simples, enquanto, em anfíbios, os embriões possuem quase 20.000 células e sofrem uma série complexa de rearranjos celulares.

4.2 – Movimentos morfogenéticos

São aqueles movimentos celulares responsáveis pela gastrulação (ou seja, pelo estabelecimento dos folhetos embrionários) e pela forma do embrião.

Na *delaminação*, as células de uma camada originam outra ao se dividirem.

Três movimentos fazem com que a camada se expanda. Na *epibolia*, as células proliferam, achatum-se e migram unidas para recobrir outras. Na *intercalação* (ou *intercalação radial*), as células de diferentes camadas perdem o contato com suas vizinhas e intercalam-se, formando uma camada expandida lateralmente. Na *extensão convergente* (ou *intercalação médio-lateral*), as células de uma camada tornam-se alongadas em uma direção médio-lateral, que é perpendicular ao eixo anteroposterior, e intercalam-se, tornando a camada estreita e longa (Figura 4.13).

Outros três movimentos internalizam as células. Na *invaginação*, como as células estão aderidas por meio de junções de adesão, toda a camada invagina-se

quando as células mudam sua forma de colunar para piramidal pela contração dos filamentos de actina na superfície apical. Na *ingressão*, as células perdem as glicoproteínas de adesão (E-caderinas), adquirem uma forma de garrafa, devido à contração da margem apical pelos filamentos de actina, e migram individualmente. Na *involução*, a camada de células em proliferação dobra-se sobre si mesma e continua a se espalhar na direção oposta (Figura 4.13).

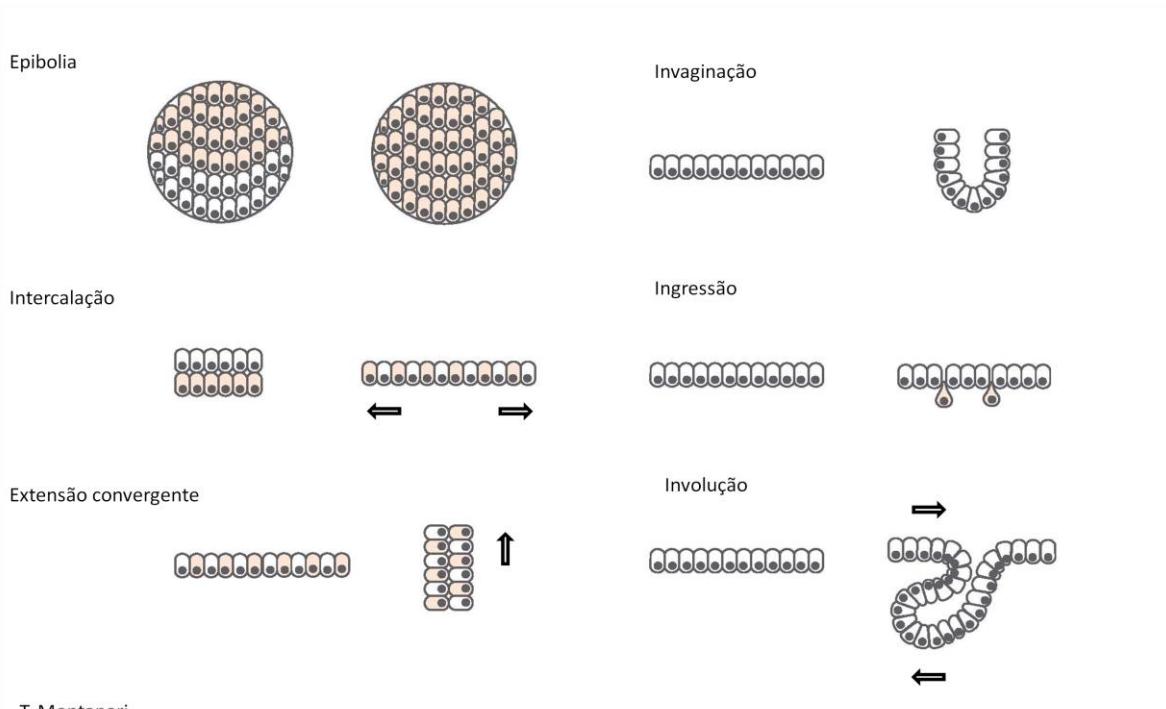
5 – DESENVOLVIMENTO DOS EQUINODERMOS

Tendo em vista a facilidade na obtenção dos gametas e a transparência dos ovos e dos embriões, os equinodermos são excelentes modelos experimentais para o estudo da fertilização e do desenvolvimento embrionário inicial. Muito do conhecimento adquirido sobre esses eventos baseou-se nas investigações com esses animais, especialmente com ouriço-do-mar, fazendo dele um modelo clássico na Embriologia.

5.1 – Tipo de ovo e fertilização

Nos ouriços-do-mar, os gametas são liberados do ovário no estágio de óvulo, enquanto, nos demais equinodermos, são expelidos como óócyto secundário, cuja meiose é completada com a fertilização. O ovo é *oligolécito*. A pequena quantidade de vitelo é suficiente para o rápido desenvolvimento até o estágio larval. Os envoltórios do ovo são o envelope vitelino e a camada gelatinosa.

A fertilização é externa, e os espermatozoides tornam-se móveis quando são liberados na água do mar. Devido à baixa tensão de CO₂ e pH 8,0 desse ambiente, eles sofrem uma troca de H⁺ interno por Na⁺ externo, aumentando o seu pH de 7,2 para 7,6, o que ativa a dineína e, consequentemente, o batimento do flagelo. Presentes na camada gelatinosa, o peptídeo *resact* (*sperm respiratory activating peptide*) atrai os espermatozoides e *speract* (*sperm-activating peptide*) aumenta a sua motilidade, através da saída de H⁺ e a entrada de Na⁺, o que eleva o pH.



T. Montanari

Adaptado de Browder et al., 1991. p. 211.

Figura 4.13 - Movimentos morfogenéticos.

O espermatozoide, por meio de um receptor glicoproteico da membrana, liga-se a uma grande molécula de açúcar sulfatado na camada gelatinosa do ovo, desencadeando a troca de Ca^{2+} externo por K^+ interno, o que produz um acúmulo de Ca^{2+} no espermatozoide, responsável pela fusão da membrana plasmática e da membrana externa do acrossoma: a reação acrossônica. Há a liberação de uma enzima proteolítica que digere a camada gelatinosa.

Além disso, há a troca de Na^+ externo por H^+ interno, o que aumenta o pH intracelular, promovendo a polimerização da actina situada sob a membrana interna do acrossoma. A formação dos filamentos de actina e o aumento da pressão hidrostática, com a entrada de água atraída pelos íons Na^+ , causam a projeção da membrana acrossônica interna no processo acrossônico. Com isso são expostas as proteínas *bindinas* da membrana acrossônica interna, as quais se ligam a glicoproteínas do envelope vitelino, de forma específica da espécie.

Há a fusão das membranas plasmáticas, e, através dessa ponte citoplasmática (cone de fecundação), entram o núcleo e o flagelo do espermatozoide no gameta feminino. A polispermia é evitada pela despolarização da membrana plasmática do ovo e, em seguida, pela reação cortical. A exocitose de enzimas e glicosaminoglicanos dos grânulos corticais impede a entrada de outros espermatozoides pela modificação do envelope vitelino em membrana de fertilização e pelo afastamento desta da membrana plasmática.

A fusão dos pronúcleos masculino e feminino é mediada pelos microtúbulos do áster formado a partir dos centríolos do espermatozoide.

No ouriço-do-mar *Paracentrotus lividus*, o pigmento amarelo-alaranjado do ovo virgem concentra-se em um anel subequatorial após a fecundação.

A incubação dos ovos fertilizados pode ocorrer internamente em cavidades ou externamente na parede do corpo, por exemplo, entre os espinhos.

5.2 – Clivagem

A clivagem é *total e radial*. O primeiro plano de clivagem é meridional (paralelo ao eixo animal-vegetal) e divide o zigoto em duas células. O segundo plano de clivagem também é meridional, mas perpendicular ao anterior e origina quatro células-filhas. O terceiro plano de clivagem é equatorial (transversal) e resulta um embrião com oito células, sendo quatro oriundas do polo animal e quatro do polo vegetal do ovo (Figuras 4.14A-D).

Nos equinodermos cujas larvas não se alimentam, como nas estrelas-do-mar, nos pepinos-do-mar e em algumas espécies de ouriço-do-mar, a quarta clivagem é meridional, a quinta é equatorial e a sexta, meridional, sendo produzidos blastômeros de igual tamanho (*clivagem igual*).

Na maior parte das espécies de ouriço-do-mar (cujas larvas se alimentam), a quarta clivagem é meridional nas células provenientes do polo animal e equatorial, mas *desigual* (latitudinal) naquelas do polo vegetal. As células oriundas do polo animal são os *mesômeros*, enquanto as células do polo vegetal, devido à diferença de tamanho, são os *macrômeros* e os *micrômeros*. As 16 células geradas são distribuídas em três camadas, contendo oito mesômeros, quatro macrômeros e quatro micrômeros (Figura 4.14E). Os macrômeros situam-se em nível do anel amarelo-alaranjado inicial em *P. lividus*.

A quinta clivagem é equatorial nos mesômeros e meridional nos macrômeros (os micrômeros não se dividem) (Figura 4.14F). Na sexta clivagem, sucederá o inverso: a divisão será meridional nos mesômeros e equatorial nos macrômeros. Os micrômeros finalmente dividem-se, mas de forma desigual (latitudinal), sendo maiores aqueles da camada superior. O embrião fica constituído de duas camadas de 16 mesômeros (an1 e an2), duas camadas de oito macrômeros (veg1 e veg2) e duas camadas de quatro micrômeros, totalizando 56 células (Figura 4.14G).

As divisões celulares continuam. Com a criação de uma cavidade, a blastocele, o embrião é chamado *blástula* (Figuras 4.14H e 4.15). As células aderem-se umas às outras por junções de adesão, um processo

denominado compactação. Na superfície apical, há formação de cílios, e, na superfície basal, organiza-se a lâmina basal, cujos constituintes foram sintetizados na oogênese, armazenados em vesículas e agora exocitados. A blastocele é preenchida com uma matriz fibrosa, contínua com a lâmina basal.

A membrana de fertilização é digerida por enzimas, e a blástula nada por meio dos cílios (Figura 4.14H). Esse estágio é atingido 24h após a fecundação à temperatura de 20°C.

5.3 – Gastrulação

Inicia com o achatamento de células provenientes do polo vegetal. Essa região achatada é denominada placa vegetal. Nos ouriços-do-mar, os micrômeros da camada superior (os maiores) migram por *ingressão* da placa vegetal para a blastocele (Figura 4.14I). Da forma em garrafa, adquirem uma aspecto estrelado com prolongamentos usados na migração pela matriz da blastocele. Eles são agora chamados células mesenquimais primárias.

Os macrômeros da placa vegetal também mudam sua forma, tornam-se piramidais, mas, como continuam aderidos uns aos outros, há a *invaginação* da camada para a blastocele, originando o arquêntero. A abertura do arquêntero para o exterior é o blastóporo (Figuras 4.14J e 4.15). Algumas células situadas nas bordas (lábios) do blastóporo sofrem *involução*.

Durante a internalização das células do polo vegetal (veg2), as células oriundas do polo animal (an1 e an2) proliferam e espalham-se para a porção inferior do embrião, por *epibolia*. Essas células e aquelas da camada vegetativa superior (veg1) constituirão o ectoderma, que derivará o epitélio de revestimento externo (Figuras 4.14I-K).

As células mesenquimais primárias, através da adesão dos seus filopódios à lâmina basal, migram até encontrarem uma área de maior adesão (haptotaxia) que se situa ao redor da base do arquêntero. Os filopódios fundem-se, e as células mesenquimais primárias organizam-se em cordões multinucleados,

onde há a deposição de carbonato de cálcio, formando espículas calcárias, o esqueleto larval (Figuras 4.14J-K e 4.15).

As células do arquêntero movimentam-se por *intercalação* e alongam o tubo. Aquelas do fundo do arquêntero, oriundas dos macrômeros, emitem longos filopódios que se aderem à superfície interna da parede da gástrula. Depois, ao se contrair, contribuem para o alongamento final do arquêntero. Com a ponta do arquêntero próxima à parede da gástrula, essas células, denominadas células mesenquimais secundárias, sofrem *ingressão* para a blastocele e diferenciam-se em células musculares e pigmentares e celomócitos, de função desconhecida (Figuras 4.14J-K e 4.15).

Brotamentos do fundo do arquêntero, com células provenientes dos macrômeros e dos micrômeros menores, geram os sacos celômicos direito e esquerdo (Figura 4.14J). Eles se dividem na protocele (anterior), mesocele (intermediária) e metacele (posterior). A protocele e a mesocele esquerdas formam o sistema hidrovascular do adulto; a protocele e a mesocele direitas degeneram, e as metaceles produzem o mesentério e o celoma, ou seja, o revestimento interno e a cavidade corporal, respectivamente.

A presença de celoma é uma aquisição importante no desenvolvimento dos organismos. A estrutura de um tubo dentro de outro, sendo os dois separados por um espaço com fluido confere proteção mecânica aos órgãos internos, isolando-os das pressões do ambiente sobre a parede corporal.

O arquêntero, constituído por endoderma, deriva o epitélio do tubo digestório, que consiste em faringe, estômago e intestino. O blastóporo torna-se o ânus, enquanto, no lado oposto, na ponta de contato entre o fundo do arquêntero e a parede da gástrula, a boca é formada (Figuras 4.14K e 4.15).

Pela origem secundária da boca, os equinodermos são agrupados junto com os cordados como

deuterostomos (do grego *deuteros* – segundo e *stoma* – boca). Os protostomos (do grego *protos* – primeiro e *stoma* – boca) são aqueles animais cujo blastóporo desenvolve a boca. São exemplos os anelídeos, os moluscos e os artrópodos.

Três dias após a fertilização, à temperatura de 20°C, está formada a larva plúteo do ouriço-do-mar, capaz de se alimentar de fitoplâncton. As células oriundas do polo animal diferenciaram-se no ectoderma, enquanto as do polo vegetal produziram descendentes dos três folhetos embrionários. O *ectoderma* originou o epitélio de revestimento externo (a epiderme) e os neurônios. O *mesoderma* derivou o revestimento do celoma, as células musculares que circundam a faringe, as células pigmentares que invadem a epiderme e o esqueleto calcário que sustenta os braços da larva, aumentando a eficiência na alimentação. O *endoderma* do arquêntero tornou-se o epitélio do tubo digestório (Figuras 4.14K e 4.15).

Nas estrelas-do-mar, a larva é denominada bipinária e, nos pepinos-do-mar, auriculária.

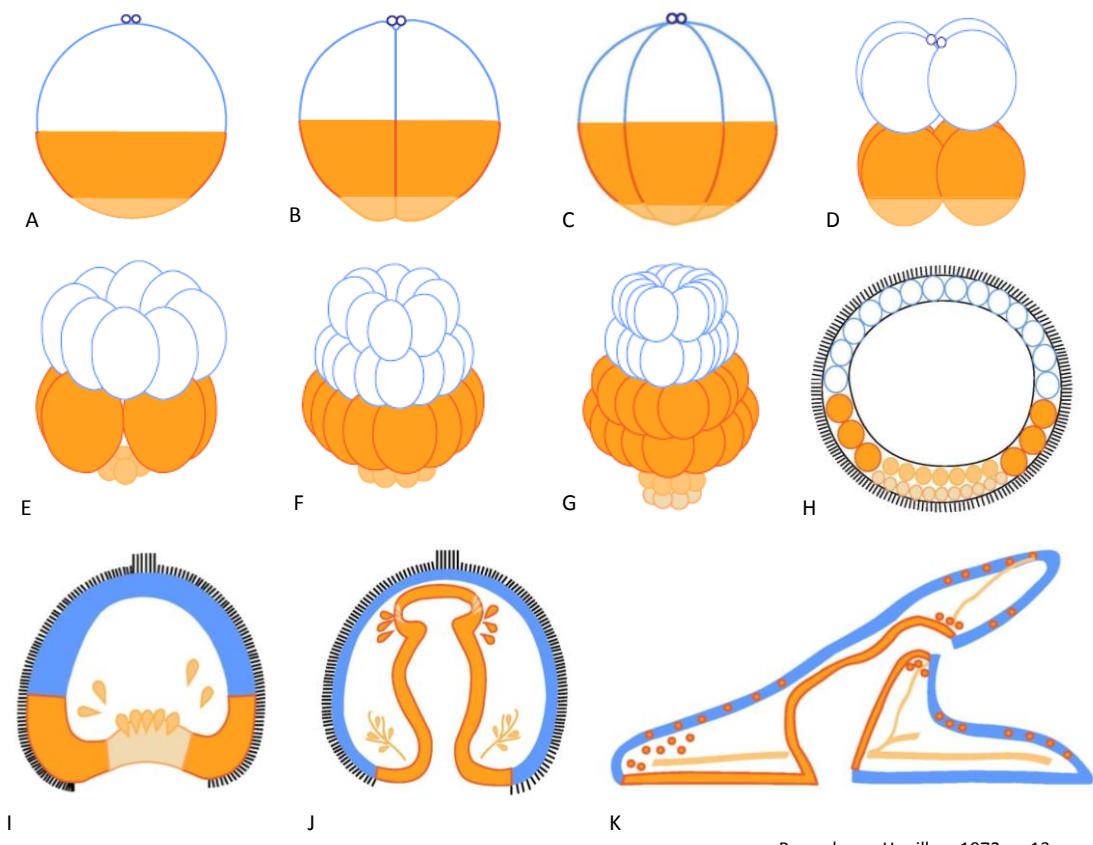
O desenvolvimento do ouriço-do-mar é regulado até o estágio de quatro blastômeros. Driesch (1892) obteve larvas plúteos normais a partir de blastômeros isolados de embriões de duas e de quatro células. O biólogo sueco Sven Hörstadius (1939) ainda observou larvas normais desenvolvidas de metades do embrião de oito células, contendo dois blastômeros oriundos do polo animal e dois blastômeros do polo vegetal. Contudo não as encontrou quando separou o embrião de oito células no plano equatorial, isolando as células provenientes do polo animal daquelas do polo vegetal. A metade animal originou uma blástula esférica, bastante ciliada (dauerblástula ou embrião animalizado), e a metade vegetal, uma larva com braços orais reduzidos e intestino aumentado (plúteo vegetalizado).

Experimentos de isolamento e recombinação dos blastômeros mostraram a existência de interações celulares que induzem ou inibem a diferenciação, sendo que, diferente dos macrômeros e dos mesômeros, o destino dos micrômeros é predeterminado e não depende dos demais blastômeros. Os macrômeros inibem a diferenciação não ectodérmica dos mesômeros, e interações entre os mesômeros reforçam essa inibição.

Os micrômeros induzem a determinação endodérmica (intestino) dos macrômeros, enquanto suprimem as características de células esqueletogênicas. Quando os micrômeros foram retirados do embrião de 16 células, descendentes dos macrômeros diferenciaram-se nas células mesenquimais primárias e sintetizaram as espículas calcárias. Quando mantidos juntos com os micrômeros, os mesômeros produziram células endodérmicas (intestino) e células mesenquimais secundárias, como as células pigmentares.

Na quarta clivagem, um centro organizador é estabelecido nos micrômeros pelo acúmulo e pela atividade dos fatores de transcrição maternos β -catenina e Otx. A β -catenina, além de ter um papel na adesão celular, realiza regulação gênica. Esses fatores ativam a transcrição do gene *pmar1*, que codifica um repressor

transcional, de modo a ocorrer a ativação dos genes responsáveis pelo destino esqueletogênico dos micrômeros. A proteína de sinalização Wnt-8, inicialmente secretada nos micrômeros após a quarta clivagem, age nos micrômeros, mantendo a estabilização da β -catenina. Posteriormente, atuando nas células da camada Veg2, controla a especificação do endoderma nas células da camada adjacente Veg1. Outro sinal induz o destino endomesodérmico nas células da camada Veg2 entre a quarta e a sexta clivagens, e um segundo sinal (Delta), produzido após a sétima clivagem, age no receptor Notch nas células Veg2 para especificá-las como células mesenquimais secundárias. Em estágios mais tardios, a sinalização Notch-Delta está envolvida na especificação do endoderma e no estabelecimento do limite endoderma-ectoderma.



T. G. Loureiro , E. Leite e T. Montanari

Baseado em Houillon, 1972. p. 13.

Figura 4.14 - Representação do desenvolvimento do ouriço-do-mar. A - zigoto (os corpúsculos polares são liberados pelo polo animal); B a G - primeira a sexta clivagens; H - corte da blástula. I - corte da gástrula inicial. J - corte da gástrula final. K - vista lateral da larva plúteo.

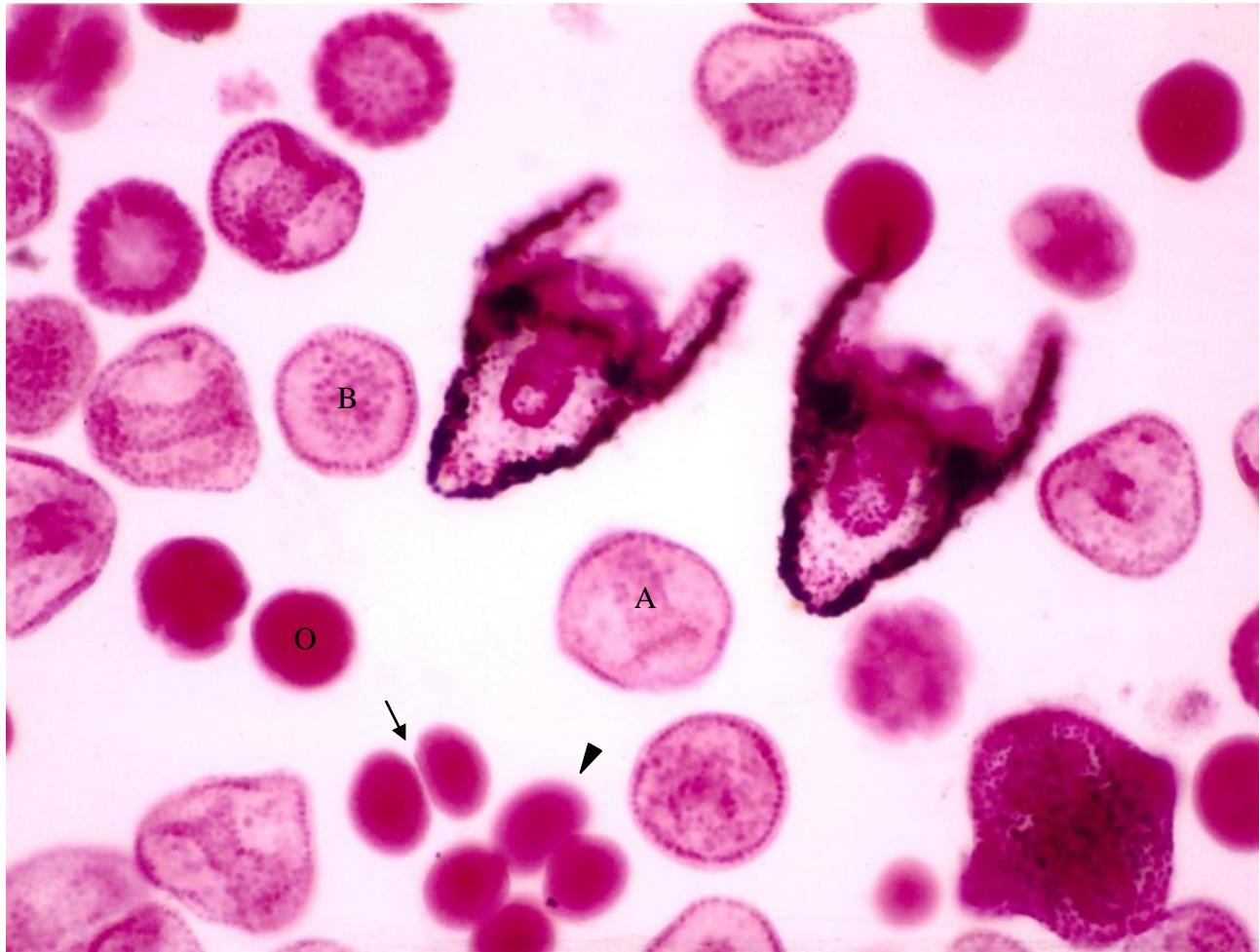


Figura 4.15 - Fotomicrografia exibindo várias fases do desenvolvimento embrionário de ouriço-do-mar. Os ovos (O) são densamente corados. Embrião de duas células (→), resultante da primeira clivagem meridional, e embriões com um número maior de células (►) são apontados. A blástula é reconhecida pela forma esférica, com uma camada de células e a blastocele no interior (B). A gástrula é achatada na parte ventral e possui o arquêntero (A). Na larva plúteo, o arquêntero originou o tubo digestório, e o esqueleto calcário, corado em preto, sustenta os braços.

O eixo oral-aboral define o plano de simetria bilateral na larva. No ouriço-do-mar *Strongylocentrotus purpuratus*, o futuro eixo oral-aboral é estabelecido em um ângulo de 45° no sentido horário em relação ao primeiro plano de clivagem, tendo como referência o polo animal. Em outras espécies, esse eixo pode coincidir com o plano de clivagem ou formar ângulos retos com ele.

No estágio de clivagem de 60 para 120 células, há a expressão da nodal, um membro da família TGF-β, na

região de células que se diferenciarão no ectoderma oral. Isso leva à expressão dos genes *goosecoid* e *Brachyury* e à produção de proteínas morfogenéticas do osso (BMP)-2/4 da família TGF-β. A sinalização da nodal é importante para a organização e padronização do eixo. Se sua atividade for bloqueada, os ectodermas oral e aboral não se tornam especificados. Em contrapartida, a superexpressão de nodal converte todo o ectoderma em oral. O ectoderma oral origina as células do estomodeu (boca), a epiderme oral e as estruturas neurogênicas da larva.

6 – DESENVOLVIMENTO DOS PROTOCORDADOS

O filo Chordata inclui três subfilos: Tunicata ou Urochordata (ascídias e salpas), Cephalochordata (anfioxos) e Vertebrata (peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos). Os cordados caracterizam-se pela presença de notocorda (pelo menos na fase embrionária), de musculatura associada a ela e de um tubo nervoso dorsal.

A notocorda é um bastão flexível disposto ao longo do corpo, que promove a ondulação do animal por antagonizar a contração da musculatura durante o deslocamento. Nos urocordados, ela está restrita à fase larval e à cauda, enquanto permanece no adulto e se distende até a cabeça nos cefalocordados.

Os tunicados e os anfioxos são conhecidos como protocordados, devido à simplicidade do plano corporal comparado àquele dos vertebrados.

Atualmente são conhecidas 25 espécies de anfioxos, mas, no Brasil, é possível que ocorra uma única espécie: *Brachistoma platae* Hubbs. Os anfioxos são translúcidos e de aspecto pisciforme. Não possuem esqueleto, e a notocorda dá sustentação ao corpo. As ascídias adultas são animais marinhos sésseis, em forma de saco, mas, no estágio larval, possuem vida livre, com notocorda, tubo neural e músculo.

6.1 – Tipo de ovo e fertilização

Os anfioxos são dioicos. Durante o período reprodutivo, as gônadas podem ser vistas por transparência no animal como duas fileiras paralelas ao longo da margem ventral. Os machos apresentam uma massa uniforme, enquanto as gônadas das fêmeas estão preenchidas por óvulos esféricos. Quando a maturidade sexual é atingida, os gametas são expelidos para o mar.

As ascídias são hermafroditas: os folículos do testículo estão em torno do ovário central. A

autofecundação, no entanto, é geralmente evitada. As ascídias são ovíparas ou vivíparas, com diferentes graus de proteção na incubação dos embriões.

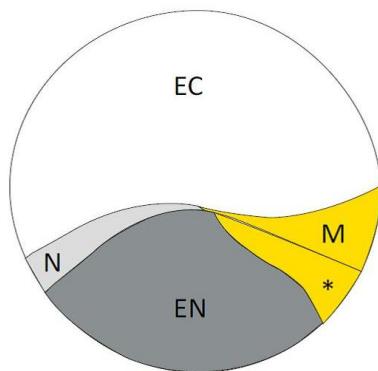
Tanto nos anfioxos como nas ascídias, o gameta feminino encontra-se no estágio de óócyto secundário, interrompido na metáfase quando é fecundado. O ovo é *oligolécito* e radialmente simétrico, mas, quando ocorre a fecundação, há um rearranjo do conteúdo citoplasmático e se estabelece a simetria bilateral.

O ovo dos anfioxos, no início da clivagem, apresenta três regiões: polo animal, mais transparente; polo vegetal, que contém o vitelo e tem afinidade por corantes aniônicos, e o *crescente mesodérmico*, uma região em meia-lua, abaixo do equador, que se cora com corantes catiônicos. A área do futuro mesoderma contorna o equador, sendo o crescente mesodérmico (posicionado em um lado do ovo) precursor do tecido muscular e havendo outro crescente no lado oposto que derivará a notocorda.

Em algumas ascídias, o equivalente do crescente mesodérmico é o *crescente amarelo*, assim denominado pela coloração produzida por grânulos de pigmento, lipídios e mitocôndrias. É também chamado *mioplasma* pela presença de filamentos de actina e microtúbulos, responsáveis pela segregação, que, além de pigmento, inclui RNA para o músculo (Figura 4.16).

O RNAm de *macho1* está localizado no mioplasma, e sua remoção resulta em perda das células musculares na cauda. Em contrapartida, a injeção desse RNAm em linhagens celulares não musculares causa diferenciação muscular ectópica.

A segregação promovida pelo citoesqueleto forma, no lado oposto do crescente amarelo, um crescente cinza claro que deriva a notocorda (Figura 4.16). Ele contrasta com a transparência do citoplasma no polo animal e com os grânulos de vitelo cinza-ardósia do polo vegetal.



E. Leite e T. Montanari

Segundo Satoh, N. **Developmental Biology of ascidians**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994 apud Jeffery, W. K.; Swalla, B. J. *Tunicates*. In: Gilbert e Raunio, 1997. p. 346.

Figura 4.16 - Desenho do ovo de ascídia, onde são marcadas as regiões responsáveis pelo ectoderma (EC), pelo endoderma (EN) e pelo mesoderma, sendo esta composta pelo crescente que deriva a notocorda (N) e pelo crescente amarelo, que se diferencia em músculo (M) e em mesênquima (*), um tecido conjuntivo primitivo.

Como no ovo de ouriço-do-mar, há um acúmulo de β -catenina na região vegetal do ovo de ascídia, que especifica o desenvolvimento de endoderma. Ao passo que, na região animal, há supressão da atividade da β -catenina, levando a um desenvolvimento de ectoderma.

Durante a segregação ooplástica, os eixos dorsoventral e anteroposterior são especificados por determinantes citoplasmáticos. O eixo dorsoventral é paralelo ao eixo animal-vegetal, sendo que a região do polo vegetal será o lado dorsal do embrião. O eixo anteroposterior é perpendicular ao eixo dorsoventral. A região do crescente amarelo será a parte posterior do embrião.

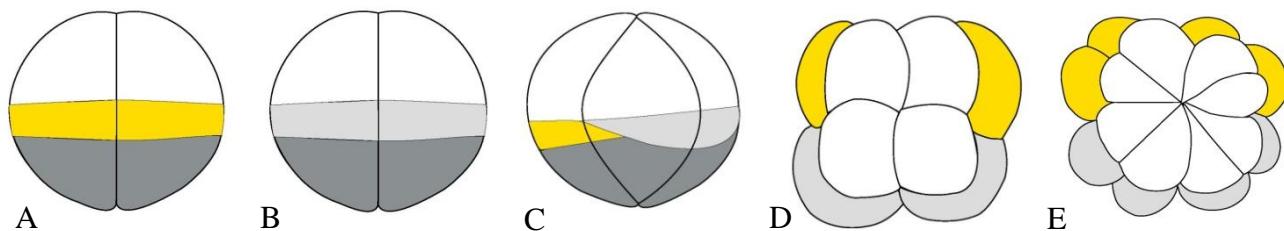
A migração dos fatores maternos é promovida pelo rearranjo de microtúbulos direcionados pelo centrossoma do espermatozoide, assim o ponto de entrada do espermatozoide determina o lado posterior nas ascídias.

6.2 – Clivagem

A clivagem inicia em torno de 1h após a fertilização. A primeira clivagem é meridional e coincide com o plano de simetria bilateral, dividindo o ovo em duas células-filhas, cada uma delas com a metade do crescente mesodérmico (ou crescente amarelo nas ascídias) (Figuras 4.17A-B). A segunda clivagem é também meridional, mas perpendicular à primeira (Figura 4.17C). A terceira clivagem é equatorial, suprajacente ao crescente mesodérmico (ou amarelo), e a quarta clivagem é meridional (Figuras 4.17D-E). A quinta clivagem é equatorial, e as clivagens seguintes alternam-se nos planos meridional e equatorial.

Como os sulcos de clivagens dividem totalmente as células, formando, no início, blastômeros de igual tamanho, a *clivagem* é dita *total e igual*. Ainda é *bilateral*, porque, devido ao crescente mesodérmico (ou amarelo), há somente um plano de clivagem que resulta em metades simétricas do embrião.

À medida que ocorrem as clivagens, blastômeros de diferentes tamanhos são formados: as células do polo vegetal tornam-se maiores que as do polo animal, tendo-se macrômeros e micrômeros, respectivamente.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Conklin, E. G. J. *Morph.*, v. 54, p. 69, 1932 apud Rugh, R. *Laboratory manual of vertebrate Embryology*. Minneapolis: Burgess, 1962. p. 20.

Figura 4.17 - Representação da clivagem do anfioxo: A e B - a primeira clivagem é meridional e coincide com o plano de simetria bilateral, dividindo o crescente que origina a notocorda e o crescente mesodérmico (crescente amarelo nas ascídias); C - a segunda clivagem é meridional, perpendicular à primeira; D - a terceira clivagem é equatorial, e E - a quarta clivagem é meridional (D e E são vistas de cima dos embriões, ou seja, pelo polo animal. O crescente mesodérmico ou amarelo localiza-se no futuro lado posterior do embrião).

Enquanto, nas ascídias, os blastômeros ficam bastante empacotados, no embrião com oito células dos anfioxos, inicia a formação da blastocele.

6.3 – Gastrulação e neurulação

A *blástula* do anfioxo é uma esfera com uma camada celular ciliada, circundando a blastocele. A região com células oriundas do polo vegetal do ovo achata-se e sofre *invaginação*, obliterando a blastocele. O embrião adquire uma forma em cálice, com parede dupla (Figuras 4.18A-B). A nova cavidade é o arquêntero, e sua abertura é o blastóporo. Suas bordas são os lábios do blastóporo.

No lábio dorsal, há as células do crescente que derivarão a notocorda, enquanto as células do crescente mesodérmico (ou amarelo) posicionam-se nos lábios laterais e ventral. As células do lábio dorsal do blastóporo sofrem *involução*, e as células dos lábios laterais realizam *involução e extensão convergente* para a superfície dorsal, ao lado da notocorda. O embrião alonga-se no eixo anteroposterior (Figuras 4.18B-D).

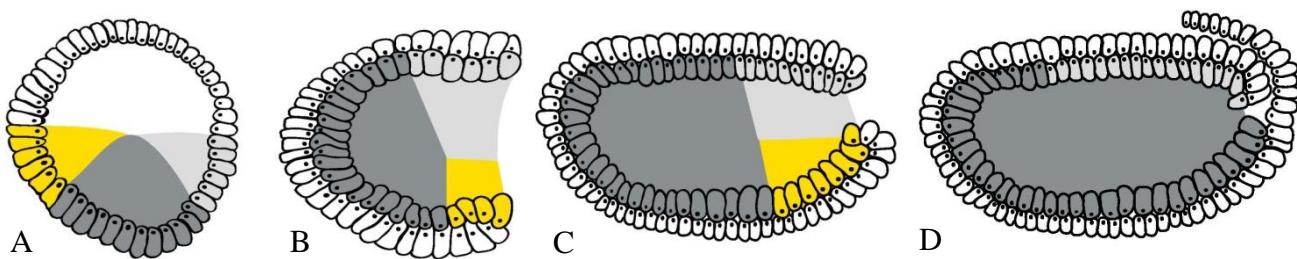
O revestimento externo do embrião fica formado somente por células do polo animal, e o arquêntero, por células do polo vegetal e, na sua porção superior,

pelas células da notocorda e do crescente mesodérmico ou amarelo (Figuras 4.18D e 4.19A). A *notocorda* é uma estrutura em bastão de material mesodérmico. Além de ser o eixo de sustentação do anfioxo e dos demais organismos do filo Chordata, participa da formação do sistema nervoso. Ela induz as células ectodérmicas suprajacentes a se diferenciarem na placa neural (Figura 4.19B).

As células do polo animal continuam a proliferar e sofrem *epibolia*, colocando-se por cima do blastóporo e da placa neural. Originarão o *ectoderma*, e este, por sua vez, será o epitélio de revestimento externo, ou seja, a epiderme (Figuras 4.18D e 4.19B-C). A placa neural invagina-se e fecha-se no *tubo neural*, que se transforma no cordão nervoso dorsal (Figuras 4.19B-C e 4.20).

O *mesoderma* ao lado da notocorda condensa-se em blocos, os *somitos*, os quais originarão os músculos (Figuras 4.19B-C). O restante do mesoderma interpõe-se entre o ectoderma e o endoderma, e a sua delaminação produz o *celoma*, futura cavidade corporal. Nas ascídias, não há celoma e o mesoderma deriva também mesênquima (tecido conjuntivo primitivo).

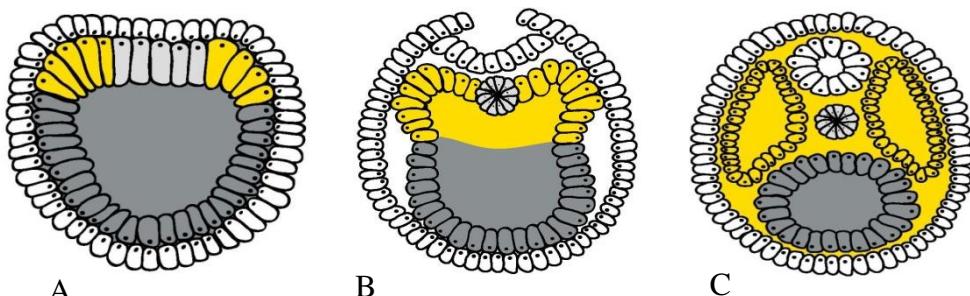
As células oriundas do polo vegetal passam a revestir todo o arquêntero e constituem o *endoderma*, que se diferencia no epitélio do tubo digestório (Figuras 4.19B-C e 4.20).



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Conklin, 1932 apud Rugh, 1962. p. 21 e apud Browder et al., 1991. prancha 4.

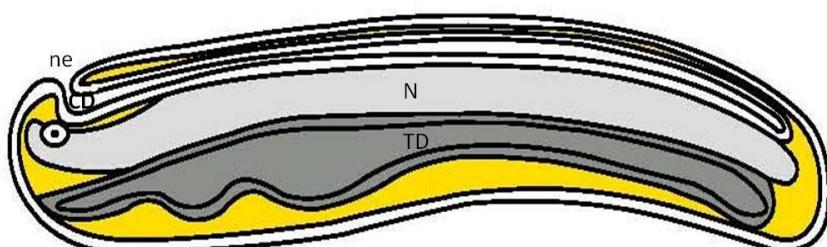
Figura 4.18 - Representação da gastrulação do anfioxo. A - corte da blástula; B a D - cortes medianos da gástrula sofrendo invaginação, involução, extensão convergente e epibolia.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Conklin, 1932 apud Rugh, 1962. p. 18 e apud Browder et al., 1991. prancha 5.

Figura 4.19 - Representação da neurulação do anfioxo: A a C - cortes transversais da gástrula, onde se visualizam a diferenciação da notocorda, a indução promovida pela notocorda do ectoderma em placa neural, o fechamento da placa neural em tubo neural e a epibolia do ectoderma de revestimento. Ocorre ainda a formação do tubo digestório e dos somitos.



E. Leite e T. Montanari

Baseado em Conklin, 1932 apud Browder et al., 1991. prancha 5 e em Ruppert, E. E.; Fox, R. S.; Barnes, R. D. *Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva*. 7.ed. São Paulo: Roca: 2005. p. 1084-95.

Figura 4.20 - Esquema da larva exibindo o cordão nervoso (CD), o neuróporo (ne), a notocorda (N) e o tubo digestório (TD).

Enquanto o destino em músculo está pré-determinado no mesoderma, a especificação em mesênquima e em notocorda requer sinais indutores de células adjacentes, como o fator de crescimento de fibroblasto (FGF de *fibroblast growth factor*) proveniente do endoderma. No estágio em que a indução da notocorda está completa (64 células), há a expressão do homólogo de *Brachyury* nos precursores da linhagem da notocorda. A expressão ectópica desse gene transforma endoderma em notocorda.

6.4 – Estágio larval

A eclosão da larva de ascídias ocorre 12 a 36h após a fecundação e é mediada por enzimas proteolíticas secretadas pela larva. Dependendo da espécie, ela nada por alguns minutos ou por vários dias até se fixar e sofrer metamorfose.

A larva não se alimenta, e o estágio larval é importante para a dispersão dos animais. A larva inicialmente desloca-se com o auxílio dos cílios, mas, com o desenvolvimento da musculatura, passa a utilizá-la como força de propulsão.

Nas larvas das ascídias, a formação da cauda é proporcionada pelo alongamento da notocorda por *intercalação*. A síntese de matriz extracelular confere flexibilidade à notocorda para o nado. A musculatura da cauda é estabelecida. Na metamorfose para o adulto, a larva adere ao substrato, e a cauda degenera por apoptose e é reabsorvida. Os sifões (oral e anal) abrem-se, e a larva comece a se alimentar. A metamorfose leva, pelo menos, cinco dias.

7 – DESENVOLVIMENTO DOS ANFÍBIOS

Os equinodermos e os cordados inferiores apresentam ovo oligolécito e blástula de uma camada de células, cuja gastrulação é simples e rápida. Os anfíbios, os peixes, os répteis e as aves possuem ovos com uma maior quantidade de vitelo, e a blástula é mais complexa. Por causa da presença do vitelo, a gastrulação é diferente.

7.1 – Tipo de ovo e fertilização

Como em outros vertebrados, a ovulação nos anfíbios consiste na liberação do ovário de um ócito secundário, cuja metáfase da segunda meióse é interrompida até a fecundação. O ovo é *mesolécito* e apresenta um polo animal, onde se situam o núcleo, as organelas e o pigmento melanina (quando presente), e um polo vegetal, com vitelo.

A vitelogenina, precursora do vitelo, é produzida no fígado, estimulado pelo estrógeno secretado pelas células foliculares. Ela é transportada pela corrente sanguínea para os ovários. Dos capilares da teca folicular, a vitelogenina difunde-se até a superfície dos ócitos, onde se liga aos receptores no glicocálix e é endocitada. Quando a vitelogênese termina, as gonadotrofinas e a progesterona sintetizada pelas células foliculares promovem a maturação meiótica e a ovulação.

Os envoltórios do ovo são o envelope vitelino, secretado pelo próprio ócito, e a camada gelatinosa, rica em glicosaminoglicanos, produzida pelo oviduto.

Na maioria dos anfíbios, a fertilização é externa, e seus ovos são depositados na água ou nas proximidades. As salamandras (exceto as mais primitivas) e as cobras-cegas apresentam fecundação interna, onde há a transferência do espermatóforo do macho para a fêmea.

O espermatозoide atravessa a camada gelatinosa, o envelope vitelino e a membrana plasmática, entrando no ovo pelo polo animal. Ocorre o bloqueio à polispermia: a despolarização de membrana e a reação cortical. A reação cortical separa o envelope vitelino da membrana plasmática e transforma o envelope vitelino na membrana de fertilização. Com a separação e o afastamento dessas duas, o ovo gira livremente dentro dos envoltórios. Como o polo animal é mais leve, ele fica para cima: é a rotação de equilíbrio.

Devido à entrada do espermatозoide e à reação cortical, ocorre também uma rotação nos componentes do córtex do ovo em relação ao citoplasma mais

profundo (rotação cortical). Naqueles anfíbios, cujo ovo tem melanina, como, por exemplo, *Rana temporaria*, o pigmento, que era restrito ao córtex do polo animal, sofre uma oscilação de 30° em direção ao polo vegetal de um lado, recuando 30° do outro lado. A área despigmentada é denominada *crescente cinzento* (Figura 4.21A). Como determina a simetria bilateral, essa rotação também é chamada rotação de simetria.

Comparando-se com o ovo dos protocordados, o crescente cinzento dos anfíbios corresponde ao crescente que deriva a notocorda, enquanto o crescente no lado oposto, onde o pigmento desceu, é análogo ao crescente mesodérmico (ou amarelo).

Com o deslocamento do córtex do ovo durante a fecundação, os eixos anteroposterior e dorsoventral são especificados. O lado onde o espermatozoide entra será a superfície ventral do embrião. À 180° da entrada do espermatozoide, forma-se o crescente cinzento, onde inicia a gastrulação e será a futura região dorsal.

Com a fecundação, há um rearranjo dos microtúbulos que se tornam orientados na direção oposta ao local de entrada do espermatozoide, permitindo a migração de moléculas de RNAm do polo vegetal para próximo do equador, onde são traduzidos em proteínas indutoras do mesoderma, como, por exemplo, na proteína Vg1, membro da família do TGF- β ; na proteína de sinalização Xwnt-11 (X de *Xenopus*), e no fator de transcrição de T-box chamado Veg-T.

A proteína Xwnt-11 ativa a rota de sinalização que estabiliza a proteína β -catenina. Essa proteína, além de ter um papel na adesão celular, realiza regulação gênica. Ela é degradada por proteases após a sua fosforilação pelo complexo proteico contendo glicogênio-sintase-quinase-3 (GSK-3), caseíno-quinase-1 α , axina e proteínas da polipose adenomatose do colôn (APC de *adenomatous polyposis coli*). Na futura região dorsal do embrião, a proteína Xwnt-11 inibe a atividade do complexo GSK-3. Assim, há o acúmulo de β -catenina no início da clivagem,

ativando genes responsáveis por estruturas dorsais e anteriores.

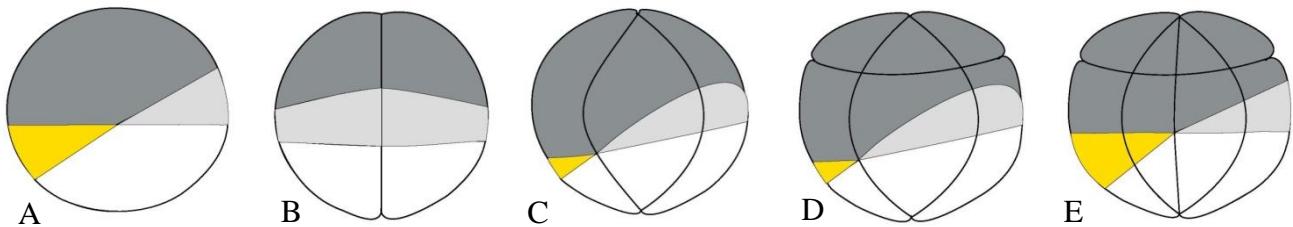
O fator de transcrição Veg-T ativa a expressão dos genes do zigoto para as proteínas nodal relacionadas de *Xenopus* (Xnrs) e para a proteína Derrière, indutoras do mesoderme. Se a presença de Veg-T for drasticamente diminuída, a expressão desses genes é reduzida e quase não se desenvolve esse folheto embrionário. Os níveis de Xnr são mais altos no lado dorsal, onde os sinais de Veg-T e de β -catenina se sobrepõem.

7.2 – Clivagem

O processo de clivagem no ovo de *R. temporaria* inicia 2h30min após a fecundação à temperatura de 18°C. As clivagens iniciam no polo animal, para onde o fuso mitótico é deslocado, devido à presença de vitelo no polo vegetal.

A primeira clivagem é meridional e coincide com o plano de simetria bilateral em 50% dos casos, dividindo o crescente cinzento (Figura 4.21B). A segunda clivagem é também meridional, mas perpendicular à primeira (Figura 4.21C). A terceira clivagem é supraequatorial, isto é, latitudinal, porque o fuso mitótico está deslocado por causa do acúmulo do vitelo. Assim, os blastômeros oriundos do polo animal são menores do que os do polo vegetal. São formados os micrômberos e os macrômberos (Figura 4.21D). No estágio de oito células, inicia a formação da blastocele no polo animal. A quarta clivagem é meridional (Figura 4.21E).

As clivagens seguintes alternam-se nos planos latitudinal e meridional e tornam-se assincrônicas, tendo uma velocidade maior nas células oriundas do polo animal do que nas células oriundas do polo vegetal, por causa da presença de vitelo nestas últimas. O processo todo de clivagem demora cerca de 24h à 18°C. A clivagem é total, desigual e bilateral.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Houillon, 1972. p. 23.

Figura 4.21 - Representação do início da clivagem de rã: A - zigoto, onde se observa o crescente cinzento de um lado e a descida do pigmento do outro (colorido em amarelo); B a E - embriões sofrendo da primeira à quarta clivagem.

Quando as células do polo animal foram colocadas experimentalmente em contato com as células vegetativas, as células do polo animal formaram mesoderma e, posteriormente, sangue e músculo, ao invés de ectoderma e seus derivados, como pele e nervos.

Na blástula, as células oriundas do polo animal são separadas daquelas do polo vegetal pela blastocele, exceto na região limítrofe, denominada *zona marginal*, onde as células vegetativas induzem a diferenciação das células do polo animal em mesoderma. A região do futuro mesoderma forma uma cinta que circunda todo o ovo próximo ao equador: o crescente cinzento origina a notocorda, enquanto o restante derivará músculos, tecido conjuntivo, incluindo esqueleto e sangue, rins e coração.

7.3 – Gastrulação e neurulação

A estrutura do embrião de anfíbio difere daquele dos embriões anteriormente descritos: a blástula é constituída por várias camadas de células, e os grandes blastômeros oriundos do polo vegetal restringem a blastocele ao hemisfério animal. Por conseguinte, os anfíbios necessitam um padrão de gastrulação mais complexo do que o da maioria dos invertebrados e dos cordados inferiores.

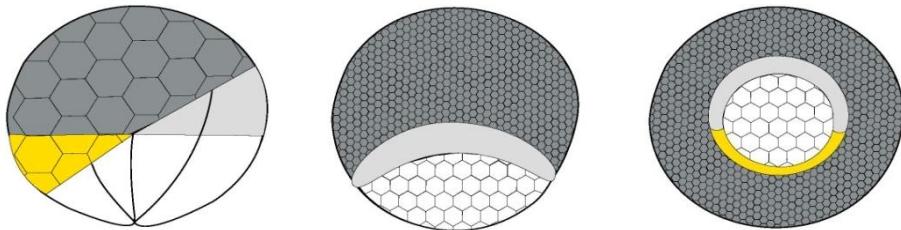
Como as células do hemisfério vegetal são grandes e cheias de vitelo, uma invaginação como aquela que ocorre em equinodermos e em protocordados não é possível. Ao invés disso, a gastrulação acontece por *involução* e *extensão*.

convergente das células da zona marginal e por *epibolia* e *intercalação* das células do hemisfério animal.

O primeiro sinal externo da gastrulação é o surgimento de um sulco na zona marginal, no futuro lado dorsal do embrião, devido à mudança na forma de algumas células. Elas adquirem uma forma de garrafa pelo seu alongamento e pela constrição da superfície apical. As células vizinhas involuem como se as células em garrafa fossem um obstáculo que as desviam da sua rota.

Esse sulco demarca o início da formação do blastóporo, e as células do crescente cinzento ficam posicionadas acima do sulco. Simultaneamente, há a epibolia das células do polo animal, recobrindo as células do polo vegetal e trazendo as células oriundas da região onde a melanina desceu para a futura região dorsal do embrião. A região de involução estende-se lateral e ventralmente, de modo que se forma um círculo ao redor das células oriundas do polo vegetal. As células do crescente cinzento situam-se no lábio dorsal do blastóporo. Os lábios laterais e ventral contêm células do polo oposto ao crescente cinzento no ovo, onde o pigmento desceu (Figuras 4.22 e 4.23).

A região de células vegetativas observada pelo blastóporo é denominada rolha vitelínica (Figuras 4.22 e 4.23). Ela se invagina e desaparece progressivamente, mas persiste uma fenda alongada, a fenda blastoporal, que corresponde ao ânus nos urodelos. Nos anuros, as bordas da fenda colabam, e ocorre uma perfuração secundária quando o vitelo for absorvido.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Houillon, 1972. p. 23.

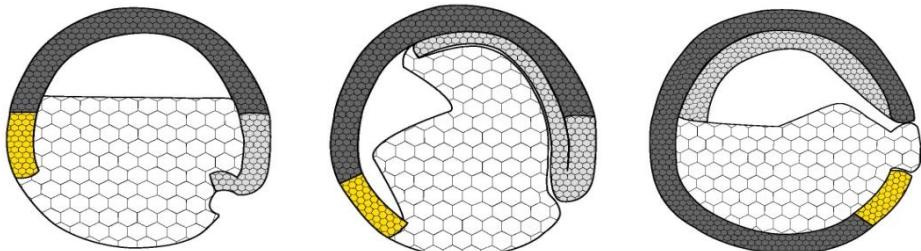
Figura 4.22 - Vista externa dos embriões de rã em gastrulação, mostrando a epibolia das células do polo animal e a formação do blastóporo.

As primeiras células da zona marginal (ou crescente cinzento) que sofrem involução migram individualmente para o teto da blastocele, onde originam as estruturas mesodérmicas mais anteriores da cabeça. Atrás delas entra uma lâmina de várias camadas celulares do futuro mesoderma e endoderma. Essa lâmina celular passa pelo estreito blastóporo como se atravessasse um funil, e as células são rearranjadas por *extensão convergente*.

A migração depende da interação das células com a matriz extracelular rica em fibronectina no teto da blastocele. A migração é controlada pelo fator de crescimento derivado de plaquetas (PDF de *platelet-derived growth factor*).

Com a involução das células do crescente cinzento, a blastocele é obliterada, e uma nova cavidade, o arquêntero, é originada. As células do crescente cinzento formam o teto do arquêntero, enquanto as células do polo vegetal são o assoalho (Figura 4.23).

Em *Xenopus*, há uma fina camada externa de endoderme presuntiva sobre a mesoderme presuntiva na zona marginal, então essas células da futura endoderme involuem juntamente com as da futura mesoderme para o teto do arquêntero.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Junqueira, L. C. U.; Zago, D. **Fundamentos de Embriologia humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1972. p. 238; Houillon, 1972. p. 47, e Elinson, R. *Amphibians*. In: Gilbert e Raunio, 1997. p. 417.

Figura 4.23 - Cortes medianos de gástrulas de rã, permitindo a visualização do movimento de involução das células do crescente cinzento localizado no lábio dorsal do blastóporo, a obliteração da blastocele e o estabelecimento do arquêntero.

As células do hemisfério animal derivarão o *ectoderma*.

Na porção mediana do teto do arquêntero, a partir da involução de células do lábio dorsal do blastóporo, surge a *notocorda*, um bastão de tecido mesodérmico que induz o ectoderma suprajacente a se diferenciar na *placa neural*. Devido à expressão diferencial de proteínas de adesão, a placa neural se destaca do restante do ectoderma. A placa neural fecha-se no tubo neural, e ele é recoberto, por epibolia, pelo ectoderma vizinho, que originará a epiderme (Figura 4.24).

No *Xenopus*, a extensão convergente ocorre na mesoderma e na endoderma presuntivas à medida que involuem, assim como no tecido neural que originará a medula espinhal.

A extensão convergente deve-se à intercalação médio-lateral das células, que faz com que a camada se estreite e se alongue.

A intercalação celular também contribui para a epibolia, mas, nesse caso, há uma intercalação radial, ou seja, as células de diferentes camadas intercalam-se em uma direção perpendicular à superfície, o que leva a um adelgaçamento da camada e a um aumento da área superficial.

A parte anterior do *tubo neural* expande-se no encéfalo, e o restante permanece estreito e origina a medula espinhal. Durante esse fechamento, uma população de células neurais não é incorporada no tubo neural e constitui as *cristas neurais*. A mandíbula e as cartilagens da face são organizadas a partir da crista neural cranial. A crista neural do tronco diferencia-se em melanócitos, em neurônios sensoriais (gânglios sensitivos), na nadadeira dorsal e em outros derivados.

Portanto, o *ectoderma*, além de originar a epiderme, é responsável pelo sistema nervoso.

A importância do lábio dorsal do blastóporo na

organização do corpo de anfíbio foi demonstrada por Hilde Mangold, em 1924, na sua tese de Doutorado, sob orientação do embriologista Hans Spemann.

Usando duas espécies de embriões de tritão com pigmentação diferenciada (*Triturus cristatus*, cujo ovo é muito claro, e *Triturus taeniatus*, com ovo mais escuro), ela pôde acompanhar o destino das células transplantadas.

Quando enxertou uma secção do lábio dorsal da gástrula de *T. cristatus* para a região ventral ou lateral da gástrula de *T. taeniatus*, um embrião secundário foi formado. Nesse caso, o tubo neural originou-se do ectoderma ventrolateral, que normalmente deriva a epiderme. Então o lábio dorsal induziu o ectoderma hospedeiro a se desenvolver no ectoderma neural.

Por determinar o eixo anteroposterior, o lábio dorsal do blastóporo foi denominado por Spemann de organizador embrionário primário.

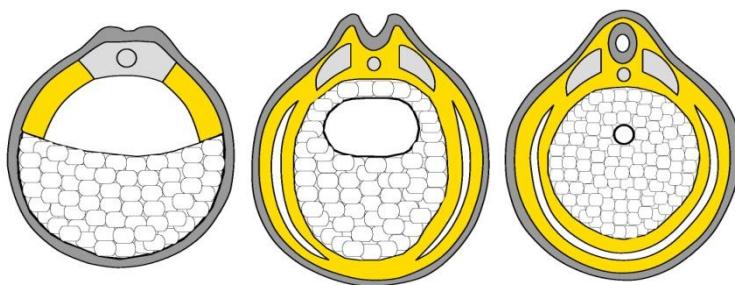
Com a proliferação das células oriundas do polo vegetal, o *endoderma* passa a delimitar todo o arquêntero (Figura 4.24). O endoderma será o epitélio dos sistemas digestório e respiratório.

As células dos lábios ventral e laterais do blastóporo sofrem *involução* e interpõem-se entre o ectoderma e o endoderma, originando o mesoderma paraxial, intermediário e lateral.

O *mesoderma paraxial* segmenta-se em *somitos*, que derivarão o tecido muscular e o esqueleto axial. No *mesoderma intermediário*, surge o sistema urogenital. O *mesoderma lateral* é delaminado em *somático* e *esplâncnico*, e o espaço entre eles é o *celoma*, futura cavidade corporal. No mesoderma lateral somático, diferenciam-se a derme e o esqueleto dos membros, e, no mesoderma lateral esplâncnico, o sistema cardiovascular e o tecido conjuntivo dos sistemas respiratório e digestório (Figura 4.24).

À medida que a gastrulação e a neurulação prosseguem, o embrião alonga-se no eixo anteroposterior, através da extensão convergente do mesoderma no lado dorsal do embrião.

A gastrulação leva 24h, e a neurulação, cerca de 20h à 18°C.



T. Montanari e E. Leite

Baseado em Junqueira e Zago, 1972. p. 239; Houillon, 1972. p. 50, e Elinson, R. Amphibians. In: Gilbert e Raunio, 1997. p. 422.

Figura 4.24 - Cortes transversais de embriões de rã, onde ocorrem a neurulação, o envolvimento do arquêntero pelo endoderma, a interposição do mesoderma entre o ectoderma e o endoderma e a delaminação do mesoderma, formando o celoma.

A ectodermina, uma ubiquitina-ligase G3 traduzida a partir de RNAm localizado no polo animal, determina o ectoderma.

O fator de transcrição Veg-T, traduzido do RNAm herdado pelas células oriundas do polo vegetal, especifica o endoderma.

A indução do mesoderma envolve quatro conjuntos de sinais:

1º) fatores maternos vegetativos que codificam Vg1 e Veg-T forneceriam um sinal para a indução do mesoderma ventral (que seria o estado-padrão);

2º) as proteínas Xwnt-11, *Dishevelled* e β -catenina converteriam localmente esse mesoderma em dorsal, incluindo o organizador primário;

3º) fatores expressos no futuro lado ventral promovem a ventralização do mesoderma, como a BMP-4 e Xwnt-8. BMP-4 é expressa por toda a blástula tardia de *Xenopus*, mas, com o avanço da gastrulação, ela deixa de ser expressa em regiões dorsais. Quando a sua ação é bloqueada, o embrião é dorsalizado, com células ventrais diferenciando-se em músculo e em notocorda. Entretanto a superexpressão ventraliza o embrião. Xwnt-8 é expressa no futuro mesoderma ventral e lateral;

4º) proteínas secretadas provenientes de genes zigóticos expressos no organizador primário dorsalizam o mesoderma, como as proteínas noguina, cordina, folistatina, *Frizbee* e cerberus. Agem pela inibição dos fatores ventralizadores.

7.4 – Estágio em botão caudal e eclosão

O estágio em botão caudal é exibido 70h após a fertilização. Além do alongamento, há a modelagem da cabeça, o surgimento das áreas ópticas, das brânquias, do coração e de uma cauda. Esse estágio demora 24 a 30h à temperatura de 18°C.

Quatro dias após a fertilização, há a eclosão de uma larva livre, que se fixa nas plantas aquáticas, com o muco secretado por seu órgão adesivo. Aos nove dias, a larva torna-se um girino. O órgão adesivo degenera, e o animal abandona seu suporte. A boca perfura-se e é constituída por um bico cárneo com dentículos queratinizados, capazes de roer plantas e detritos aquáticos. A reabsorção do vitelo dá lugar a um longo e espiralado tubo digestório. Os membros posteriores são formados.

A metamorfose de girino a adulto está sob controle dos hormônios da tireoide. A nadadeira dorsal e a cauda degeneram. Os membros anteriores aparecem. A rã jovem migra do meio aquático para o terrestre. A região bucal e o tubo digestório são reestruturados, e a alimentação muda para insetos e outros invertebrados. Ao completar dois meses de idade, a metamorfose está terminada.

As aves possuem somente o ovário e o oviduto esquerdos, já que o lado direito do aparelho reprodutor atrofia durante a organogênese.

8.1 – Tipo de ovo e fertilização

As oogônias multiplicam-se durante a vida embrionária e transformam-se em óócitos primários antes da eclosão. Após o nascimento, os óócitos, circundados pelas células foliculares, acumulam vitelo. O fígado é responsável pela sua elaboração final através da vitelogenina. Na galinha, seis a 14 dias antes da ovulação, o volume do óócyto aumenta 200 vezes. As aves possuem ovos *telolécitos*. O armazenamento de uma quantidade maior de vitelo permitiu a supressão do estágio larval.

O vitelo é reconhecido no ovo como a gema (a cor alaranjada deve-se aos carotenoides). O núcleo e as demais organelas ocupam uma região no polo animal, sem vitelo, conhecida como cicatricula. Ela pode ser observada como uma pequena mancha branca sobre a gema. O gameta feminino é envolvido pela membrana vitelina, um envelope primário (Figura 4.25).

A galinha produz um ovo por dia, com poucos dias no ano de descanso. Na ovulação, é liberado o óócyto secundário. A segunda meiose inicia, mas é interrompida na metáfase até a fecundação.

Por vários dias seguintes à cópula (até três semanas nas galinhas), um grupo de espermatozoides é liberado de uma região da cloaca, onde são armazenados, para fertilizar o óócyto. A fertilização geralmente ocorre na porção proximal do oviduto, no infundíbulo.

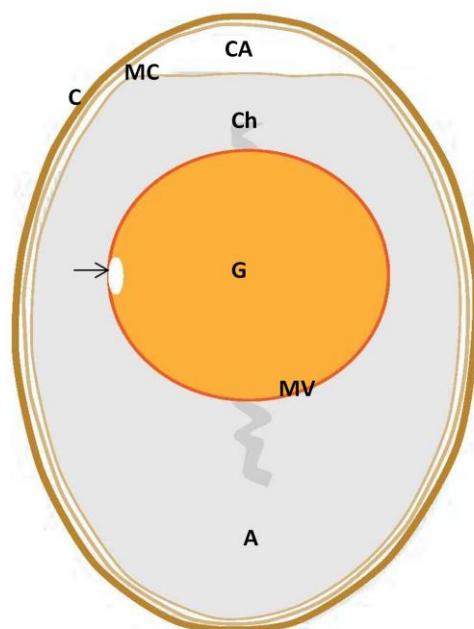
Há uma polispermia fisiológica. A membrana vitelina e o vitelo servem de barreira à migração dos espermatozoides, e somente um dos pronúcleos masculinos combina-se com o pronúcleo feminino para formar o zigoto. Os demais degeneram antes da primeira clivagem.

O ovo (fertilizado ou não) é envolvido pelo albúmen (a clara), secretado na região seguinte do

oviduto: o magno. O albúmen é um reservatório de água e de proteínas.

No istmo, são depositadas as membranas da casca, de constituição química entre a queratina e a quitina. A membrana interna está adjacente ao albúmen, e a externa ficará adherida à casca. Elas se afastam uma da outra na parte mais larga do ovo, onde será a câmara de ar (Figura 4.25).

A casca é de carbonato de cálcio e é acrescentada no útero (ou glândula da casca). Ela confere proteção mecânica ao ovo, sem impedir a difusão de oxigênio. A rotação do ovo nessa região do oviduto provoca a espiralização de uma parte do albúmen mais rica em fibras de mucina, resultando em um cordão esbranquiçado, a chalaza (Figura 4.25).



T. Montanari

Baseado em EMBRAPA. Manual de Segurança e Qualidade para a Avicultura de Postura. Brasília: EMBRAPA, 2004. p.15.

Figura 4.25 - Representação do ovo de galinha: → – cicatricula; G – gema (vitelo); MV – membrana vitelina; A – albúmen (ou clara); Ch – chalaza; MC – membranas da casca externa e interna; CA – câmara de ar, e C – casca.

Como a clara, as membranas da casca e a casca são produzidas pelo trato reprodutor, elas são consideradas envoltórios terciários do ovo.

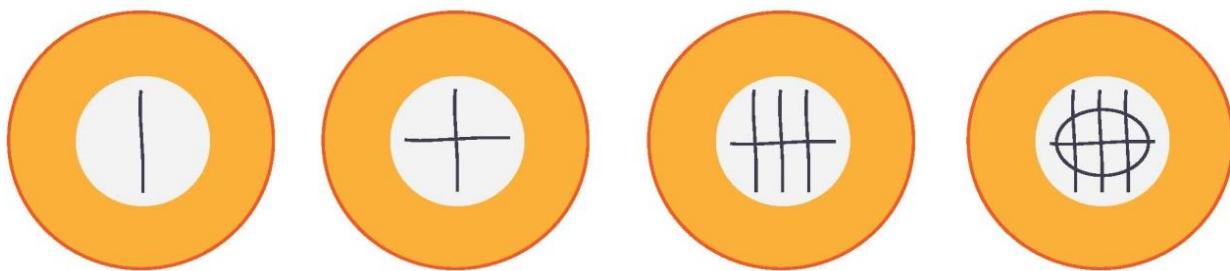
Do útero, o ovo segue pela vagina, o segmento terminal do oviduto que se abre na cloaca.

8.2 – Clivagem

No caso da galinha, a primeira segmentação ocorre 5h após a fecundação, ainda no istmo. A clivagem restringe-se à cicatrícula, a região sem vitelo

no polo animal, por isso é *parcial e discoidal*. Nessa região, forma-se o embrião, enquanto o restante será o saco vitelino, cujo vitelo será consumido ao longo do desenvolvimento. A clivagem é também *bilateral*.

As primeiras clivagens são meridionais. O primeiro sulco inicia-se no centro da cicatrícula e estende-se para as bordas; o segundo sulco é perpendicular ao primeiro, e o terceiro, paralelo ao primeiro e perpendicular ao segundo. Inicialmente as células permanecem contínuas com o vitelo (Figura 4.26). O disco de blastômeros é denominado blastoderme (ou blastodisco).



T. Montanari

Baseado em GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. **Embriologia**. 2.ed. Porto Alegre: ARTMED, 2001. p.235.

Figura 4.26 - Representação da clivagem do ovo de aves: ela ocorre na cicatrícula, e os sulcos de citocinese não dividem o vitelo, por isso é parcial e discoidal. São demonstradas as primeiras clivagens meridionais.

Posteriormente, no estágio de 32-64 células ocorrem clivagens equatoriais, e as células são individualizadas e separadas da massa de vitelo pela blastocele primária (ou cavidade subgerminativa). As células que ficam acima da cavidade subgerminativa formam uma área translúcida, a *área pelúcida*, onde o embrião será organizado. As demais células em contato com a massa de vitelo constituem a *área opaca* (Figura 4.27).

No momento da postura dos ovos de galinha, a área pelúcida tem duas camadas, com uma cavidade entre elas. A camada superior é o *epiblasto*, e a inferior, o *hipoblasto*. A cavidade é a blastocele secundária. O hipoblasto é gerado da delaminação do

epiblasto e da ingressão de células da margem posterior da área pelúcida.

Para prosseguir no desenvolvimento, o ovo deve ser incubado a 37,5°C.

8.3 – Gastrulação e neurulação

A gastrulação começa nas primeiras horas de incubação com a convergência de células do epiblasto para a região posterior da área pelúcida em um movimento anti-horário no lado esquerdo da blastoderme e horário no lado direito da blastoderme (movimento *Polonaise*). O espessamento em cunha na margem posterior da área pelúcida estreita-se e

alonga-se, por *extensão convergente*, no sentido caudocefálico até cerca da metade da área pelúcida, resultando em um espessamento mediano, a *linha primitiva*. A concentração de células na extremidade cranial da linha primitiva é denominada *nó primitivo* (ou *nó de Hensen*) (Figuras 4.27 e 4.28).

A ingressão é o movimento responsável pela internalização de células para estabelecer os folhetos embrionários, já que a invaginação não é possível por causa da massa de vitelo.

Devido à *ingressão* das células, uma depressão surge no meio da linha primitiva, o *sulco primitivo*, e a depressão no nó primitivo é a *fosseta primitiva* (Figuras 4.27 e 4.28).

Enquanto as células do hipoblasto migram em torno do vitelo, formando o endoderma extraembrionário do saco vitelino, as células provenientes do epiblasto ocupam esse espaço e originam o *endoderma*. Entre essa camada e o epiblasto, as células ingressantes derivam o *mesoderma*. O epiblasto passa a ser denominado *ectoderma*.

A posição da zona marginal posterior na área pelúcida é determinada pela gravidade. Ao descer pelo oviduto, o ovo gira lentamente em torno do eixo longitudinal e geralmente com a extremidade afilada para frente, levando em torno de 6min em cada revolução e de 20h para completar o trajeto. O blastoderme fica inclinado na direção da rotação, embora tenda a permanecer em uma posição superior. A zona marginal posterior desenvolver-se-á na sua borda apical.

A zona marginal posterior corresponde à zona marginal (ou crescente cinzento) do ovo de anfíbios. A linha primitiva equivale ao blastóporo, e o nó primitivo, ao lábio dorsal.

Várias proteínas de sinalização são expressas na zona marginal posterior, como, por exemplo, Wnt-8c e Vg1. Essas proteínas citadas induzem a expressão da nodal na zona marginal posterior e na linha primitiva.

Nodal, FGF e cordina são importantes para a formação da linha primitiva. Vg1 é importante para iniciar a formação da linha primitiva, mas também para inibir a organização de uma segunda.

À medida que ocorre a gastrulação, o embrião alonga-se, passando da forma de disco para uma forma de pêra (Figuras 4.27 e 4.28).

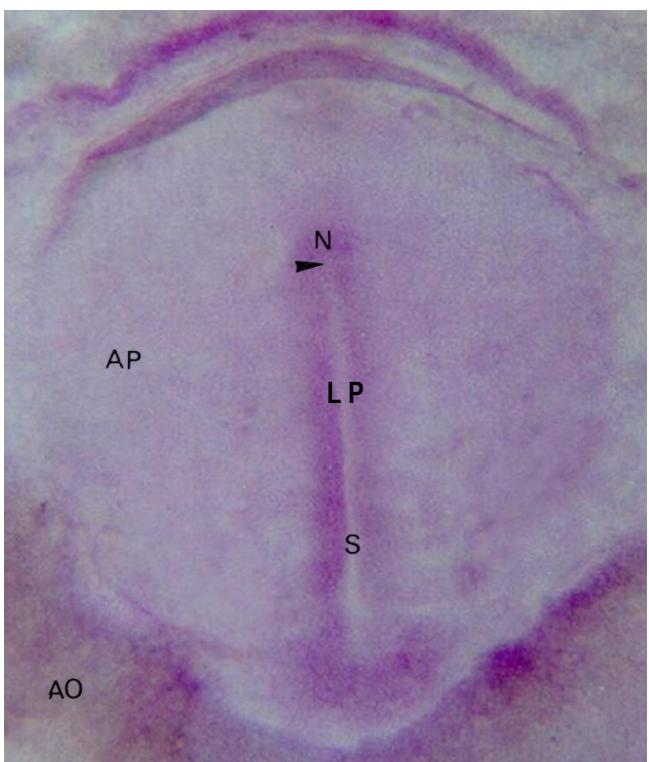


Figura 4.27 - Vista dorsal de embrião de codorna com 16h de incubação, onde é possível observar a zona marginal posterior, a linha primitiva (LP), o sulco primitivo (S), o nó primitivo (N) e a fosseta primitiva (►). AP – área pelúcida; AO – área opaca (cortesia de Casimiro García Fernández).

As células do nó primitivo sofrem ingressão e organizam um bastão mediano e cranial no mesoderma: a *notocorda*. Ela induz o ectoderma suprajacente a se diferenciar na *placa neural*, a qual se fecha no *tubo neural*, responsável pelo sistema nervoso central (Figuras 4.28 e 4.29). Células da placa neural que migram antes da neurulação constituem as *cristas neurais* e geram o sistema nervoso periférico.

É possível comparar a linha primitiva a uma barra de giz que se gasta ao riscar um traço em um quadro-negro. Assim, enquanto as células ingressam, a linha

primitiva regride caudalmente, até desaparecer com 50h de incubação (Figura 4.29).

O mesoderma paraxial, aquele mais próximo ao tubo neural, segmenta-se em blocos, os *somitos* (Figura 4.29). Após 20h de incubação, surge um par de somitos por hora no embrião de galinha. Do mesoderma dos somitos são provenientes o tecido conjuntivo, incluindo a cartilagem e os ossos, do tronco, e a musculatura do tronco e dos membros.

O mesoderma ainda se diferencia em mesoderma intermediário, ao lado do paraxial, e em mesoderma lateral, que se delamina em somático (adjacente ao ectoderma) e em esplâncnico (junto ao endoderma).

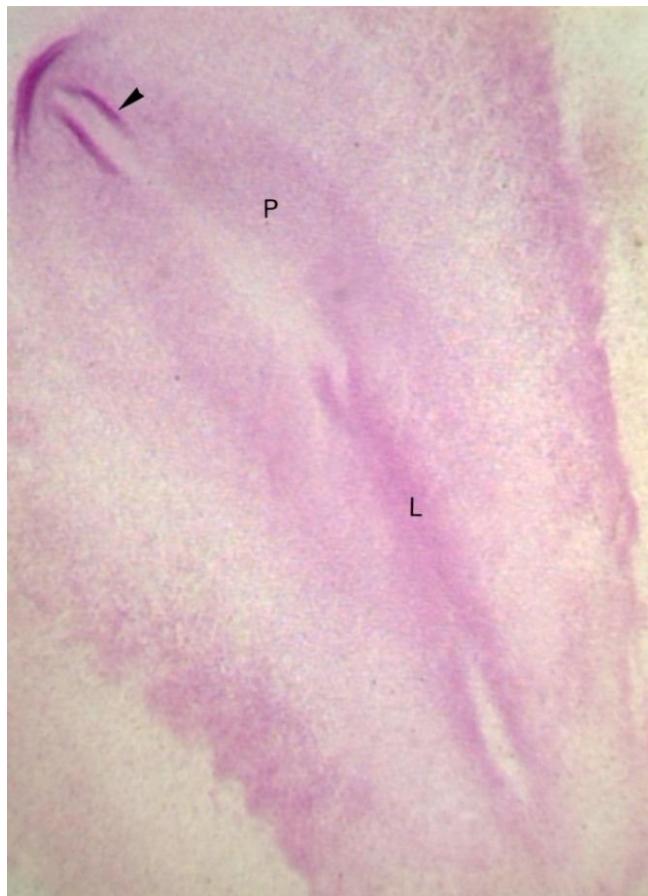


Figura 4.28 - Embrião de codorna com 22h de incubação, onde é possível notar a linha primitiva (L), com o sulco primitivo no interior e a fosseta primitiva na extremidade cranial, e a placa neural (P) iniciando o seu dobramento (►) (cortesia de Nívia Lothhammer).

No mesoderma intermediário, formam-se o sistema urinário e o sistema reprodutor.

O mesoderma lateral somático deriva o tecido conjuntivo, inclusive a cartilagem e os ossos dos membros, e o mesoderma lateral esplâncnico origina o tecido conjuntivo e o tecido muscular do sistema respiratório e do sistema digestório. O sistema cardiovascular também se desenvolve no mesoderma lateral esplâncnico. O coração começa a bater com 37h.

O espaço entre o mesoderma lateral somático e o mesoderma lateral esplâncnico é o *celoma*, que será as cavidades corporais.



Figura 4.29 - Embrião de codorna com 25h de incubação, mostrando o fechamento da placa neural em tubo neural, o surgimento de somitos e a regressão da linha primitiva (cortesia de Casimiro García Fernández).

Embora a linha primitiva indique o eixo cefalocaudal, ela também está implicada na determinação do eixo dorsoventral do embrião, já que estruturas ventrais são derivadas da região caudal da linha e estruturas dorsais, da região cranial.

A linha primitiva contribui ainda para a assimetria esquerda-direita. A atividade da bomba H^+/K^+ -ATPase é diminuída no lado esquerdo do nó primitivo, levando a uma diferença de potencial de membrana através do nó e a uma liberação aumentada de Ca^{2+} no espaço extracelular do lado esquerdo. Isso leva à expressão dos ligantes de Notch tipo Delta e *Serrate* em um padrão que ativa Notch somente no lado esquerdo do nó. *Sonic hedgehog* (*shh*) também é expressa somente nesse lado. A ativina e seu receptor são expressos no lado direito e reprimem a expressão de *shh* nesse local.

A atividade de Notch, juntamente com *shh*, leva à expressão da nodal no lado esquerdo do mesoderma lateral. A nodal, por sua vez, ativa a expressão do fator de transcrição Pitx2, um determinante de sinistrismo. A expressão de *lefty*, um antagonista de nodal, na metade esquerda da notocorda e na placa do assoalho do tubo neural forma uma barreira que impede que os sinais de nodal atravessem a linha média em direção à metade direita do embrião.

O embrião que se organizou como um disco trilaminar dobra-se nos planos longitudinal e transversal. Com a flexura cefálica, a área cardiogênica é refletida para a posição torácica. As extremidades dos folhetos embrionários encontram-se. O fechamento do endoderma origina o intestino primitivo, responsável pelo epitélio dos sistemas digestório e respiratório. O ectoderma, além do sistema nervoso, constituirá a epiderme e seus anexos.

A progressão no desenvolvimento é anteroposterior, assim cortes anteriores do embrião podem exibir estruturas em estágio mais avançado do que nos cortes posteriores.

A eclosão do ovo de galinha ocorre depois de 21 dias de incubação. A casca, mais fina pela absorção de parte dos sais minerais, é facilmente quebrada pelo pinto com a ajuda do diamante, estrutura dura que se desenvolveu no bico superior.

8.4 – Anexos embrionários

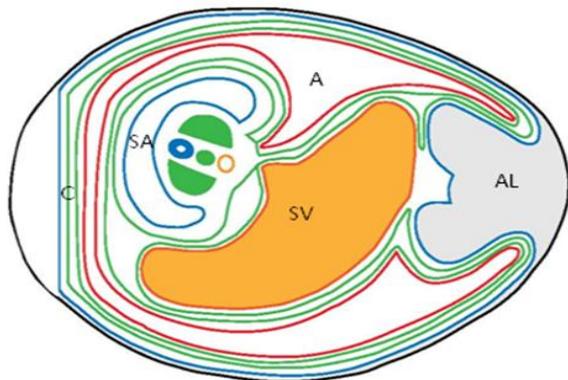
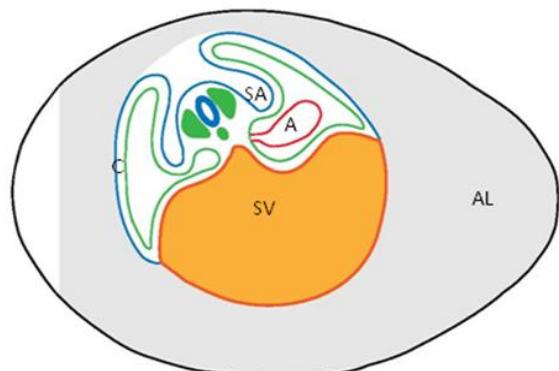
O *córion* (ou *serosa*) é formado pelas dobras amnióticas que também estabelecem o saco amniótico. É composto do ectoderma extraembrionário e do mesoderma extraembrionário somático mais externo das dobras amnióticas, enquanto o saco amniótico resulta da fusão daqueles internos (Figura 4.30). Torna-se a membrana extraembrionária mais externa, subjacente à casca e é veículo de trocas gasosas entre o embrião e o ambiente.

O *saco amniótico* apareceu nos répteis 255 milhões de anos atrás. Pela presença desse anexo no ovo, os répteis, as aves e os mamíferos são agrupados como amniotas. Ele é constituído pelo ectoderma extraembrionário (da área opaca) e pelo mesoderma extraembrionário somático, que se projetam sobre o embrião, envolvendo-o como um saco (Figura 4.30). O líquido amniótico é proveniente da desidratação do álbumen e evita aderências, impede o dessecamento e protege o embrião contra choques mecânicos.

O *saco vitelino* está presente nos peixes, nos répteis, nas aves e nos mamíferos. Nos peixes, é o único anexo embrionário e é formado pelo endoderma, pelo mesoderma e pelo ectoderma. Nos demais animais, ele é constituído pelo endoderma extraembrionário (do hipoblasto) e pelo mesoderma extraembrionário esplâncnico. As células do endoderma extraembrionário sintetizam enzimas que degradam o vitelo, facilitando a sua absorção (Figura 4.30). Da aorta partem duas artérias vitelinas (ou onfalomesentéricas) que buscam os nutrientes no saco vitelino. Retornam ao coração como duas veias vitelinas (ou onfalomesentéricas). Os vasos vitelinos diferenciaram-se no mesoderma extraembrionário esplâncnico. Dois dias antes da eclosão, a vesícula vitelina retrai-se para o interior do embrião e é incorporada no intestino médio. O vitelo restante servirá para fornecer energia para o filhote nos primeiros dias de vida livre, quando ainda não se alimenta.

O *alantoide* surge como uma evaginação do intestino posterior e é de endoderma e mesoderma lateral esplâncnico (Figuras 4.30 e 4.31). Ele pode ser

observado com 60h de incubação. Expande-se e interpõe-se entre o saco amniótico e o córion, fusionando-se com esse último. O mesoderma é vascularizado pelo par de artérias alantoicas, que partem da aorta, e pelo par de veias alantoicas, que retornam ao coração. A função primária do alantoide está relacionada com o acúmulo de excretas provenientes dos rins. Pela sua proximidade com o córion e com a casca do ovo e pela vascularização do mesoderma, ele realiza trocas gasosas e absorve sais de cálcio da casca, os quais são usados no esqueleto. A casca fica mais frágil, facilitando a eclosão.



T. G. Loureiro e T. Montanari

Baseado em Houillon, 1972. p. 78.

Figura 4.30 - Desenvolvimento dos anexos embrionários em embriões de galinha com três dias e com 14 dias de incubação: C – córion; SA – saco amniótico; SV – saco vitelino, com vitelo (gema) no interior, e A – alantoide. AL – albúmen.

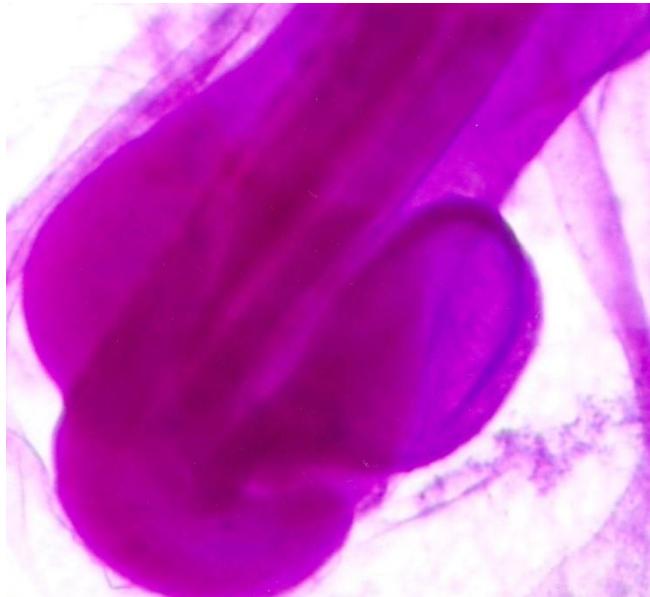


Figura 4.31 - Fotomicrografia da parte caudal do embrião de codorna com 72h, mostrando o alantoide (cortesia de Nívia Lothhammer).

9 – QUESTIONÁRIO

- 1) Quanto à quantidade de vitelo, classifique os ovos e dê exemplos da sua ocorrência.
- 2) Descreva as células acessórias quanto à origem e à função.
- 3) Classifique os envoltórios do ovo conforme a sua origem e exemplifique.
- 4) Conceitue clivagem.
- 5) Relacione os tipos de ovos segundo a quantidade de vitelo com a clivagem sofrida.
- 6) Justifique as denominações clivagem radial, bilateral, rotacional e espiral e exemplifique sua ocorrência.
- 7) O que significa gastrulação?
- 8) Quais são os movimentos morfogenéticos?
- 9) Compare o desenvolvimento dos equinodermos, dos protocordados, dos anfíbios e das aves, mencionando o tipo de ovo, a fertilização, a clivagem,

os movimentos morfogenéticos envolvidos na gastrulação e os derivados dos folhetos embrionários.

10) Quais são os anexos embrionários presentes nas aves? Explique como são originados e para que servem.

10 – REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the cell*. 4.ed. New York: Garland Science, 2002. p.1142-1146.
- ALMEIDA, L. M. de. Insecta. In: RIBEIRO-COSTA, C. S.; ROCHA, R. M. da. *Invertebrados*: manual de aulas práticas. Ribeirão Preto, Holos, 2006. p.162-189.
- BROWDER, L. W.; ERICKSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. Philadelphia: Saunders College, 1991. p.28-35; 54-78; 88-90; 101-102; 115; 126-239; 313-316; 469-471; 478-496.
- BRUSCA, G. J.; BRUSCA, R. C.; GILBERT, S. F. Characteristics of metazoan development. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.3-19.
- COLLIER, J. R. Gastropods, the snails. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.189-217.
- ELINSON, R. Amphibians. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.409-436.
- ELLIS, C. H., Jr.; FAUSTO-STERLING, A. Platyhelminths, the flatworms. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.115-130.
- EMBRAPA. *Manual de Segurança e Qualidade para a Avicultura de Postura*. Brasília: EMBRAPA, 2004. p.15.
- FELL, P. E. The concept of larvae. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.21-28.
- FELL, P. E. Porifera, the sponges. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.39-54.
- GARCIA, S. M. L. de; DAUT, H. M. L.; GARCIA, C. F. *Embriologia*: estudos dirigidos para aulas práticas. Porto Alegre: Sagra Luzzatto, 1997. p.13-29.
- GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. *Embriologia*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.58-59; 74-133; 181-183; 204-211; 232-244.
- GILBERT, S. F. Arthropods: the crustaceans, spiders, and myriapods. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.237-257.
- GILBERT, S. F. *Biologia do desenvolvimento*. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 563p.
- HOUILLON, C. *Embriologia*. São Paulo: Edgar Blücher, 1972. p.3-80; 102-130.
- JEFFERY, W. R.; SWALLA, B. J. Tunicates. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.331-364.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; ZAGO, D. *Fundamentos de Embriologia humana*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1972. p.222-247.
- MARTIN, V. J. Cnidarians, the jellyfish and hydroids. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.57-86.
- MARTINDALE, M. Q.; HENRY, J. Ctenophorans, the comb jellies. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology*: constructing the organism. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.87-111.
- NETO, J. L.; BAHAMONDES, L.; CARRELL, D. T.; CARVALHO, H. F. Espermatozoides. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células*: uma abordagem multidisciplinar. Barueri: Manole, 2005. p.291-301.
- PHILLIPS, D. M. *Spermiogenesis*. New York: Academic Press, 1974. 68p.
- PRIEDKALNS, J.; LEISER, R. Female reproductive system. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.275-277.
- ROCHA, R. M. da. Echinodermata. In: RIBEIRO-COSTA, C. S.; ROCHA, R. M. da. *Invertebrados*: manual de aulas práticas. Ribeirão Preto, Holos, 2006. p.198-213.
- ROCHA, R. M. da. Chordata. In: RIBEIRO-COSTA, C. S.; ROCHA, R. M. da. *Invertebrados*: manual de aulas práticas. Ribeirão Preto, Holos, 2006. p.214-226.
- RUGH, R. *Laboratory manual of vertebrate embryology*. 5.ed. Minneapolis: Burgess, 1962. p.11-181.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. *Zoologia dos invertebrados*: uma abordagem funcional-evolutiva. 7.ed. São Paulo: Roca, 2005. 1145p.

SCHIERENBERG, E. Nematodes, the roundworms. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.131-148.

SCHOENWOLF, G.C. Reptiles and birds. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.437-458.

SCHWALM, F. E. Arthropods: the insects. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.259-278.

SHANKLAND, M.; SAVAGE, R. M. Annelids, the segmented worms. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.219-235.

TUNG, T. C.; WU, S. C.; TUNG, Y. Y. F. The presumptive areas of the egg of amphioxus. *Scientia Sinica*, v.11, p.639-644, 1962.

WHITTAKER, J. R. Cephalochordates, the lancelets. GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.365-381.

WOLPERT, L.; JESSELL, T.; LAWRENCE, P.; MEYEROWITZ, E.; ROBERTSON, E.; SMITH, J. *Princípios de Biologia do desenvolvimento*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.115-209; 228-242; 283-322.

WRAY, G. A. Echinoderms. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.309-329.

1 – PRIMEIRA SEMANA

1.1 – Clivagem

O zigoto, durante o seu transporte pela tuba uterina em direção ao útero, sofre a *clivagem*, que consiste em mitoses sucessivas, sem aumento de volume (Figuras 5.1 e 5.2A-E). Nos mamíferos, comparando-se com outros animais, a clivagem é um processo lento, levando praticamente um dia para cada divisão mitótica: tem-se um embrião de duas células no primeiro dia após a fertilização, de quatro células no segundo dia, de seis a 12 células no terceiro, de 16 células no quarto e de 32 células no quinto dia (Figura 5.1).

Os blastômeros de mamíferos não se dividem todos ao mesmo tempo, sendo frequente o número ímpar de células no embrião.

O embrião até o estágio de oito células apresenta *desenvolvimento regulado*, isto é, mesmo que alguma célula seja perdida, o embrião progride normalmente, porque as demais contêm as informações necessárias para formar todas as estruturas. Entretanto, a partir desse estágio, há uma expressão genética diferenciada, e as células, conforme a sua posição, terão destinos diferentes. Assim, se alguma célula for perdida, o desenvolvimento não será normal. Então, após o estágio de oito células, o *desenvolvimento* é em *mosaico*.

Devido à quantidade limitada de ribossomos e RNA armazenados durante a oogênese, o embrião precisa de seus próprios produtos gênicos logo no início da clivagem. Se a transcrição de RNAm fosse inibida no zigoto de camundongo, o desenvolvimento seria interrompido no estágio de duas células, enquanto, em embriões de anfíbios, um tratamento similar somente o perturaria no fim da clivagem.

Não há uma transição brusca entre a dependência das substâncias armazenadas e o início da transcrição do genoma embrionário. Por exemplo, isoformas da β -glicuronidase e β 2-microglobulina, que são transcritos do material genético de origem paterna, aparecem muito cedo no embrião, enquanto os RNAm para actina e histona acumulados na oogênese ainda estão sendo usados.

No estágio de oito células, formam-se junções *gap*, que permitem a comunicação entre as células, junções de adesão, que as unem e, entre os blastômeros externos, junções de oclusão, tornando-os polarizados. A superfície apical das células fica voltada para o exterior, e a basal, para o interior. Cria-se, em consequência, uma polaridade interno-externa, já que os blastômeros da superfície e aqueles internos recebem estímulos diferentes e originarão linhagens celulares distintas.

O embrião de 16 células é parecido com uma amora e é designado *mórula* (do latim *morus*, amora) (Figuras 5.1 e 5.2C). Com a aderência promovida pelas junções de adesão, os blastômeros externos não são mais identificados individualmente quando vistos da superfície: um processo denominado *compactação* (Figura 5.2D).

No embrião com 32 células, os blastômeros secretam fluido para os espaços dentro do embrião. O líquido concentra-se em uma cavidade, a blastocele, e o embrião é chamado de *blastocisto* (Figuras 5.1 e 5.2E).

A formação da blastocele depende da existência das junções comunicantes e de oclusão. Se o estabelecimento das junções *gap* for inibido, não haverá blastocele. O acúmulo de líquido deve-se ao transporte passivo de água que acompanha o transporte de Na^+ pelos canais de Na^+ e pelas proteínas transportadoras de $\text{Na}^+/\text{glicose}$ e de Na^+/H^+ da superfície apical e pelas Na^+/K^+ -ATPases

situadas na superfície basolateral dos blastômeros externos. As junções de oclusão impedem o retorno do fluido.

O blastocisto consiste em uma camada superficial, o *trofoblasto* (ou *trofoectoderma*), e em um pequeno grupo interno de células, o *embrioblasto* (ou *massa celular interna*) (Figura 5.2E). A massa celular interna é separada da blastocele por processos celulares que se estendem do trofoblasto. O trofoblasto deriva parte da placenta (*throphe*, em grego, significa nutrição), e o embrioblasto origina o embrião propriamente dito e alguns anexos embrionários.

O destino diferencial em embrioblasto ou trofoblasto depende da posição da célula na mórula: os blastômeros externos diferenciam-se no trofoblasto, enquanto os blastômeros internos formam a massa celular interna. Se uma célula interna for retirada e transplantada para a superfície de outro embrião, tornar-se-á trofoblasto, e algumas células externas, quando implantadas no interior do embrião, podem compor a massa celular interna. As mudanças no fenótipo das células internas e externas são acompanhadas por diferenças moleculares: o fator de transcrição Cdx-2 é essencial para a diferenciação em trofoblasto, e as moléculas Oct-4, Nanog e Sox-2 são expressas na massa celular interna.

Como os produtos da transcrição são importantes para o desenvolvimento, os embriões haploides geralmente morrem durante a clivagem ou logo após a implantação. Entretanto o controle do início do desenvolvimento envolve mais do que a presença de um conjunto diploide de cromossomos. O material genético de origem materna possui qualidade diferente daquele paterno. Essas informações são impressas nas células germinativas pelo ambiente diverso das gônadas. Metilação do DNA é um dos principais meios de *imprinting*.

O *imprinting* paterno desliga alguns genes responsáveis pelo desenvolvimento do embrião propriamente dito, e o *imprinting* materno suprime a expressão de genes implicados na formação de estruturas extraembrionárias, como a placenta.

Em experimentos com oócitos de camundongos

recém-fertilizados, foi observado que, quando o pronúcleo masculino era substituído por um feminino, resultando em um zigoto com dois pronúcleos femininos, era gerado um embrião normal, com placenta e saco vitelino rudimentares, enquanto, quando o pronúcleo feminino era trocado por um masculino, tendo-se um zigoto com dois pronúcleos masculinos, era produzido um embrião atrofiado, com placenta e saco vitelino normais.

Um exemplo de *imprinting* paterno no ser humano é a *mola hidatiforme* que se caracteriza pela proliferação excessiva de tecidos trofoblásticos e ausência (mola completa) ou subdesenvolvimento do embrião (mola parcial). As vilosidades coriônicas não são vascularizadas e exibem um aspecto intumescido, por isso a denominação hidatiforme (do grego *hydatus*, gota d'água).

A mola hidatiforme completa ocorre devido à entrada de dois espermatozoides em um oócito que perdeu o seu núcleo ou à duplicação do pronúcleo masculino no oócito sem núcleo. Na mola parcial, o oócito é inseminado por dois espermatozoides ou por um espermatozoide diploide, mas como o núcleo do oócito permanece, o embrião é triploide.

Molas completas geralmente terminam em aborto no início da gestação, enquanto, nas molas parciais, o aborto ocorre no segundo trimestre. Restos de tecido trofoblástico da mola parcial, após o aborto ou a curetagem, podem gerar um tumor benigno, em uma condição conhecida como *doença trofoblástica persistente*. Restos da mola completa formam um tumor maligno, invasivo: o *coriocarcinoma*.

Tanto na mola hidatiforme como no coriocarcinoma, há secreção de altos níveis de hCG (gonadotrofina coriônica humana).

2 – SEGUNDA SEMANA

2.1 – Implantação

A primeira etapa da implantação é o *hatching* (eclosão), que consiste na saída do blastocisto pela ruptura da zona pelúcida por proteases ricas em cisteína, liberadas dos microvilos do trofoblasto

(Figuras 5.1 e 5.2F). As etapas seguintes são: aposição, adesão e invasão.

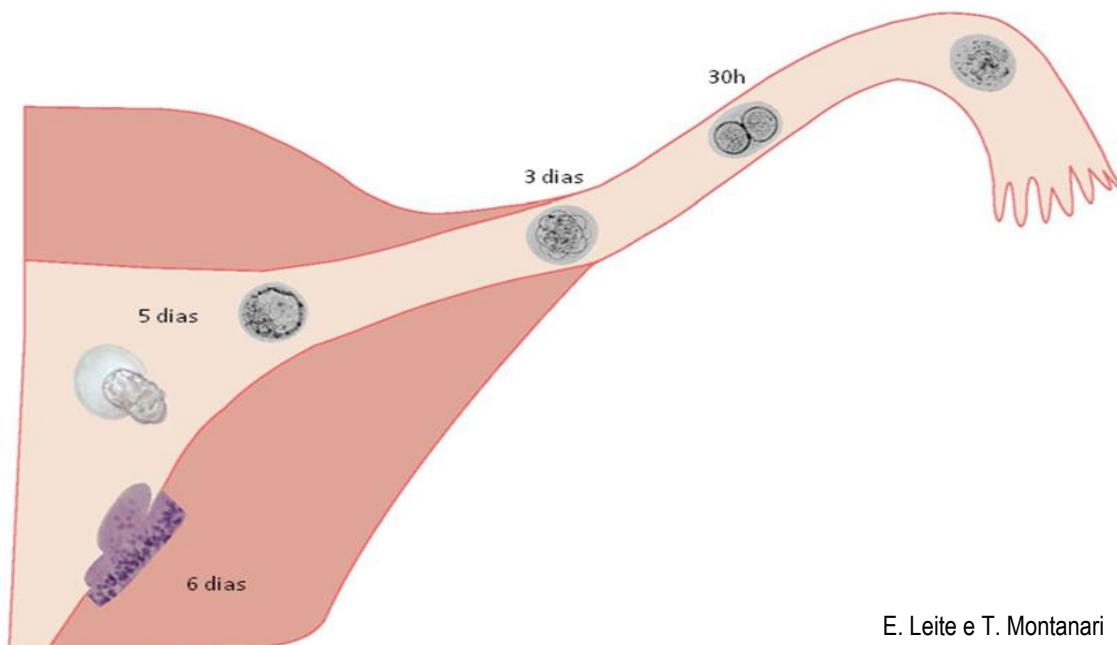
O blastocisto encosta no epitélio uterino pelo polo embrionário (aquele com o embrioblasto). A partir dessa região do trofoblasto, pela fusão de células, surge uma massa celular multinucleada, o sinciciotrofoblasto (Figuras 5.1 e 5.3). As células mais internas que permanecem uninucleadas constituem o citotrofoblasto. A aposição e a adesão são promovidas pela interdigitação dos microvilos do trofoblasto e do epitélio uterino, pela formação de complexos juncionais entre eles e por interações envolvendo receptores do trofoblasto, como os receptores para o fator inibidor da leucemia (LIF), citocina presente na superfície endometrial, e as integrinas que se ligam aos componentes da matriz extracelular do endométrio. As células epiteliais sofrem apoptose. O dano do tecido uterino estimula a síntese de prostaglandinas, que aumentam a permeabilidade vascular e, em consequência, há edema do estroma, recrutamento de leucócitos e produção de citocinas.

Na invasão, o sinciciotrofoblasto penetra o endométrio com suas projeções e enzimas que

degradam a matriz extracelular. Em roedores, foi observado que o trofoblasto produz espécies reativas de oxigênio, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais livres de oxigênio. Essas substâncias inviabilizam as células endometriais ao redor, as quais podem ser fagocitadas pelo sinciciotrofoblasto.

O trofoblasto humano é extremamente invasivo: atravessa o endométrio, atingindo glândulas e vasos sanguíneos, e alcança o terço interno do miométrio. O sangue materno extravasa para dentro de lacunas do sinciciotrofoblasto. O endométrio está na fase secretora, e o embrião capta as substâncias produzidas pelas glândulas, como o glicogênio. A fagocitose de células endometriais e de eritrócitos também contribui para a sua nutrição.

O sinciciotrofoblasto e o citotrofoblasto secretam hCG, que, além de manter a atividade do corpo lúteo, contribui para o sucesso da implantação e da diferenciação do trofoblasto. No fim da segunda semana, os níveis desse hormônio são suficientes para o teste de gravidez ser positivo.



E. Leite e T. Montanari

Figura 5.1 - Representação do transporte do embrião pela tuba uterina e da sua implantação no útero.

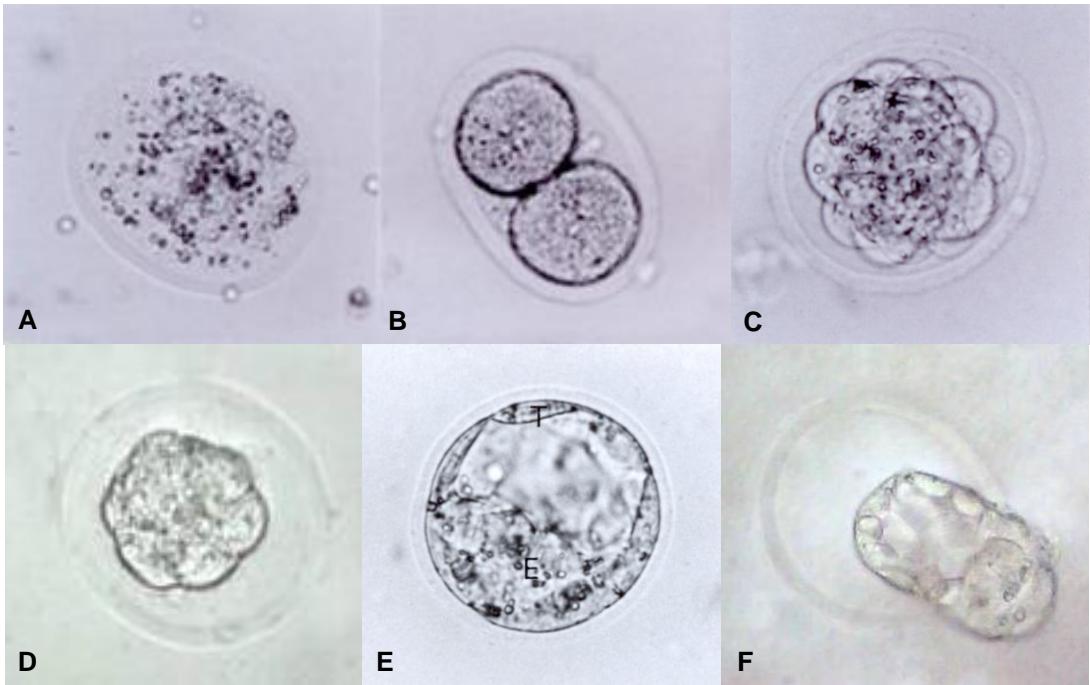


Figura 5.2 - Oócito (A), embrião de duas células (B), mórlula (C), mórlula compactada (D), blastocisto (E) e blastocisto sofrendo *hatching* (F), obtidos pela lavagem com salina (*flushing*) dos cornos uterinos de camundonga e fotografados ao microscópio de luz. No blastocisto, são indicados o trofoblasto (T) e o embrioblasto (E).



Figura 5.3 - Fotomicrografia do útero de camundonga, onde são observados, na luz, um embrião em clivagem (três núcleos são vistos) e o sinciciotrofoblasto (S) de outro embrião implantando no endométrio.

Durante a invasão, o trofoblasto produz proteinases, como a gelatinase B (ou metaloproteinase-9 da matriz), que degradam a matriz extracelular. Ele ainda modifica a expressão de integrinas para favorecer a adesão. Inicialmente é sintetizada a integrina $\alpha 6\beta 4$, receptor para a laminina da lâmina basal do epitélio uterino. Depois expressa integrina $\alpha 5\beta 1$, receptor para a fibronectina do tecido conjuntivo, e posteriormente integrina $\alpha 1\beta 1$, receptor para a laminina e para o colágeno do tipo IV da lâmina basal dos vasos sanguíneos.

Na *pré-eclâmpsia*, as células trofoblásticas têm suas propriedades invasivas alteradas: não produzem gelatinase B, mantêm a expressão de $\alpha 5\beta 1$ e não expressam a integrina $\alpha 1\beta 1$. A invasão é superficial, resultando em uma pobre perfusão sanguínea da placenta e, consequentemente, retardado do crescimento intrauterino e mortalidade perinatal.

A *pré-eclâmpsia* afeta 7 a 10% das gestações, sendo mais comum na primeira gravidez. No final do segundo trimestre ou no terceiro trimestre, a gestante apresenta pressão sanguínea aumentada, disfunção renal e edema, sintomas que servem de alerta dessa condição.

Com a implantação, o endométrio sofre a *reação deciduial*. Os fibroblastos diferenciam-se nas células deciduais. Tornam-se poliploides, com grande capacidade de síntese e acumulam glicogênio e lipídios (a serem consumidos pelo embrião). Adquirem uma forma poliédrica, estabelecem comunicação através de junções *gap* e, pelo surgimento de junções de adesão, as células deciduais ficam justapostas, circundando o embrião.

A reação deciduial restringe a invasão do trofoblasto e cria uma barreira inicial à passagem de macromoléculas, inclusive IgG, e de células, como micro-organismos, macrófagos e vários tipos de linfócitos, protegendo o embrião de infecções e contra a rejeição pelo organismo materno.

O trofoblasto também tem um papel nessa proteção imunológica, porque suas células praticamente não são antigênicas. Expressam antígenos do complexo de histocompatibilidade (*major histocompatibility complex - MHC*) da classe I e não os da classe II, que são geralmente utilizados pelas células de defesa para distinguir antígenos *self* de *nonself*. Não expressam moléculas MHC da classe Ia comuns em outros tipos celulares, como HLA (antígenos dos leucócitos humanos)-A, B e C, mas sim uma molécula da classe Ib, específica do trofoblasto: HLA-G, que, ao se ligar aos linfócitos T *killer* (ou citotóxicos), tem um efeito inibitório e impede a destruição das células fetais.

Há ainda anticorpos maternos que revestem os antígenos MHC de origem paterna, evitando a resposta imune celular. A resposta imunológica é também suprimida pelas interleucinas secretadas pelo trofoblasto e pelos leucócitos que infiltram o estroma endometrial e por vários hormônios, como a progesterona, o estrógeno, a prolactina e o lactogênio placentário humano.

O epitélio do endométrio está reconstituído no 12º dia, cobrindo totalmente o embrião. Então o embrião humano não se desenvolve na luz do útero, mas sim dentro da sua parede.

Geralmente a implantação acontece na parede posterior do útero. No entanto, se for muito próximo ao canal cervical (*placenta prévia*), exige repouso da

gestante, porque a separação prematura da placenta causa hemorragia e morte do feto por falta de oxigenação.

Quando a implantação se dá fora do útero, como na tuba uterina ou na cavidade abdominal, tem-se uma *gravidez ectópica*. A gravidez tubária é o tipo mais comum de gravidez ectópica. Ela pode ser decorrente da obstrução da tuba por processos inflamatórios, como, por exemplo, aqueles causados pela gonorreia e pela bactéria clamídia (*Chlamydia sp.*), responsáveis pela Doença Inflamatória Pélvica (DIP), ou ainda por aderências devido à endometriose ou à cirurgia anterior. Até a oitava semana de gestação, em virtude do crescimento do embrião, a tuba rompe-se, o que provoca hemorragia e pode ser fatal.

O local mais frequente de implantação na gravidez abdominal é a bolsa retouterina (ou bolsa de Douglas), uma prega de peritônio entre o reto e o útero. O desenvolvimento pode chegar a termo. Há casos em que o feto não retirado se calcifica, formando o *litopédio* (do grego *lithos* – pedra, *paidion* – criança).

A implantação nos órgãos abdominais e no mesentério causa sangramento intraperitoneal, sendo alto o risco de morte materna.

Métodos de controle da natalidade interceptivos

- *Pílula de emergência* (ou *do dia seguinte*): altas doses de estrógeno são tomadas até 72h após a relação sexual. O desequilíbrio nos níveis hormonais leva à descamação do endométrio, assim o embrião não tem mais onde se implantar;

- *DIU (dispositivo intrauterino)*: é um dispositivo de plástico que é inserido pelo médico no útero, podendo durar três a cinco anos. Como um agente estranho, irrita a mucosa do útero, impedindo a implantação. Há modelos que possuem um fio de cobre. A liberação desse íon faz com que a cauda dos espermatozoides enrole-se, prejudicando o seu movimento e evitando a concepção. O DIU que libera progesterona age suprimindo a ovulação e espessando o muco cervical.

2.2 – Placentação

Durante a gravidez, o endométrio é designado como decídua (*deciduus*, uma queda), porque é a camada do útero que irá descamar no parto. Conforme a sua localização, a decídua pode ser subdividida em: *decídua basal*, que está entre o embrião e o miométrio; *decídua capsular*, que está entre o embrião e a luz do útero, e *decídua parietal*, que é o restante da decídua (Figura 5.4).

Na segunda semana, as projeções do sinciciotrofoblasto são invadidas pelo citotrofoblasto, formando as vilosidades primárias. Depois, na terceira semana, elas são penetradas pelo mesoderma extraembrionário, um tecido rico em matriz extracelular, originado do embrião. Têm-se as vilosidades secundárias. Ainda na terceira semana, surgem vasos sanguíneos nesse mesoderma, inclusive nas vilosidades, que são então as vilosidades terciárias. Essas *vilosidades* são denominadas *coriônicas*, porque pertencem ao *córion*, que se refere ao conjunto sinciciotrofoblasto, citotrofoblasto e mesoderma extraembrionário.

Os genes contendo homeobox *Msx2* e *Dlx4* (*distalles-4*) são expressos na interface trofoblasto-mesoderma extraembrionário dos vilos em formação. *Gem-1* é expresso nos pontos de ramificação dos vilos. Enquanto esse fator de transcrição promove a saída do ciclo celular, as células citotrofoblásticas vizinhas à região dessa expressão continuam a proliferar, resultando novos vilos.

Nos vilos mais distais, sob a influência da baixa tensão de oxigênio, o citotrofoblasto ultrapassa o sinciciotrofoblasto, contactando as células deciduais e formando uma camada contínua que circunda o córion. Os vilos revestidos pelo sinciciotrofoblasto e que não alcançam as células deciduais são denominados *vilos flutuantes*, enquanto os vilos com citotrofoblasto externamente e que fazem contato com as células deciduais são os *vilos de ancoragem*. A superfície dos vilos e a face interna da camada citotrofoblástica, que são banhadas pelo sangue materno, são revestidas pelo sinciciotrofoblasto.

A partir do segundo mês, as vilosidades coriônicas em contato com a decídua capsular regredem, enquanto aquelas associadas à decídua basal aumentam. A região do córion sem vilosidades é o *córion liso*, e aquela com vilosidades, o *córion viloso* (ou *frondoso*) (Figura 5.4).

Células do citotrofoblasto migram dos vilos de ancoragem, invadem as artérias espiraladas e secretam matriz extracelular nas suas paredes, dilatando-as de modo que o sangue extravasa com pressão muito menor do que a pressão arterial. O desenvolvimento embrionário inicial é adaptado para essa baixa tensão de oxigênio (3%). Entretanto as artérias espiraladas na região do futuro córion liso não são seladas pelo citotrofoblasto como aquelas do futuro córion viloso. Isso leva a um aumento local na concentração de oxigênio, e esse *stress oxidativo* provoca a degeneração do sinciciotrofoblasto que cobre os vilos e a regressão da rede capilar no seu interior.

Com o crescimento do embrião, a decídua capsular faz saliência na cavidade uterina e funde-se com a decídua parietal, obliterando a luz do útero. A decídua capsular degenera e desaparece (Figura 5.4).

A placenta é constituída pela *decídua basal* e pelo *córion viloso*, portanto, tem um componente materno e outro fetal (Figura 5.4). A sua forma discoide (Figura 5.5) é determinada pela área circular do córion viloso. O termo placenta vem do grego *plakous*, que significa bolo achatado. A partir do quarto mês, o córion viloso divide-se em 10 a 38 áreas de grupos de vilosidades, chamadas *cotilédones*. Os sulcos entre eles são produzidos pelo tecido da decídua basal interposto, os septos placentários (Figura 5.5). No término da gestação, a placenta mede cerca de 20cm de diâmetro e 3cm de espessura e pesa 500g.

Cerca de 30min após o nascimento, a placenta é expulsa. A sua integridade deve ser conferida pelo profissional de saúde. A retenção no útero de parte dos cotilédones causa infecção e hemorragia.

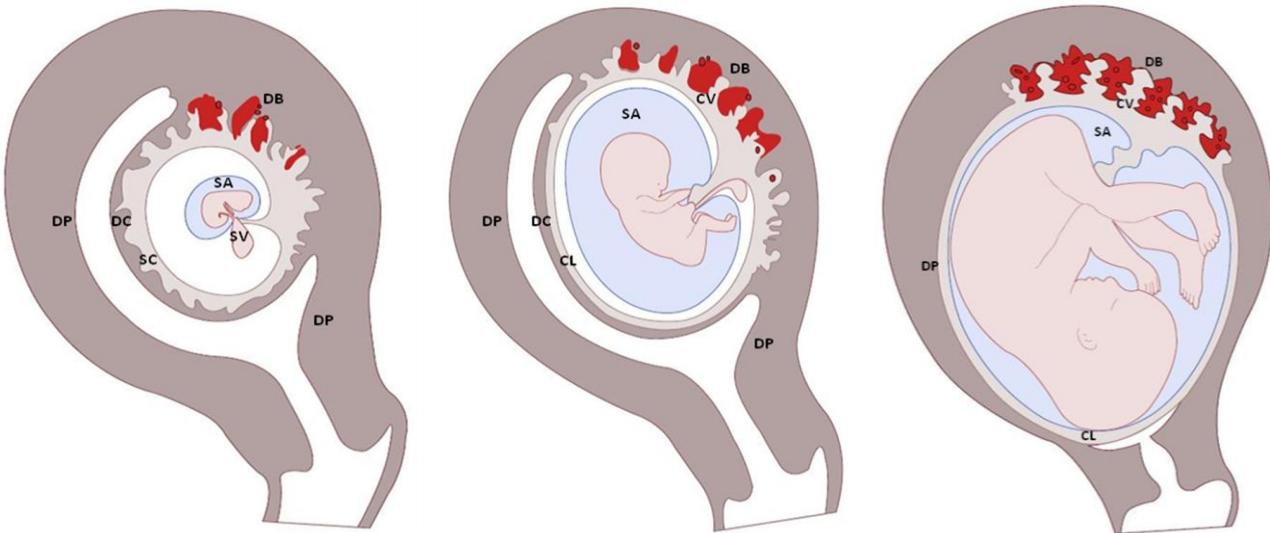


Figura 5.4 - Corte sagital do útero gravídico de quatro e nove semanas e de cinco meses: DB – decídua basal; DC – decídua capsular; DP – decídua parietal; SC – saco coriônico; SA – saco amniótico; SV – saco vitelino; CV – córion viloso; CL – córion liso. Baseado em Moore, K. L. *Embriologia básica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. p.79.

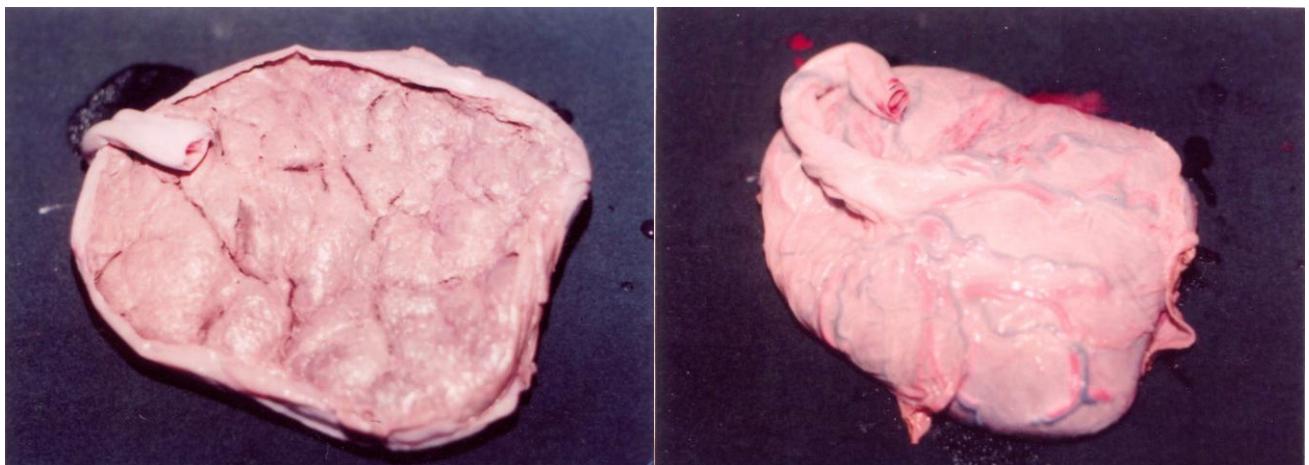


Figura 5.5 - Fotografias de placenta humana a termo. Na vista pela face que estava em contato com a decídua basal, é possível observar os cotilédones, correspondentes aos grupos de vilosidades coriônicas. Na vista oposta, observa-se o revestimento pela membrana amniótica (inclusive no cordão umbilical) devido à expansão do saco amniótico. As duas artérias umbilicais (que transportam sangue do feto para a placenta) e a veia umbilical (que leva sangue da placenta para o feto) foram coradas artificialmente (cortesia de Nívia Lothhammer).

A barreira placentária é representada pelos tecidos das vilosidades coriônicas que separam o sangue materno do fetal. Até o quinto mês, são o sinciciotrofoblasto, o citotrofoblasto, o mesoderma extraembrionário e o endotélio dos vasos sanguíneos

fetais. Após esse período, fragmentos do sinciciotrofoblasto são perdidos, o citotrofoblasto degenera e o mesoderma extraembrionário diminui. A barreira placentária resume-se ao sinciciotrofoblasto e ao endotélio, facilitando as trocas entre a mãe e o filho

em crescimento. Geralmente o sangue materno e o fetal não se misturam: embora o sangue materno extravase para os espaços intervilosos, o sangue fetal, conduzido por duas artérias e uma veia pelo cordão umbilical (Figura 5.5), fica dentro dos vasos no córion. Para favorecer a passagem de substâncias e gases, os capilares das vilosidades são do tipo fenestrado.

A grande superfície placentária (5m^2 na 28^a semana e quase 11m^2 a termo), promovida pelas vilosidades coriônicas e pelas microvilosidades do sinciciotrofoblasto, facilita o transporte de substâncias. Gases, água, hormônios esteroides e ureia são transportados por difusão simples, e a glicose é transferida por difusão facilitada. A maioria das vitaminas, os aminoácidos e os lipídios é internalizada por transporte ativo. Oxigênio e nutrientes são encaminhados da mãe para o embrião/feto, enquanto gás carbônico e ureia difundem-se no sentido inverso. O gás carbônico é trocado por oxigênio nos pulmões da mãe, e a ureia é excretada nos rins.

Drogas, como álcool e cocaína; gases tóxicos, como o monóxido de carbono e o dióxido de carbono; vírus, como o vírus da rubéola e o citomegalovírus; a bactéria *Treponema pallidum* da sífilis, e o protozoário *Toxoplasma gondii* atravessam a placenta e prejudicam o desenvolvimento.

O álcool afeta a formação da face e do sistema nervoso, o crescimento e o ganho de peso. A cocaína provoca aborto espontâneo, malformações do sistema nervoso, retardo no crescimento, parto prematuro e distúrbios comportamentais, como déficit de atenção.

O vírus da rubéola pode causar surdez (pela lesão do órgão de Corti, estrutura responsável pela audição, presente no ducto coclear), catarata e glaucoma congênitos e defeitos cardíacos. A infecção pelo citomegalovírus no primeiro trimestre provoca frequentemente aborto espontâneo e, no período fetal mais avançado, pode resultar em retardo no crescimento intrauterino, cegueira, distúrbios de audição, neurológicos e neurocomportamentais. O *T. pallidum* causa surdez congênita, defeitos na face e no palato, hidrocefalia, anormalidades nos dentes e nos ossos e retardo mental. Quando a mãe não é tratada, ocorrem natimortos em cerca de um quarto dos casos. A infecção

pelo *T. gondii* pode afetar o desenvolvimento do cérebro e dos olhos e levar à morte fetal.

Anticorpos maternos, principalmente IgG, são transportados para o feto por endocitose, o que protege o recém-nascido de algumas doenças comuns na infância, como a varíola, a difteria e o sarampo.

A placenta produz hormônios, como hCG, a progesterona, o estrógeno e a somatomamotrofina coriônica (ou lactogênio placentário humano). A síntese de estrógeno, entretanto, envolve enzimas presentes também nas adrenais e no fígado do feto.

A hCG, além de sustentar o corpo lúteo gravídico, estimula a secreção das células de Leydig no feto do sexo masculino de testosterona, o qual promove a diferenciação da genitália externa masculina e a descida dos testículos para o escroto. A progesterona mantém a decídua, inibindo a contratilidade do miométrio e desenvolve as glândulas mamárias para a lactação. O estrógeno aumenta o útero e a genitália externa da mãe, estimula o crescimento dos ductos mamários e relaxa os ligamentos pélvicos, o que facilita o parto. A somatomamotrofina coriônica, que tem uma estrutura similar ao hormônio de crescimento, influencia o crescimento, a lactação e o metabolismo da glicose e dos lipídios da mãe. A mãe utiliza a gordura para obter energia, e a glicose fica disponível para o filho.

Na maioria dos mamíferos eutérios (placentários verdadeiros), a implantação limita-se à adesão do embrião ao epitélio uterino, com desenvolvimento na luz uterina, mas há aqueles, como os humanos, em que o embrião penetra no endométrio e o desenvolvimento ocorre dentro da parede do útero. No primeiro caso, na ocasião do parto, as vilosidades coriônicas desprendem-se das pregas da mucosa uterina, sem danificá-la e há um parto sem hemorragia. Essa placenta é dita indecídua. No segundo caso, há perda de sangue no parto, já que a mucosa uterina se rompe com a saída do feto e de suas membranas. Essa placenta é denominada decídua. Os diferentes tipos de placenta são descritos e exemplificados no Quadro 5.1.

Quadro 5.1 - Tipos de placenta:

<i>Placentas indecíduas:</i>		
- <i>Epiteliocorial, difusa:</i>	é constituída pelo córion, com vilosidades rudimentares, e pelo alantoide, bastante vascularizado; o contato entre as vilosidades coriônicas e o endométrio é superficial, não danificando o epitélio uterino; as vilosidades estão distribuídas por toda a superfície (por isso, difusa); a alimentação do embrião é feita pelas secreções das glândulas endometriais.	éguas, porcas, paquidermes e cetáceos.
- <i>Sinepiteliocorial, cotiledonária:</i>	há a fusão das células epiteliais uterinas e das células trofoblásticas, resultando em uma delgada camada epitelial de origem materna e fetal; essas regiões de contato estão distantesumas das outras, e as vilosidades coriônicas formam grupos chamados de cotilédones.	ruminantes (vaca, ovelha).
<i>Placentas decíduas:</i>		
- <i>Endoteliocorial, zonária:</i>	o trofoblasto destrói o epitélio e o conjuntivo uterino e faz contato com o endotélio dos capilares maternos, que conserva sua integridade; as vilosidades estão dispostas em uma faixa, circunscrevendo o córion, e o alantoide, com seus vasos sanguíneos, penetra nas vilosidades.	carnívoros (gata, cadela).
- <i>Hemocorial, discoidal:</i>	o sinciciotrofoblasto erode o epitélio, o conjuntivo e o endotélio dos vasos do endométrio, e o sangue materno extravasa para as lacunas do sinciciotrofoblasto; o alantoide é pouco desenvolvido e fica incorporado ao cordão umbilical, onde se diferencia em vasos que interligam a circulação fetal com a placentária; as vilosidades coriônicas persistem em uma região em forma de disco, que será o componente fetal da placenta.	primatas, roedores, insetívoros e quirópteros.

2.3 – Formação do embrião didérmico, do saco amniótico, do saco vitelino e do alantoide

No sétimo dia de desenvolvimento, por delaminação do embrioblasto, forma-se uma fina camada celular voltada para a blastocele: é o *hipoblasto*. No dia seguinte, entre as células do embrioblasto, acumula-se fluido e cria-se a cavidade amniótica. Sob ela, as células do embrioblasto arranjam-se em uma camada de células colunares: o *epiblasto*. Então o *embrião*, na segunda semana, é *didérmico*, ou seja, composto por duas camadas: o epiblasto e o hipoblasto (Figura 5.6). Entre o epiblasto e o hipoblasto, uma lâmina basal se forma.

Estudos em embriões de camundongo têm mostrado que, já no estágio de 64 células, algumas células expressam o fator nanog, enquanto outras expressam

Gata 6. Elas estão inicialmente misturadas na massa celular interna, mas as células Gata 6 que não estão na superfície sofrem apoptose. As células expressando nanog representam os precursores do epiblasto, e aquelas expressando Gata 6 tornam-se o hipoblasto.

O teto da cavidade amniótica é originado de células do epiblasto. O âmnio (membrana amniótica ou ectoderma extraembrionário) será o revestimento interno do *saco amniótico*. As células do hipoblasto migram e revestem a blastocele, originando a membrana de Heuser (ou endoderma extraembrionário), que formará o *saco vitelino* (Figura 5.6).

Tão logo o saco vitelino se estabelece, matriz extracelular é depositada entre a membrana de Heuser e o citotrofoblasto: é o retículo extraembrionário (Figura 5.6). Ele permite a migração de células

provenientes do epiblasto, que se organizam em duas camadas: o *mesoderma extraembrionário somático*, vizinho ao citotrofoblasto e ao âmnio, e o *mesoderma extraembrionário esplâncnico*, que está adjacente à membrana de Heuser. O retículo extraembrionário entre as duas camadas é substituído por fluido, tendo-se o *celoma extraembrionário* (Figura 5.7).

O sinciotrofoblasto, o citotrofoblasto e o mesoderma extraembrionário somático compõem o córion. O *saco coriônico* (ou *gestacional*) consiste no córion e no celoma extraembrionário (Figura 5.7).

A região do mesoderma extraembrionário somático acima do âmnio que liga o embrião ao citotrofoblasto é o pedúnculo do embrião e será o cordão umbilical (Figura 5.7).

O saco vitelino é estreitado por uma nova migração de células do hipoblasto, resultando no saco vitelino definitivo (Figura 5.7). O embrião humano não tem vitelo, e o aparecimento do saco vitelino é uma recapitulação evolutiva.

O *saco amniótico* é formado pela membrana amniótica (ou ectoderma extraembrionário) e pelo mesoderma extraembrionário somático (Figura 5.7).

O líquido amniótico é derivado inicialmente do soro do sangue materno. Mais tarde há contribuição do transudato do cordão umbilical, da pele (ainda não queratinizada), do trato respiratório e do sistema digestório. O fluido é deglutido pelo feto e absorvido pelo trato gastrointestinal, atingindo a corrente sanguínea. A água ingerida pode deixar a circulação fetal através da placenta ou ser excretada pelos rins do feto, retornando ao líquido amniótico. O líquido amniótico é, portanto, urina hipotônica: 98 a 99% de água e 1 a 2% de solutos, como proteínas, enzimas, carboidratos, lipídios, hormônios, vitaminas e eletrólitos.

Com a expansão pelo acúmulo de líquido, o saco amniótico ocupará toda a cavidade coriônica, e o âmnio encosta no mesoderma extraembrionário do córion, resultando na membrana amniocoriónica (Figura 5.5).

O líquido amniótico protege o feto do dessecamento, de choques mecânicos e de infecções,

permite a sua movimentação e evita a aderência da pele. Ainda ajuda a controlar a temperatura corporal, mantendo-a relativamente constante.

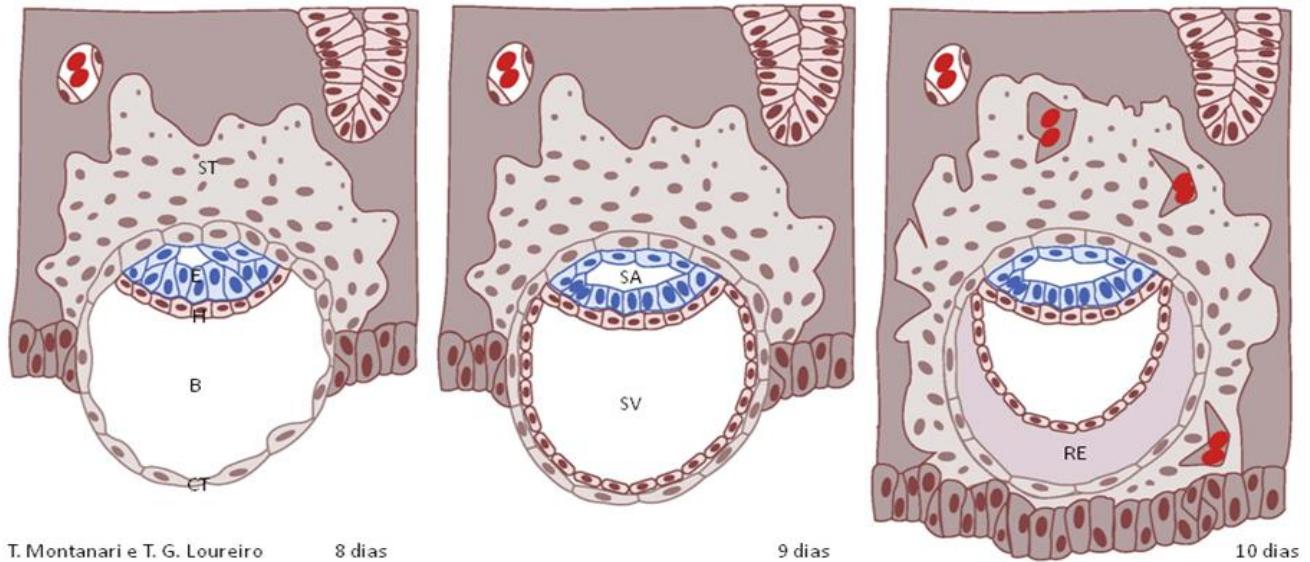
O líquido amniótico também é absorvido pelos pulmões e, durante o parto, é eliminado pela boca e pelo nariz através da pressão exercida sobre o tórax.

O volume do líquido amniótico alcança, no fim da gravidez, cerca de 1L. Um volume muito pequeno de líquido amniótico (abaixo de 500mL) constitui o *oligoidrâmnio* e pode ser decorrente de insuficiência placentária, da ruptura da membrana amniocoriónica, da compressão do cordão umbilical, da obstrução do trato urinário ou da ausência dos rins do feto. Pela pressão contra a parede uterina, devido à pouca quantidade de líquido amniótico, o feto pode apresentar hipoplasia pulmonar, defeitos na face e nos membros (*síndrome de Potter*). O excesso de líquido amniótico (acima de 2L) é chamado *hidrâmnio* e está associado à gravidez múltipla, à anencefalia ou a anomalias obstrutivas do trato digestório.

O *saco vitelino* é formado pela membrana de Heuser (o endoderma extraembrionário originado pelo hipoblasto) e pelo mesoderma extraembrionário esplâncnico (Figura 5.7). A presença de vasos sanguíneos no mesoderma extraembrionário sustenta troficamente esse anexo embrionário.

Nas aves e nos répteis, o saco vitelino armazena vitelo, que é usado para a nutrição do embrião em desenvolvimento. Nos mamíferos, a presença da placenta dispensou a necessidade do vitelo, e o saco vitelino não tem mais função de assegurar a nutrição. No entanto, antes da circulação placentária ser estabelecida, nutrientes, como ácido fólico e vitaminas A, B₁₂ e E, são concentrados no saco vitelino e absorvidos por endocitose. Ainda nele proliferaram dois tipos celulares importantes: as células sanguíneas e as células germinativas primordiais.

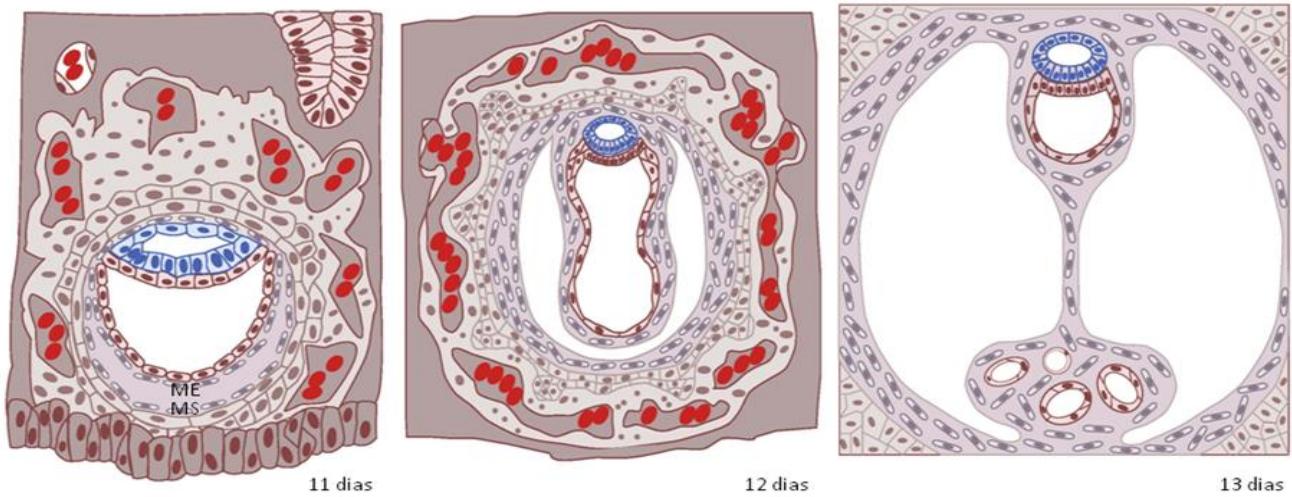
Na quarta semana, com o dobramento do disco embrionário em um tubo, parte do saco vitelino fica incorporada como intestino primitivo. O restante fica junto ao pedúnculo do embrião e é envolvido pela membrana amniótica na sua expansão, o que resulta no cordão umbilical (Figuras 5.5 e 5.8).



Baseado em Larsen, W. J. **Human Embryology**. New York: Churchill Livingstone, 1993. p.36-8.

Figura 5.6 - Na segunda semana, o embrião é constituído pelo epiblasto (E) e hipoblasto (H). As células do hipoblasto migram e revestem a blastocele (B), originando o endoderma extraembrionário do saco vitelino (SV). As células do epiblasto originam o ectoderma extraembrionário do saco amniótico (SA). Entre o endoderma extraembrionário e o citotrofoblasto (CT), é depositado o retículo extraembrionário (RE). ST – sinciciotrofoblasto.

T. Montanari



Baseado em Larsen, 1993. p.38-9.

Figura 5.7 - Células oriundas do epiblasto migram sobre o retículo extraembrionário e originam o mesoderma extraembrionário somático (MS), adjacente ao citotrofoblasto e ao saco amniótico, e o mesoderma extraembrionário esplâncnico (ME), adjacente ao saco vitelino. O retículo extraembrionário, entre as duas camadas, é substituído por fluido, gerando o celoma extraembrionário (ou cavidade coriônica). Sinciciotrofoblasto, citotrofoblasto e mesoderma extraembrionário somático constituem o córion. O córion e o celoma extraembrionário compõem o saco coriônico (ou gestacional). Uma nova migração de células do hipoblasto forma o saco vitelino definitivo.

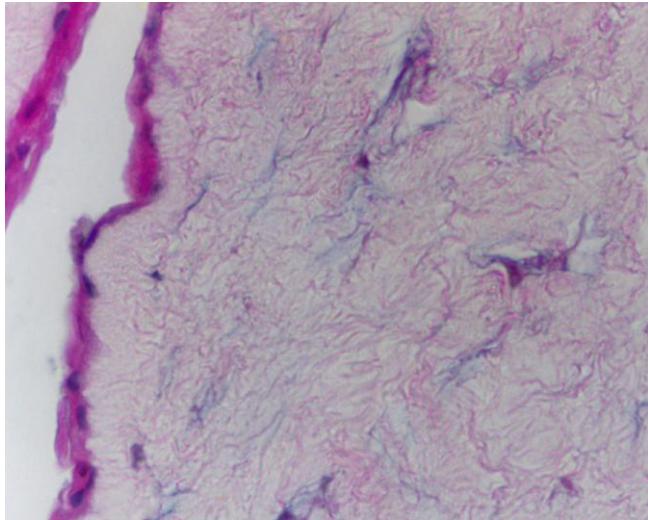


Figura 5.8 - Corte histológico de cordão umbilical, mostrando o revestimento epitelial proveniente do âmnio e o tecido mucoso, derivado do mesoderma extraembrionário somático.

Como a data da concepção pode não ser conhecida pela gestante, os obstetras utilizam o primeiro dia do último período menstrual (UPM) para estimar o tempo de gravidez: é a *idade gestacional*. A data de nascimento é cerca de 280 dias (40 semanas) após o início da UPM. Uma regra para calcular a data provável do parto (DPP) é a de subtrair três meses a partir do primeiro dia do UPM e acrescentar um ano e sete dias.

A avaliação pela ultrassonografia do tamanho do saco gestacional e do embrião ou do feto (frequentemente o comprimento do topo da cabeça à nádega) (Figuras 5.9 e 5.10) permite fazer uma previsão confiável da data provável do parto.

São utilizadas ainda como medidas: o maior comprimento nos embriões na terceira ou no início da quarta semana, que são retos; a circunferência da cabeça e do abdômen nos embriões com mais de seis semanas, e ainda, após a oitava semana, o comprimento do pé, do fêmur e do topo da cabeça ao calcanhar.

O sistema *Carnegie de estagiamento de embriões*, baseado no comprimento e nas características externas, é usado internacionalmente para estimar a idade de embriões recuperados após o aborto espontâneo.



Figura 5.9 - Sonograma de saco gestacional com 30,1mm, contendo embrião com oito semanas gestacionais, medindo 16,7mm de comprimento cabeça-nádega. * - luz uterina. Cortesia de Tamara Montanari.

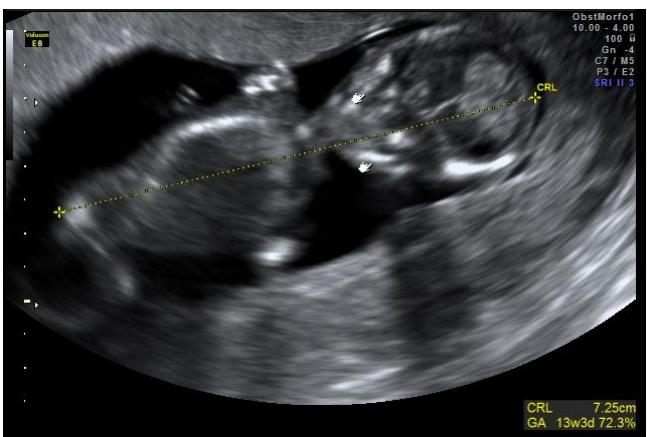


Figura 5.10 - Sonograma de feto com 13 semanas gestacionais, medindo 7,25cm de comprimento cabeça-nádega (*crown-rump length - CRL*). Cortesia de Neila Batista e Landerson Luciano dos Santos.

Por volta do 16º dia, o *alantoide* (do grego *allas*, salsicha) nasce como uma evaginação ventral do intestino posterior revestida por endoderma e por mesoderma extraembrionário esplâncnico.

Nos répteis, aves e em alguns mamíferos, é um importante órgão respiratório e depósito de excreção urinária. No ser humano, é vestigial. Ficará embutido no cordão umbilical, e, no seu mesoderma, são gerados os vasos umbilicais que ligam os vasos fetais

àqueles da placenta. Mais tarde no desenvolvimento, a parte proximal do alantoide (úraco) será contínua com a bexiga em formação. Após o nascimento, ela se transformará em um denso cordão fibroso, o ligamento umbilical médio, que ligará a bexiga à região umbilical.

Os gêmeos *monozigóticos* (ou *idênticos*) são oriundos do mesmo zigoto, sendo formados pela separação dos blastômeros do embrião de dois a três dias, pela divisão do embrioblasto na primeira semana ou pela divisão do disco embrionário na segunda semana.

A primeira situação é a mais rara. Cada embrião originado pela separação dos blastômeros tem seu saco amniótico, seu saco coriônico e sua placenta. Se os dois embriões se implantarem próximos, as placenta podem estar fusionadas, e alguns vasos podem estabelecer comunicações. Se houver uma grande anastomose arteriovenosa, ocorrem distúrbios circulatórios que beneficiarão um dos gêmeos em detrimento do outro, levando a diferenças de tamanho e até a morte de um deles. O gêmeo do qual o sangue é desviado é geralmente malformado e é denominado monstro acardíaco.

Cada embrião proveniente da divisão do embrioblasto tem seu saco amniótico, mas os dois estão cercados pelo mesmo saco coriônico e, portanto, há uma única placenta.

No caso daqueles produzidos pela divisão do disco embrionário, há um saco amniótico comum e, pelo mesmo motivo que o anterior, um saco coriônico e uma placenta. Se a divisão do disco embrionário for parcial, têm-se gêmeos xifópagos (ou siameses) (Figuras 5.11 e 5.12). Eles podem estar unidos somente pela pele e/ou pelo tecido subcutâneo. Entretanto órgãos e parte do esqueleto podem ser compartilhados. Inversão da simetria dos órgãos de um dos gêmeos é comum. Há uma variedade de gêmeos xifópagos, onde um deles é bem menor, consistindo geralmente de torso e membros e está preso à região oral, ao mediastino ou à pelve do outro irmão: são referidos como gêmeo parasita e gêmeo hospedeiro.

Os gêmeos *dizigóticos* (ou *fraternos*) são de zigotos diferentes. É a situação de gemelidade mais frequente: 2/3 do total. Há uma tendência para gêmeos dizigóticos, e não para monozigóticos, em famílias e com o aumento da idade materna. A sua ocorrência também está

relacionada com a ovulação de vários óocitos provocada pela administração exógena de gonadotrofinas ou medicamentos, como o clomifeno no tratamento para engravidar. Como é evidente pela sua formação, cada embrião tem seu saco amniótico, seu saco coriônico e, consequentemente, sua placenta. Se os embriões se implantarem muito próximos, os sacos coriônicos e as placenta podem ser fusionados.

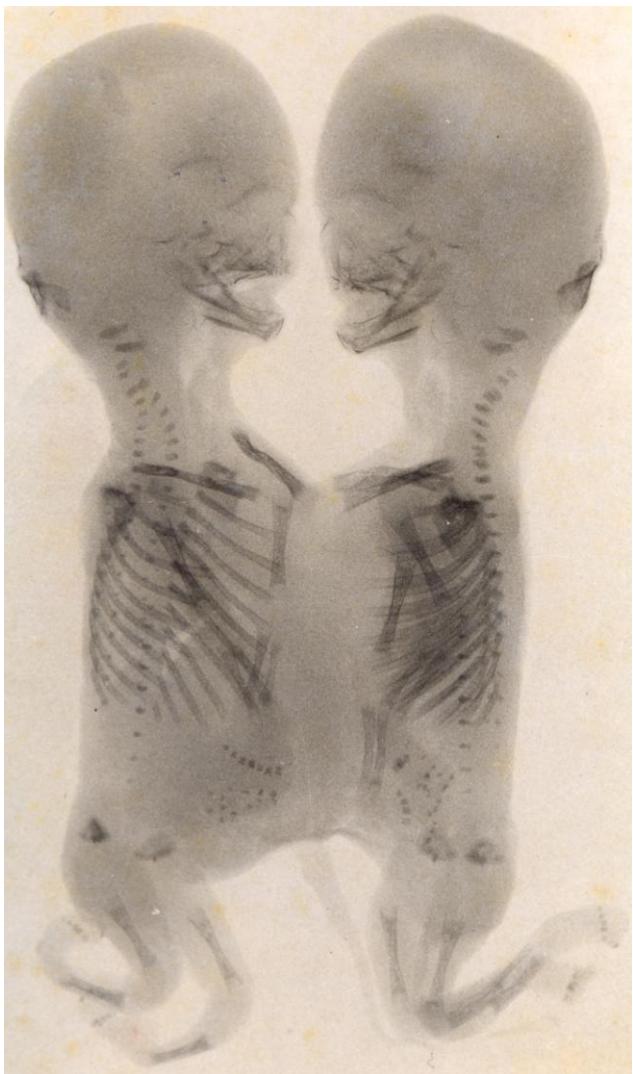


Figura 5.11 - Fetus de gêmeos xifópagos, cujo esqueleto foi corado pela Alizarina vermelha (Fotografia pertencente ao acervo do Departamento de Ciências Morfológicas, UFRGS).



Figura 5.12 - Gato natimorto com uma cabeça e dois troncos.

3 – TERCEIRA SEMANA

3.1 – Gastrulação, formação da linha primitiva e do embrião tridérmico

O principal evento da terceira semana é a *gastrulação*, um processo que envolve movimentos celulares que estabelecem as três camadas germinativas no embrião. Apesar do ovo dos mamíferos placentários não ter vitelo, a gastrulação é semelhante à de répteis e aves por uma conservação evolutiva. O embrião desenvolve-se como um disco e mais tarde dobra-se e fecha-se em um corpo cilíndrico.

Como detalhado ao descrever a gastrulação em aves (Capítulo 4 – Desenvolvimento comparado), inicialmente as células do epiblasto formam um espessamento em cunha, na região posterior do embrião. Nessa região, membros das famílias TGF- β e Wnt foram identificados como agentes indutores. O espessamento passa para a forma linear por extensão convergente no sentido caudocefálico (Figura 5.13).

A concentração de células do epiblasto estabelece uma linha mediana e caudal, a *linha primitiva*. Na sua extremidade cranial, há um maior acúmulo de células, o nó primitivo (ou nó de Hensen) (Figura 5.13).

As células do nó primitivo expressam moléculas importantes na organização do eixo embrionário, como Foxa-2, *goosecoid*, cordina (de *chord*, medula em inglês), noguina (de *noggin*, referência à cabeça em inglês coloquial), nodal e ácido retinoico.

Com o aparecimento da linha primitiva, são identificados o eixo anteroposterior (craniocaudal) e o eixo direito-esquerdo do embrião.

O hipoblasto determina a origem e o direcionamento da linha primitiva. Em embriões de aves, a rotação do hipoblasto em 90° em relação à orientação do epiblasto faz com que a linha primitiva surja 90° da posição normal.

Estudos com embriões de camundongo mostraram que a determinação do eixo anteroposterior depende do endoderma visceral (assim é denominado o hipoblasto em camundongo). Na futura região anterior, há a ativação de Dickkopf 1 (Dkk 1), que antagoniza a ação de Wnt, e há a expressão de *lefty-1* e Cerberus-1 (Cer-1), inibidores da nodal. Por outro lado, na futura parte posterior, sinais Wnt de fontes extraembrionárias induzem a expressão de nodal, levando à formação da linha primitiva.

No nó primitivo, há 200 a 300 células monociliadas, e o batimento dos cílios resulta em uma corrente de fluido para esquerda, que tem por consequência a expressão de duas moléculas sinalizadoras da família

TGF- β , nodal e *lefty-1*, nesse lado do embrião. Uma sequência de interações moleculares desencadeadas pela nodal resulta na ativação do gene *Pitx2* no lado esquerdo. O fator de transcrição Pitx-2 promove a formação de estruturas assimétricas, como, por exemplo, coração, fígado, pulmões, estômago e baço. *Lefty-1* é produzido por um curto período e posiciona-se ao longo do lado esquerdo da linha primitiva, evitando a difusão das moléculas que determinam o sinistismo para o lado direito.

A assimetria esquerda-direita é invertida em cerca de 1/10.000 indivíduos. Essa condição é denominada *situs inversus* e pode ser decorrente da mutação de genes envolvidos no estabelecimento da assimetria ou na motilidade dos cílios. Pessoas com síndrome de Kartagener podem apresentar *situs inversus*.

As células do epiblasto apresentam características de células epiteliais: são justapostas graças às moléculas de adesão celular E-caderinas, sintetizam citoqueratina e possuem lâmina basal e polaridade (superfícies apical e basal definidas). Aquelas células na linha primitiva se alongam, perdem sua lâmina basal, deixam de expressar as E-caderinas, desprendendo-se das suas vizinhas, adquirem uma morfologia em garrafa, já que a parte apical se estreita pelo deslizamento dos filamentos de actina, e migram (ingressão). Depois de deixar a linha primitiva, tornam-se estreladas devido aos pseudópodos e são denominadas células mesenquimais. Essa transformação está correlacionada com a expressão do fator de transcrição *snail*. A migração é possibilitada pelas substâncias da matriz extracelular, como a fibronectina e o ácido hialurônico.

O movimento de células através da linha primitiva produz um sulco, o sulco primitivo, e a saída de células do nó primitivo forma a fosseta primitiva (Figura 5.13).

As primeiras células a migrarem originam o mesoderma extraembrionário. Outras células substituem as células do hipoblasto que revestiram a blastocele e constituem o *endoderma* (algumas células hipoblasticas originais são incorporadas ao endoderma). As células da linha primitiva que se espalham lateral e cranialmente entre o epiblasto e o

endoderma estabelecem o *mesoderma*. O epiblasto é agora chamado de *ectoderma*. Assim, na terceira semana, o *embrião* é um disco *tridérmico*, isto é, com três camadas germinativas: o ectoderma, o mesoderma e o endoderma (Figuras 5.14 e 5.15). Todas essas camadas se originaram do epiblasto.

O endoderma adjacente ao epiblasto é necessário para a diferenciação do mesoderma. Experimentos com embriões de anfíbios mostraram que, quando o ectoderma é isolado, ele permanece como tal, possuindo citoqueratina nas suas células, mas, quando é apostado ao endoderma, diferencia-se em mesoderma, como indicado pela expressão de α -actina, característica de células musculares. Membros da família do TGF- β , como TGF- $\beta 2$, ativina e Vg1, induzem as células do epiblasto a formar o mesoderma.

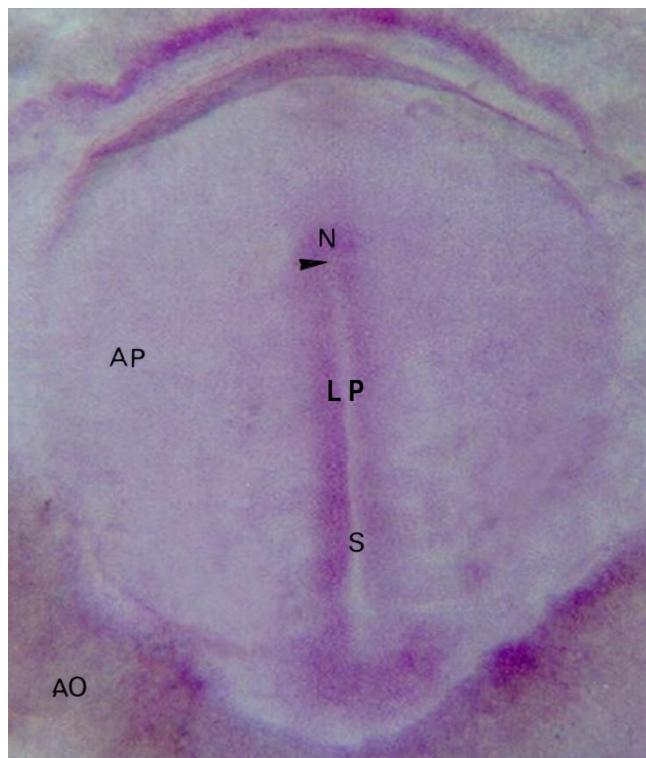


Figura 5.13 - Vista dorsal de embrião de codorna com 16h de incubação, onde são indicados a linha primitiva (LP), o sulco primitivo (S), o nó primitivo (N) e a fosseta primitiva (►). AP – área pelúcida; AO – área opaca (cortesia de Casimiro García Fernández).

Quando as células migratórias se fixam, elas tornam a expressar as moléculas de adesão celular. Há tipos diferentes dessas moléculas. Elas são responsáveis pela união das células de um mesmo tecido e pelo arranjo e pela separação daquelas de diferentes tecidos. Por exemplo, quando células do ectoderma e do mesoderma são misturadas em uma suspensão, elas se reúnem em um agregado com as células ectodérmicas na periferia e as células mesodérmicas no centro.

Há duas regiões onde o ectoderma se mantém aderido ao endoderma: a membrana bucofaríngea e a membrana cloacal. Como não há mesoderma interposto, a falta de irrigação sanguínea levará à degeneração dessas membranas, resultando na boca e no ânus, respectivamente.

No fim da terceira semana, a linha primitiva começa a regredir caudalmente até desaparecer.

Restos da linha primitiva podem gerar grandes tumores, denominados *teratomas*, na região sacrococcígea. Eles contêm misturas de tecidos, como cartilagem, músculo, adiposo, epitélio glandular e até mesmo cabelo e dente. São encontrados também teratomas nas gônadas e no mediastino, mas esses são provenientes das células germinativas.

Os teratomas sacrococcígenos são os tumores mais comuns em recém-nascidos, ocorrendo um caso a cada 35.000 nascimentos, com incidência maior no sexo feminino. A maioria dos tumores é benigna e é removida cirurgicamente.

3.2 – Notocorda e neurulação

Células do nó primitivo migram ao nível do mesoderma, em sentido cranial e formam uma massa compacta de células mesodérmicas, a *placa precordal*, e um bastão oco, o processo notocordal, que logo se consolida na *notocorda* (Figuras 5.14 e 5.15).

A presença da notocorda reuniu várias espécies em um mesmo filo, o Chordata. Ela serve como eixo de sustentação no embrião e, em alguns cordados

inferiores, também no adulto. Nos vertebrados superiores, o seu principal papel é o de induzir o desenvolvimento do sistema nervoso no ectoderma.

Em 1924, Hilde Mangold e Hans Spemann, através de experimentos envolvendo enxertos entre embriones dos anfíbios *Triturus cristatus* (doador não pigmentado) e *Triturus taeniatus* (hospedeiro pigmentado), constataram que a diferenciação do ectoderma neural era promovida pelo lábio dorsal do blastópore, cujas células formavam o mesoderma dorsal, mais precisamente a notocorda. Desde então é intensa a investigação para descobrir quais são os mecanismos e as substâncias responsáveis pela indução do sistema nervoso.

Estudos recentes em embriones de *Xenopus laevis* mostraram que células ectodérmicas isoladas diferenciam-se em células neurais, concluindo-se que a capacidade do ectoderma se transformar em ectoderma neural é suprimida por sinais transmitidos pelas células vizinhas. Os mediadores desse sinal supressor são as proteínas morfogenéticas ósseas (*bone morphogenetic protein - BMP*) da superfamília do TGF-β. A expressão de uma versão truncada do receptor de BMP nas células ectodérmicas evitou a sua sinalização e houve o destino neural.

As proteínas folistatina, noguina e cordina, secretadas pela notocorda, ligam-se à BMP-4 do ectoderma dorsal, evitando sua ligação ao receptor e, consequentemente, inibindo sua atividade. Portanto, a sinalização BMP promove a diferenciação do ectoderma em epiderme, e o seu bloqueio leva à formação de tecido neural.

Isso é condizente com a evidência filogenética de que o sistema nervoso nos metazoários teve origem em plexos subepidérmicos. O sistema nervoso como um cordão dorsal (ou ventral) decorre da supressão da diferenciação neural no resto do ectoderma.

Investigações mostram que a indução neural é um evento bastante precoce. De acordo com um modelo estabelecido em camundongos, no início da formação da linha primitiva, o precursor do nó primitivo secreta Cer-1, que inibe a BMP. Na ausência da atividade dessa proteína, o epiblasto anterior será tecido neural. Nos estágios subsequentes da gastrulação, a determinação do destino anterior do tecido neural induzido é promovida pelos sinais do endoderma visceral anterior e, posteriormente, da placa precordal e da notocorda. Esses sinais são Cer-1 e noguina, que inibem a BMP-4, e *lefty*-

I, que inibe a nodal. A determinação posterior do tecido neural ocorre pela ação da nodal concentrada na extremidade posterior do embrião.

As células do ectoderma suprajacente à placa precordal e à notocorda tornam-se mais altas, mantêm a expressão das moléculas de adesão celular neurais (N-CAM), não sintetizam mais E-caderinas (antigamente denominadas L-CAM) e sintetizam N-caderinas. Essa região é a *placa neural*. O restante do ectoderma continua a produzir E-caderinas, mas não N-CAM.

A placa neural sofre um alongamento e um estreitamento por extensão convergente e dobra-se por invaginação. A elevação das bordas laterais (pregas neurais) ao longo do seu eixo longitudinal e mediano (sulco neural) decorre da mudança na forma das células de colunar para a piramidal, com a constrição do ápice pelo deslizamento dos filamentos de actina. Como as células estão unidas por junções de adesão, a placa curva-se (Figuras 5.14 a 5.19). O alongamento do embrião força as extremidades da placa neural no sentido longitudinal, o que impulsiona o seu dobramento.

As pregas neurais encontram-se e fundem-se no *tubo neural*, que se separa da lâmina ectodérmica, graças à expressão diferencial das moléculas de adesão celular. O ectoderma de revestimento é refeito sobre o tubo neural, internalizando-o. A neurulação (o dobramento da placa neural em tubo neural) ocorre do meio para as extremidades, como se houvesse dois zíperes fechando em sentidos opostos. Entretanto, na região cranial, há geralmente dois sítios adicionais de fechamento. As extremidades, denominadas *neuróporos*, sãoobliteradas por último. O neuróporo anterior fecha-se no 25º dia, e o posterior, no 27º dia (Figuras 5.16 e 5.19).

O não fechamento do neuróporo anterior leva à *anencefalia* (ou *craniosquise*). Ocorre em 0,1% das gestações. O desenvolvimento do cérebro anterior é interrompido, e a abóboda craniana não se forma (Figura 5.20). A porção do encéfalo que controla a respiração e os batimentos cardíacos é formada, o que permite a

sobrevivência até o final do período fetal ou alguns dias após o parto. Como há a formação do tronco encefálico, o termo *meroanencefalia* é mais apropriado do que anencefalia.

A falha no dobramento da placa neural em tubo neural na região da medula espinhal é a *mielosquise* (ou *raquisquise*). Ela afeta a indução dos arcos vertebrais, de maneira que são hipoplásicos e não se fundem.

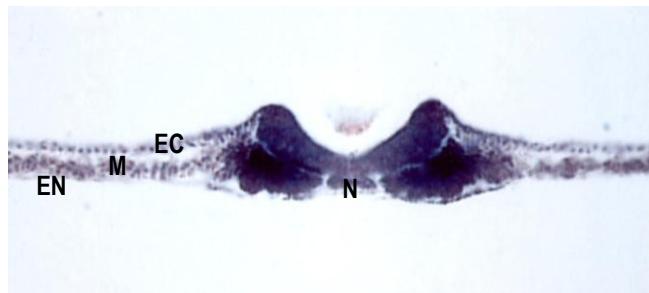


Figura 5.14 - Corte transversal de embrião de galinha com 40h, onde são indicados os folhetos embrionários: ectoderma (EC), mesoderma (M) e endoderma (EN). Notar o ectoderma espessado da placa neural, cuja diferenciação foi induzida pela notocorda (N).

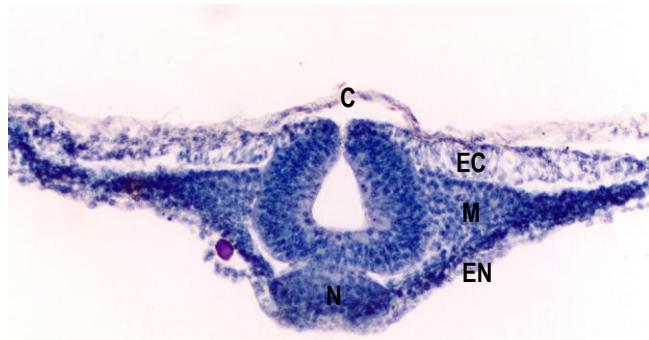
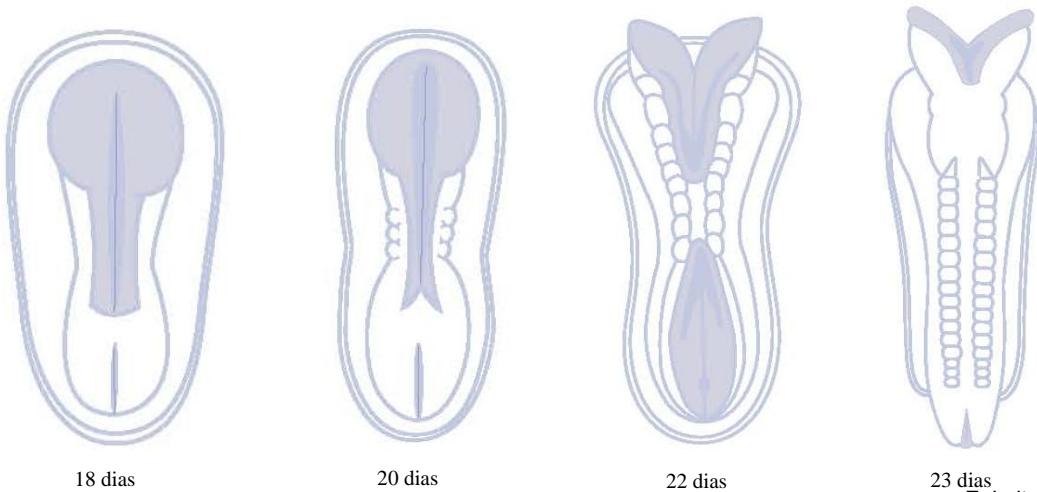


Figura 5.15 - Corte transversal de embrião do quelônio *Phrinops hilari*, conhecido como cágado-de-barbelas, apresentando os três folhetos embrionários: ectoderma (EC), mesoderma (M) e endoderma (EN); a notocorda (N), e o dobramento da placa neural em tubo neural. C – ectoderma extraembrionário do córion (ou serosa), membrana extraembrionária presente nos répteis e nas aves.



E. Leite e T. Montanari

Figura 5.16 - Representação da neurulação: fechamento da placa neural em tubo neural. As extremidades ainda abertas são os neuróporos anterior e posterior. Baseado em Carlson, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p.93.

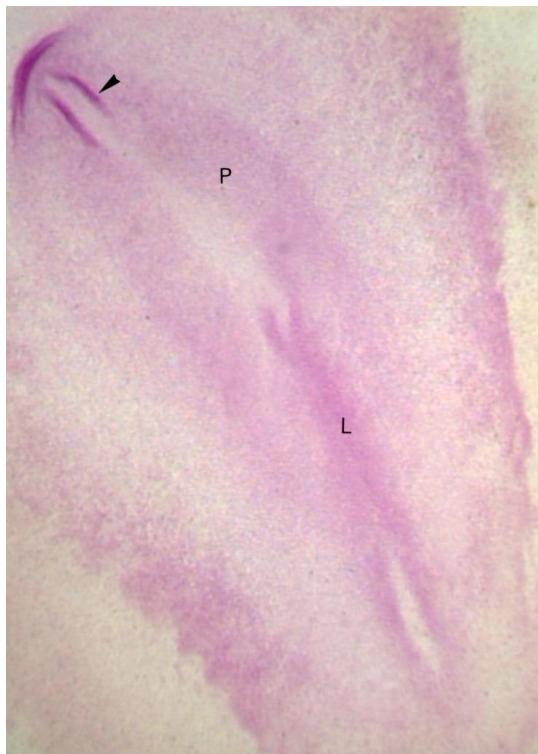


Figura 5.17 - Embrião de codorna com 22h de incubação. São observadas a placa neural (P) iniciando o dobramento (►) e a linha primitiva (L), com o sulco primitivo no interior e o nó primitivo e a fosseta primitiva na extremidade cranial (cortesia de Nívia Lothhammer).



Figura 5.18 - Embrião de codorna com 25h de incubação, mostrando o fechamento da placa neural em tubo neural, o surgimento de somitos e a regressão da linha primitiva (cortesia de Casimiro García Fernández).

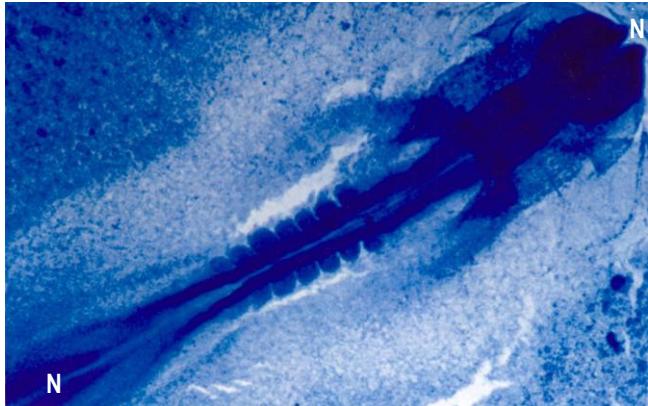


Figura 5.19 - Embrião de galinha *in toto* sofrendo a neurulação. Os neuróporos são indicados (N).



Figura 5.20 - Natimorto com anencefalia (cortesia de Nívia Lothhammer).

A *alfa-fetoproteína* é uma glicoproteína sintetizada pelo fígado fetal, pelo saco vitelino e pelo intestino. Está presente em alta concentração no soro, mas em pequena quantidade no líquido amniótico. Em fetos com defeitos no fechamento do tubo neural ou da parede abdominal, grande quantidade dessa substância escapa da circulação para o líquido amniótico, de modo que a sua dosagem no líquido amniótico ou no soro materno pode ser utilizada para o diagnóstico pré-natal.

Estudos epidemiológicos constataram uma alta correlação entre a deficiência em *ácido fólico* e a incidência de anencefalia e outros defeitos no fechamento do tubo neural.

O ácido fólico é uma vitamina hidrossolúvel do complexo B, necessário para a síntese de ácidos nucleicos e proteínas. É encontrado em vegetais, principalmente aqueles com folhas verdes escuras, frutas e cereais. Entretanto é recomendada a suplementação para mulheres em idade reprodutiva, por isso a sua adição a alimentos, como a farinha de trigo e seus derivados. Pode ser também administrada em comprimidos, um mês antes da concepção até o primeiro trimestre de gestação.

A neurulação descrita é a neurulação primária. Caudal ao neuróporo posterior, ocorre a neurulação secundária. Sob o ectoderma do broto da cauda, há a condensação de células mesenquimais em um bastão (cordão medular) e depois há a cavitação no seu interior, resultando um canal central contínuo ao tubo neural. Em humanos, por causa do pequeno desenvolvimento do broto da cauda, a neurulação secundária não é acentuada.

O tubo neural originará o sistema nervoso central: o encéfalo e a medula espinhal.

Das pregas neurais, no momento em que elas se fundem, saem células que formam as *cristas neurais*. Essas células migram para vários pontos do corpo, originando estruturas diferentes, como os gânglios e os nervos raquidianos do sistema nervoso periférico; as meninges do sistema nervoso central; os músculos e os ossos da cabeça; a medula da adrenal, e os melanócitos.

Os níveis intermediários de BMP-4 e BMP-7 na borda da placa neural ativam genes que codificam vários fatores de transcrição, incluindo Msx-1, Msx-2, Dlx-5, Pax-3, Pax-7 e Gbx-2, que transformam as células ali localizadas na futura crista neural.

Assim como na transformação de células da linha primitiva em células mesenquimais, o fator de transcrição *snail* está envolvido na diferenciação das células da crista neural. Nas células precursoras, são

expressos *snail-1* e *snail-2*, que mudam a expressão de caderinas do tipo I (por exemplo, N-caderina e E-caderina), que são fortemente adesivas, para caderinas do tipo II, que são menos adesivas. As células da crista neural destacam-se da placa neural na região cranial e do tubo neural no tronco. Na cabeça, as células da crista neural penetram a lâmina basal subjacente à placa neural através de enzimas que degradam os seus componentes. No tronco, a lâmina basal da parte dorsal do tubo neural não é formada antes da emigração das células da crista neural.

A placa precordal é uma fonte de sinais importantes para a sobrevivência das células da crista neural que migram na região cranial.

A migração das células da crista neural geralmente acontece ao longo da lâmina basal do ectoderma ou do tubo neural, proporcionada pelas glicoproteínas de adesão integrinas e pelos componentes da matriz extracelular fibronectina, laminina e colágeno do tipo IV. Sulfato de condroitina não é um bom substrato e inibe a sua migração. Durante a migração, N-CAM, E-caderina e N-caderina não são mais expressas, mas, após completar a migração e a diferenciação (por exemplo, em gânglios espinais), voltam a ser expressas.

As células migram em grupos, fazendo contato umas com as outras através de filopódios. Entre as moléculas-guia mais importantes, estão os pares ligante/receptor Robo/Slit, *Neuropilin/Semaphorin* e Efrina/Eph. Durante a migração, as células da crista neural estendem protrusões que testam o ambiente e que atuam como mecanismo propulsivo. Se uma influência inibitória é encontrada, as protrusões colapsam através de sinais derivados da via de polaridade celular planar.

Há uma correlação entre a época de migração e o potencial de desenvolvimento. As primeiras células a migrar têm o potencial para se diferenciar em vários tipos celulares, enquanto aquelas que migram mais tarde resultam em derivados dorsais, como gânglios espinais, e células que deixam o tubo neural por último formam somente melanócitos.

A notocorda também é um agente indutor da coluna vertebral a partir do mesoderma vizinho. Ela desaparece durante o período fetal, mas persiste entre as vértebras como núcleo pulposo dos discos intervertebrais. Mais tarde, na infância, esse núcleo pulposo é substituído.

3.3 – Diferenciação do mesoderma

O mesoderma diferencia-se em: paraxial (ao lado do eixo do embrião, ou seja, do tubo neural e da notocorda), intermediário e lateral (Figura 5.21).

O *mesoderma paraxial* parece uma faixa homogênea de células, mas o exame de eletromicrografias de varredura com técnicas estereoscópicas 3-D revelou uma série de pares regulares de segmentos, os somitômeros. Quando 20 somitômeros estão estabelecidos, o aumento da adesão entre as células do oitavo par em diante gera blocos denominados *somitostos* (Figuras 5.18, 5.19 e 5.22). Em embriões humanos, os somitos são formados do 20º ao 30º dia de gestação, cerca de três por dia.

Ao contrário dos somitômeros, que só foram identificados em 1979, os somitos são conhecidos desde o século XVI.

Por possuírem propriedades celulares e moleculares diferentes do restante do mesoderma paraxial, os sete primeiros pares de somitômeros não se segmentam e derivarão os músculos da face e da mastigação.

Os somitos regionalizam-se em: *esclerótomo* (ventral) e *dermomiótomo* (dorsal) (Figura 5.23).

As células do esclerótomo diferenciam-se pela indução da notocorda e da parede ventral do tubo neural. Elas perdem as moléculas de adesão celular N-caderinas e a lâmina basal. Secretam proteoglicanas com sulfato de condroitina e outros componentes da matriz cartilaginosa. Migram e envolvem a notocorda e o tubo neural para constituir as vértebras, as costelas, o esterno e a base do crânio, o osso occipital.

O dermomiótomo separa-se em duas camadas: a dorsal é o *dermátomo*, responsável pela derme do dorso do corpo, e a ventral é o *miótomo*, cujas células originam a musculatura do dorso do tronco e dos membros.

Acompanhando o crescimento do embrião, o mesoderma paraxial alonga-se caudalmente, sendo que a proliferação das células mesenquimais é estimulada pelo FGF-8. A segmentação ocorre no sentido anteroposterior e está relacionada com a regressão da linha primitiva. Novos pares de somitômeros surgem próximo ao nó primitivo à medida que ele regredisse. Uma vez completada a regressão do nó primitivo, nenhum outro somitômero se forma. Em dada posição, as células mesenquimais são expostas a uma concentração equilibrada de FGF-8 e de ácido retinoico que faz com que elas formem os somitos. O futuro somito expressa o fator de transcrição Mesp-2. Permanece uma distância constante entre o último par de somitos gerados e o último par de somitômeros: por um período, o número de somitômeros caudais ao último somito é de 10 ou 11.

A via Notch estimula a expressão de *lunatic fringe*, que se torna concentrado na futura borda anterior do somito, e *c-hairy*, na futura borda posterior. As células na borda posterior do somito expressam efrina B, mas as células na borda anterior expressam o receptor para efrina EphA. Então as células dos dois somitos adjacentes não se misturam, e uma fissura abre-se entre os dois somitos. A ação de Wnt-6 do ectoderma suprajacente estimula a expressão do fator de transcrição *paraxis* no somito recém-criado. A sua atividade e a supressão de *snail* resultam na transformação das células mesenquimais em um fenótipo epitelioide.

Shh e noguina, provenientes da notocorda e da parede ventral do tubo neural, estimulam a expressão de Pax-1 e Pax-9 na metade ventral do somito (esclerotomo). Isso provoca intensa atividade mitótica, a perda de N-caderina, a desintegração da lâmina basal e o retorno das células à morfologia mesenquimal. Essas células migram, envolvendo a notocorda e secretam sulfato de condroitina e outros componentes da matriz cartilaginosa.

Sob a influência de produtos secretados dos genes *Wnt* presentes na parede dorsal do tubo neural e no ectoderma superficial, a metade dorsal do somito transforma-se no dermomiótomo e expressa Pax-3, Pax-7 e *paraxis*. Células mesenquimais surgem da região ventral do dermomiótomo, formando uma camada separada, o miótomo, enquanto a camada dorsal é o dermátomo.

Além da sinalização *Wnt*, shh proveniente da notocorda torna as células do miótomo comprometidas com a linhagem miogênica. A inibição da BMP-4 pela noguina faz com que as células da região dorsomedial do

miótomo expressem moléculas reguladoras da miogênese, como MyoD, Myf-5, Mef-2 e desmina. Essas células derivarão a musculatura do dorso.

Antes mesmo do miótomo se destacar, sob a influência de BMP-4 produzido pelo mesoderma lateral somático, a expressão de fatores miogênicos na região ventrolateral do dermomiótomo é suprimida, e essas células continuam a expressar Pax-3. Elas também produzem o receptor c-met. O fator de crescimento *scatter factor*, secretado nos brotos dos membros, liga-se ao receptor c-met. Isso estimula a migração de 30 a 100 dessas células por somito para os brotos dos membros. Enquanto migram, as células expressam N-caderina e continuam a expressar Pax-3.

Sinais FGF do miótomo em desenvolvimento induzem células localizadas na borda lateral do esclerotomo a produzir o fator de transcrição *scleraxis*. Essas células formam uma estreita camada denominada *syndetome* e são os precursores dos tendões que conectam os músculos do dorso ao esqueleto.

Quase todos os componentes dos somitos são capazes de dar surgimento a vasos sanguíneos que nutrem as estruturas provenientes do mesoderma paraxial.

As características dos derivados do mesoderma paraxial são especificadas pelo padrão de expressão do gene *Hox* (os produtos proteicos dos genes homeobox ligam-se ao DNA e formam fatores de transcrição que regulam a expressão gênica), primeiro no epiblasto e depois no próprio mesoderma.

No *mesoderma intermediário*, são encontrados os túbulos nefrogênicos, precursores do sistema urinário e do sistema reprodutor (Figura 5.23).

O mesoderma intermediário parece surgir induzido pela BMP do ectoderma e pela ativina e outros sinais do mesoderma paraxial. A resposta a esses sinais é a expressão de Pax-2.

A extensão cranial e caudal do mesoderma intermediário é definida pela expressão de membros do *Hox-4* cranialmente e *Hox-11* caudalmente.

O mesoderma lateral delamina-se em *somático* (ou *parietal*) e *esplâncnico* (ou *visceral*) (Figuras 5.21 e 5.23).

O mesoderma lateral somático é adjacente ao ectoderma e é contínuo com o mesoderma extraembrionário somático (Figuras 5.21). Originará o tecido conjuntivo (inclusive os tipos especiais, como cartilagem, osso e sangue) dos membros e das paredes laterais e ventral do corpo.

O mesoderma lateral esplâncnico é vizinho ao endoderma e continua-se com o mesoderma extraembrionário esplâncnico (Figuras 5.21). Derivarão o conjuntivo e os músculos do sistema cardiovascular, do sistema respiratório e do sistema digestório.

O mesoderma lateral é induzido pela BMP-4 do ectoderma suprajacente, depois ele próprio passa a produzir BMP-4. O mesoderma lateral esplâncnico é especificado pelo fator de transcrição Foxf-1.

Semelhante ao que ocorre no mesoderma extraembrionário, vasos sanguíneos formam-se no mesoderma do embrião a partir de agrupamentos angiogênicos, cujas células centrais se tornam as células sanguíneas primitivas, e as células periféricas, o endotélio. Os agrupamentos confluem e são canalizados por fendas intercelulares.

O espaço entre o mesoderma lateral somático e o esplâncnico é o *celoma*, que, neste momento, é contínuo com o celoma extraembrionário (Figura 5.21). Com o posterior fechamento do embrião em disco para uma forma tubular, o celoma intraembrionário dará as futuras cavidades corporais: a cavidade pericárdica, a cavidade pleural e a cavidade peritoneal.

4 – QUARTA A OITAVA SEMANAS

4.1 – Dobramento do embrião



Figura 5.21 - Corte transversal de embrião de galinha no estágio tridérmico, onde há a diferenciação do mesoderma em paraxial (P), intermediário (I) e lateral (L). Note a delaminação do mesoderma lateral em somático (S) e esplâncnico (E).



Figura 5.22 - Corte longitudinal de parte do embrião de galinha, onde é possível identificar os somitos ao lado do tubo neural.

Na quarta semana, o embrião dobra-se nos planos longitudinal e transversal, tornando-se curvado e tubular, com o ectoderma revestindo a superfície externa, e o endoderma, a interna. O dobramento no plano longitudinal do corpo faz com que a porção mais cranial do tubo neural projete-se para frente e para baixo, ultrapassando a membrana bucofaríngea e a área cardiogênica. Assim, o encéfalo será a estrutura mais cranial do embrião, e as áreas que originarão a boca e o coração são trazidas ventralmente, passando a ocupar a posição que possuem no adulto.



Figura 5.23 - Embrião de galinha, onde os somitos diferenciaram-se em dermomiótomo (DM) e esclerótomo (E). Túbulos nefrogênicos são reconhecidos no mesoderma intermediário (MI). O mesoderma lateral somático (MS) origina o tecido conjuntivo dos membros. Vasos sanguíneos são observados no mesoderma lateral esplâncnico (ME). Acima do ectoderma (EC), visualiza-se o saco amniótico, constituído por duas camadas: o âmnio (ou ectoderma extraembrionário) e o mesoderma extraembrionário somático. Subacente ao tubo neural, há a notocorda (N). São ainda indicados o endoderma (EN) e a aorta dorsal (AD).

Com o dobramento, parte do saco vitelino fica incluída na porção anterior do embrião e origina o intestino anterior, e parte do saco vitelino fica retida na porção caudal, constituindo o intestino posterior. Entretanto o intestino médio fica ainda aberto, fazendo contato com o resto do saco vitelino.

O dobramento do embrião é acompanhado pela expansão do saco amniótico, que passa a envolver todo o embrião, como um balão. A expansão do saco amniótico contribui para que as extremidades dos folhetos embrionários fusionem-se na linha média, o que encerra mais uma parte do saco vitelino, formando o intestino médio. O restante do saco vitelino atrofia e é incorporado ao pedúnculo do embrião, o qual será o cordão umbilical.

4.2 – Organogênese

Entre a quarta e a oitava semanas, a maioria dos órgãos se estabelece.

Cabeça e pescoço:

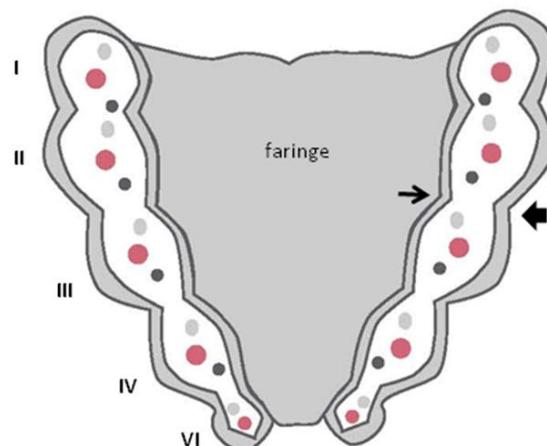
Na quarta semana, a faringe primitiva é delimitada pelo *aparelho branquial* (ou *faríngeo*), o conjunto dos *arcos branquiais*, *sulcos* (ou *fendas*) *branquiais* (entre os arcos externamente) e *bolsas faríngeas* (entre os arcos, internamente) (Figuras 5.24 a 5.26).

Nos peixes e nas larvas de anfíbios, há seis pares de arcos branquiais, que dão origem às guelras ou brânquias (do grego *branchia*, que significa guelra), envolvidas nas trocas gasosas entre o sangue e a água.

No embrião de aves e de mamíferos, há cinco pares de arcos branquiais (o quinto par dos vertebrados primitivos não se forma). No humano, o sexto par é maldefinido morfologicamente. Os sulcos e as bolsas sucedem-se aos arcos, mas não ocorrem após o sexto par de arcos branquiais (Figuras 5.24 e 5.25). Ao invés de um sistema de guelras, o aparelho branquial origina as estruturas da cabeça e do pescoço.

Os arcos branquiais são revestidos externamente pelo ectoderma e internamente pelo endoderma e possuem um centro de mesênquima, que é derivado do mesoderma paraxial e das cristas neurais. Cada

arco contém um eixo cartilaginoso, um componente muscular, um nervo associado e uma artéria, denominada arco aórtico (Figuras 5.24 e 5.26).



T. Montanari

Adaptado de Junqueira, L. C. U.; Zago, D. **Fundamentos de Embriologia humana**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1972. p.95.

Figura 5.24 - Esquema do aparelho branquial. Em mamíferos, há cinco pares de arcos branquiais, sendo o quinto ausente e o sexto rudimentar. Eles são revestidos externamente pelo ectoderma e internamente pelo endoderma e são preenchidos pelo mesênquima, onde há um componente cartilaginoso e outro muscular, uma artéria e um nervo. Entre os arcos, há externamente os sulcos branquiais (←) e internamente as bolsas faríngeas (→).

A padronização do aparelho branquial é determinada pelo endoderma faríngeo, pelo ectoderma cranial e pelas cristas neurais que constituem o mesênquima dos arcos branquiais.

Os sinais do endoderma faríngeo padronizam os arcos branquiais antes mesmo das cristas neurais entrarem. A expressão de Tbx-1 no endoderma faríngeo inicial influencia a sinalização de FGF-8. Na ausência deste, as bolsas faríngeas não se estabelecem normalmente, levando a malformações. O FGF-8 determina o ectoderma dos arcos, os quais, por sua vez, emitem sinais que influenciam a diferenciação das células da crista neural em seus derivados.

A padronização do endoderma faríngeo é baseada na exposição ao ácido retinoico: a formação do primeiro par de bolsas faríngeas não requer ácido retinoico, mas a formação do segundo par precisa de alguma exposição e

a do terceiro e do quarto par, de muita exposição. Sob a influência de diferentes concentrações de ácido retinoico, combinações dos genes *Hox* determinam a identidade craniocaudal dos arcos branquiais.

As células da crista neural que ocupam o mesênquima do primeiro par de arcos branquiais são provenientes de uma região do tubo neural anterior à expressão dos genes *Hox* e também não os expressam. A ausência de *Hox* associada à presença de *Otx-2* é a base molecular para o desenvolvimento desse par de arcos branquiais. *Hoxb-2*, *Hoxb-3* e *Hoxb-4* são expressos em uma sequência regular no tubo neural e no mesênquima derivado das cristas neurais do segundo, terceiro e quarto pares de arcos branquiais. Somente depois dos arcos branquiais serem preenchidos com a crista neural, o ectoderma dos arcos expressa um padrão similar dos produtos dos genes *Hoxb*.

O primeiro par de arcos branquiais (também denominado arcos mandibulares), graças à migração das células da crista neural, forma os processos mandibulares e, da sua porção dorsal, crescendo em sentido cranial, os processos maxilares (Figura 5.25).



Figura 5.25 - Embrião de codorna (72h de incubação): notar os arcos branquiais (numerados) e os sulcos branquiais entre eles. O primeiro par de arcos branquiais forma os processos mandibulares e, da sua porção dorsal, em sentido cranial, os processos maxilares (→) (cortesia de Nívia Lothhammer).

A cartilagem do processo mandibular (cartilagem de Meckel) é o molde da mandíbula até ocorrer a sua ossificação do mesênquima ao redor (ossificação intramembranosa). O posterior crescimento da mandíbula, que ocorre até os 10 anos, é em virtude da ossificação endocondral a partir de um centro de

cartilagem estabelecido no mesênquima do côndilo mandibular, no quinto mês. Nas extremidades dorsais da cartilagem de Meckel (portanto, por ossificação endocondral), forma-se o ossículo da orelha média martelo. A porção intermediária da cartilagem de Meckel regide, e seu pericôndrio resulta nos ligamentos anterior do martelo e esfenomandibular.

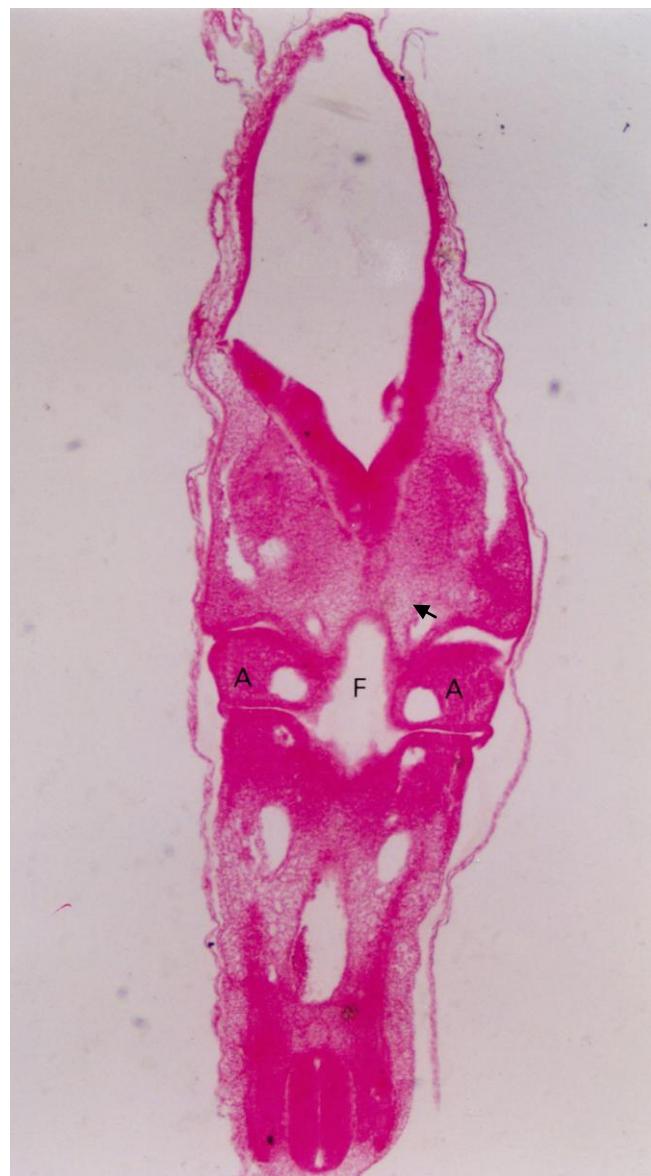


Figura 5.26 - Corte de embrião de galinha, onde é visível o aparelho branquial (A – arco branquial) nas paredes laterais da faringe (F). O arco aórtico é apontado.

A maxila, os ossos zigomáticos da face e a parte escamosa dos ossos temporais desenvolvem-se do mesênquima dos processos maxilares. O esfenoide (um pequeno osso localizado na parede orbital) e a bigorna ossificam-se das extremidades dorsais da sua cartilagem.

A padronização dorsoventral de cada arco branquial envolve os genes *Dlx* e a endotelina (End-1). *Dlx-1* e *Dlx-2* são expressos dorsalmente; *Dlx-5* e *Dlx-6* em posição intermediária, e *Dlx-3* e *Dlx-7* (*Dlx-4*), mais ventralmente. A End-1 é secretada pelo ectoderma dos arcos e combina-se com o seu receptor Ednr nas células da crista neural em migração.

No primeiro par de arcos branquiais, a End-1 é expressa na extremidade ventral, onde reprime a expressão local de genes como *Dlx-1* e *Dlx-2*, envolvidos na formação da maxila, e promove a expressão de *Dlx-5* e *Dlx-6* e de *Hand-2* e *Goosecoid*, que determinam a mandíbula. Em nível dorsoventral intermediário dentro do primeiro par de arcos branquiais, a End-1 estimula a expressão de *Barx-1*, levando ao estabelecimento da articulação temporomandibular. Na parte dorsal, a sua influência é reduzida, e os genes *Dlx-1* e *Dlx-2* ativos conduzem à formação da maxila e dos ossos da orelha média.

O outro ossículo da orelha média, o estribo, e o processo estiloide do osso temporal ossificam-se das extremidades dorsais da cartilagem do segundo par de arcos branquiais. Da porção ventral dessa cartilagem, formam-se o corno menor e a parte superior do osso hióide. Por isso, esses arcos são também denominados arcos hióideos. A cartilagem entre o processo estiloide e o osso hioide regrediu, e o pericôndrio forma o ligamento estilo-hióideo.

O corno maior e a parte inferior do osso hioide são da cartilagem do terceiro par de arcos.

Do quarto e sexto pares de arcos, originam-se as cartilagens da laringe: a epiglote e as cartilagens tireoide, aritenoides, cricoide, cuneiforme e corniculata.

A epiglote é derivada da eminência hipobranquial, uma região resultante da proliferação do mesênquima

do terceiro e do quarto pares de arcos branquiais. A porção originada do quarto par de arcos branquiais é responsável pela epiglote, enquanto aquela do terceiro par resulta na parte faríngea da língua.

As demais cartilagens da laringe surgem dos moldes cartilaginosos dos arcos branquiais. Diferente da cartilagem dos arcos anteriores, que se desenvolvem da crista neural, esses moldes são formados a partir do mesoderma lateral esplâncnico. Esse folheto deriva ainda o endotélio e o músculo liso.

O componente muscular dos arcos branquiais é proveniente dos sete pares de somitômeros e dos primeiros somitos. O tecido muscular do primeiro par de arcos branquiais origina, entre outros, os músculos da mastigação e o tensor do tímpano; o do segundo par, os músculos da expressão facial; o do terceiro par, o estilofaríngeo, e os do quarto e sexto arcos, os músculos da faringe e os da laringe (Quadro 5.2).

Os nervos que estão nos arcos branquiais provêm do encéfalo e inervam a pele, a mucosa e os músculos derivados dos arcos. São eles: o V nervo craniano (trigêmeo) no primeiro par de arcos; o VII nervo craniano (nervo facial) no segundo arco; o IX nervo craniano (nervo glossofaríngeo) no terceiro arco, e o X nervo craniano (nervo vago) nos demais arcos.

Cada arco branquial contém uma artéria, o arco aórtico, que se estende da aorta ventral para a aorta dorsal. Seus derivados são citados no Quadro 5.2.

O primeiro par de sulcos branquiais invagina-se, formando os meatus acústicos externos. Os demais sulcos são obliterados pelo crescimento do segundo par de arcos branquiais sobre eles (um homólogo filogenético do opérculo dos peixes). Assim, o pescoço adquire um aspecto liso e é revestido por epiderme proveniente apenas do segundo par de arcos.

O aumento do segundo par de arcos branquiais sobre os sulcos é causado pela presença de um centro de sinalização no ectoderma, que produz shh, FGF-8 e BMP-7, os quais estimulam a proliferação celular no mesênquima subjacente. Esse centro não existe em outros arcos.

O espaço temporário criado entre as fendas branquiais pela sobreposição do segundo par de arcos é chamado *seio cervical*. A sua persistência é um evento raro. Devido ao acúmulo de líquido e fragmentos celulares, cistos podem ser produzidos. Pelo lento aumento no seu volume, os *cistos cervicais* geralmente são percebidos após o final da infância. Pode ocorrer também a abertura do seio cervical na superfície do pescoço (*fistula cervical externa*) ou na faringe (*fistula cervical interna*), com liberação de muco.

O primeiro par de bolsas faríngeas aprofunda-se e origina as tubas auditivas e as cavidades timpânicas. A membrana timpânica é derivada da camada de endoderma da bolsa faríngea e de ectoderma do sulco branquial, com o mesênquima interposto.

O endoderma do segundo par de bolsas faríngeas deriva o epitélio das tonsilas palatinas, enquanto o mesoderma diferencia-se no tecido linfoide.

A parte dorsal das terceiras bolsas faríngeas origina as glândulas paratireoides inferiores, e a parte ventral, o timo, sendo que, neste último, as células reticulares epiteliais surgem do endoderma, e o tecido linfoide e a cápsula formam-se do mesênquima. As paratireoides e o timo migram. As paratireoides

inferiores passam a se situar dorsalmente à tireoide, e o timo, no mediastino anterior do tórax, atrás da parte superior do esterno. Durante o desenvolvimento fetal, linfócitos imaturos migram da medula óssea para o timo, onde sofrem maturação nos linfócitos T.

O endoderma do terceiro par de bolsas faríngeas diferencia-se na paratireoide ou no timo por influência do shh e da BMP-4, respectivamente. As células da paratireoide expressam o fator de transcrição Gcm-2 (*Glial cells missing*), enquanto as do timo, Foxn-1.

A parte dorsal do quarto par de bolsas faríngeas deriva as glândulas paratireoides superiores, e a parte ventral, as células parafoliculares (ou células C) da glândula tireoide, que produzem calcitonina. Essas células se diferenciam da crista neural. As glândulas paratireoides superiores localizam-se na parte dorsal da tireoide, em posição superior às paratireoides inferiores.

Um resumo dos derivados do aparelho branquial é apresentado no Quadro 5.2.

Quadro 5.2 - Derivados do aparelho branquial.

1º par de arcos branquiais (arcos mandibulares)	processos maxilares e mandibulares; maxila, mandíbula, ossos zigomáticos, porção escamosa dos ossos temporais, esfenóide, bigorna e martelo; ligamento anterior do martelo, ligamento esfenomandibular; músculos da mastigação (temporal, masseter, pterigóideo medial e lateral), milo-hióideo, ventre anterior do digástrico, tensor do véu palatino, tensor do tímpano; V nervo craniano (trigêmeo); artérias maxilares, artérias carótidas externas
2º par de arcos branquiais (arcos hioídeos)	estribo, processo estiloide dos ossos temporais, corno menor e parte superior do osso hioide; ligamento estilo-hióideo; músculos da expressão facial (bucinador, auricular, frontal, platisma, orbicular dos lábios e orbicular dos olhos), occipital, estílo-hióideo, ventre posterior do digástrico, estapédio (músculo do estribo); VII nervo craniano (facial); artérias estapédicas
3º par de arcos branquiais	corno maior e parte inferior do osso hioide; músculo estilofaríngeo; IX nervo craniano (glossofaríngeo); artérias carótidas comuns, artérias carótidas internas
4º e 6º pares de arcos branquiais	cartilagens da laringe; ligamentos da laringe; músculo cricotireóideo, elevador do véu do palato, constrictores da faringe, músculos intrínsecos da laringe, músculos

	estriados do esôfago; X nervo craniano (vago); arco da aorta, porção proximal da artéria subclávia direita e das artérias pulmonares, ducto arterioso
1º par de sulcos branquiais	meatos acústicos externos
2º a 6º pares de sulcos branquiais	sãoobliterados: pescoço liso
1º par de bolsas faríngeas	tubas auditivas e cavidades timpânicas
2º par de bolsas faríngeas	tonsilas palatinas
3º par de bolsas faríngeas	glândulas paratireoides inferiores e timo
4º par de bolsas faríngeas	glândulas paratireoides superiores e células C da glândula tireoide

A face inicia sua formação na quarta semana e a completa na 10^a semana. Desenvolve-se a partir do *processo frontonasal*, dos *processos maxilares* e dos *processos mandibulares* (Figura 5.27). O processo frontonasal é originado do mesoderma ventral à porção cranial do tubo neural e possuem células mesenquimais derivadas da crista neural do cérebro anterior e do cérebro médio. Os processos maxilares e mandibulares derivam do primeiro arco, sendo que os processos maxilares contêm células da crista neural do cérebro anterior e médio, e os processos mandibulares, células da crista neural do cérebro médio e posterior.

O crescimento do processo frontonasal e dos processos maxilares e mandibulares decorre da sinalização de FGF-8 e de shh do ectoderma apical, que, através da mediação do gene *Msx-1*, estimula a proliferação no mesênquima.

A sinalização Wnt também promove a proliferação. Animais com uma face mais alongada, como as aves, têm uma zona sensível ao Wnt no processo frontonasal, e animais com uma face achatada e larga, como os humanos, possuem regiões responsivas ao Wnt nos processos maxilares e mandibulares.

Fatores de crescimento, como BMP, produzidos no ectoderma ou no mesênquima, também influenciam o desenvolvimento dos processos da face. Experimentos em aves mostraram que a expressão aumentada de BMP-4 no mesênquima do primeiro arco resulta na formação de um bico mais maciço.

No ectoderma acima dos processos maxilares, surgem espessamentos, os *placoides do cristalino*, que se diferenciarão no cristalino dos olhos (Figuras 5.25 e 5.27).

Em cada lado do processo frontonasal, há um espessamento do ectoderma, os *placoides nasais*. Essa região do ectoderma corresponde à borda anterolateral da placa neural antes do seu fechamento. Os placoides nasais logo sofrem uma depressão, que resultarão nas fossas nasais, e o ectoderma derivará o epitélio olfatório. Em torno deles, o mesoderma eleva-se em forma de ferradura, resultando nos *processos nasais medianos e laterais* (Figuras 5.27 e 5.28). Os processos nasais medianos possuem células da crista neural do cérebro anterior, e os processos nasais laterais, células da crista neural do cérebro médio.

O processo frontonasal é resultado de um mecanismo de sinalização que inicia com o ácido retinoico em uma região do ectoderma defronte ao cérebro anterior e continua com o shh produzido pela região ventral do cérebro anterior. A ação de shh, pela mediação das células da crista neural, determina as zonas ectodérmicas frontonasais nas extremidades dos processos nasais medianos. Nessas zonas, as células da região dorsal expressam FGF-8, enquanto as células da região ventral expressam shh. Esses sinais promovem a proliferação das células da crista neural no mesênquima do processo frontonasal. Nas aves, as duas zonas ectodérmicas frontonasais fusionam-se em um único centro de sinalização.

A formação dos placoides nasais depende da expressão de Pax-6 e da produção de FGF-8, estimulada pelo ácido retinoico no cérebro anterior. Depois a fonte de

ácido retinoico passa a ser o epitélio da própria fossa nasal. Os processos nasais desenvolvem-se como resultado da sinalização de FGF-8 das fossas nasais, que estimula a proliferação de células mesenquimais.

A produção de ácido retinoico pelo cérebro anterior diminui, reduzindo a proliferação celular no mesênquima do processo frontonasal e, por conseguinte, o seu tamanho.

Entre os processos maxilares e os processos nasais laterais, há inicialmente uma fenda, o *sulco nasolacrimal*. Um espessamento ectodérmico em forma de bastão desenvolve-se no assoalho do sulco nasolacrimal e aprofunda-se no mesênquima. Esse cordão epitelial se canaliza no ducto nasolacrimal, e a sua extremidade cranial se expande no saco lacrimal. O ducto nasolacrimal estende-se do canto medial do olho até a cavidade nasal e serve de dreno para o líquido lacrimal, por isso a coriza no choro.

Na quarta semana, os processos mandibulares fusionam-se. Entre a sexta e a oitava semanas, os processos maxilares aumentam em tamanho e crescem para o plano mediano, aproximando os placoides do cristalino e os processos nasais medianos. Os processos maxilares fusionam-se com os processos mandibulares e com os processos nasais laterais e medianos (Figura 5.27).

Os processos mandibulares são responsáveis pela mandíbula, pela parte inferior das bochechas, pelo lábio inferior e pelo queixo. Os processos maxilares formam a maxila, os ossos zigomáticos, a porção escamosa dos ossos temporais, as regiões superiores das bochechas e o lábio superior (Figura 5.27).

O processo frontonasal origina a testa e parte do dorso (a raiz) do nariz. Os processos nasais laterais formam as asas do nariz. A fusão dos processos nasais medianos resulta no restante do dorso e na ponta do nariz e no septo nasal (Figuras 5.27 e 5.28). A união dos processos nasais medianos forma ainda o segmento intermaxilar, composto de três partes: componente labial, que forma o filtro do lábio; componente maxilar, que está associado com os quatro dentes incisivos, e componente anterior do palato (Figuras 5.27 e 5.29).

Com a fusão entre os processos maxilares e os processos nasolaterais ao longo da linha do sulco nasolacrimal, há a continuidade entre a porção superior das bochechas e as asas do nariz.

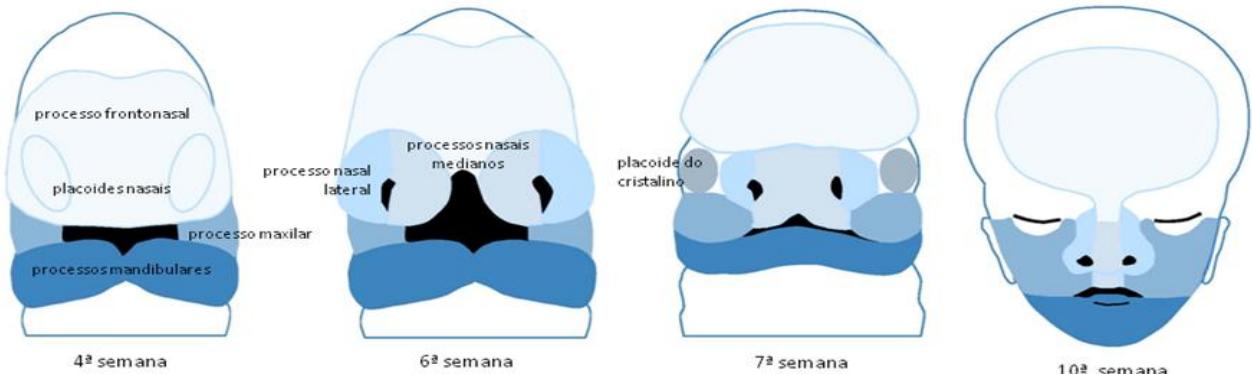
O álcool é teratogênico. Não há dose mínima segura para o seu consumo durante a gestação, e deve ser evitado inclusive pelas mulheres em idade reprodutiva, sujeitas a uma gravidez não planejada. A incidência da síndrome do álcool fetal é de 1 a 5%. Essa síndrome envolve uma série de distúrbios do desenvolvimento, especialmente da face e do sistema nervoso.

A face pode exibir defeitos sutis, como olhos com fissuras palpebrais curtas, pregas epicânticas, raiz nasal baixa, hipotelorismo ou hipertelorismo (aproximação ou afastamento demais do olhos, respectivamente), ausência do filtro do lábio, lábio superior fino e baixa implantação das orelhas. Entretanto a criança pode apresentar um conjunto de defeitos graves da face, denominado holoprosencefalia, que pode incluir ciclopia (fusão dos olhos pela ausência do septo nasal), presença de uma probóscide, ao invés do nariz, ou cobocefalia (somente uma narina).

A holoprosencefalia pode ser decorrente da morte de células na borda neural anterior ou de um distúrbio na capacidade da placa precordial e do endoderma visceral anterior/hipoblasto secretar shh e outros fatores necessários para a indução da região ventral do cérebro anterior (prosencéfalo). Na sua ausência, o campo óptico não se divide ou se divide parcialmente, e as estruturas da região ventral do prosencéfalo não se desenvolvem. Isso se reflete em uma redução da crista neural rostral, importante para formação da face. Distúrbios nos níveis de BMP também podem influenciar a formação inicial do prosencéfalo e levar à holoprosencefalia.

O etanol e os seus metabólitos interferem na proliferação e na migração dos neurônios e das células gliais, o que pode resultar em retardos na maturação psicomotora, desenvolvimento intelectual diminuído, alterações no tamanho e na forma do corpo caloso, hipoplasia do cerebelo e até mesmo microcefalia.

O consumo durante o período fetal pode afetar o crescimento e o ganho de peso, até mesmo pós-natal.



T. Montanari

Figura 5.27 - Representação da formação da face.

Baseado em Larsen, 1993, p.329.

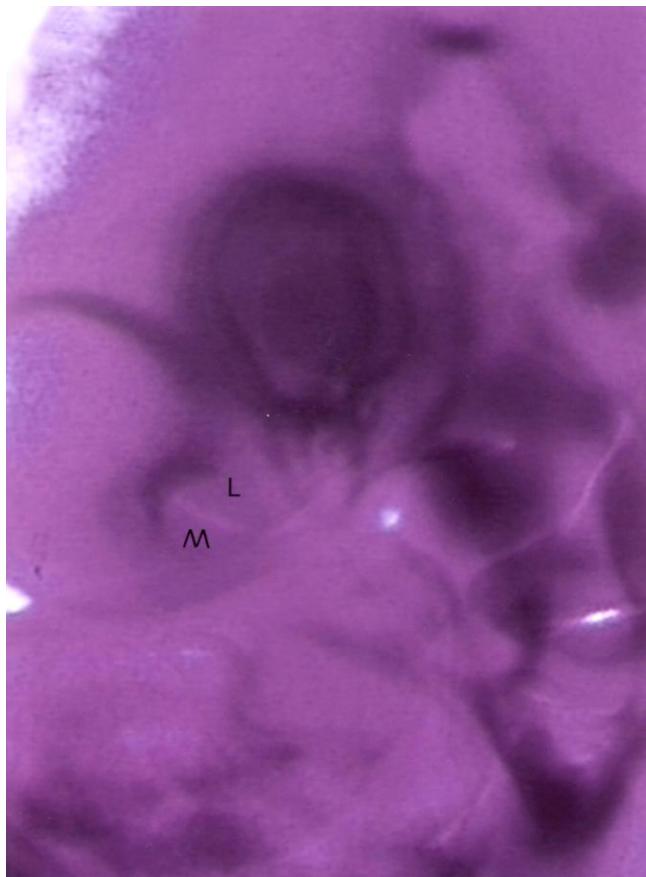


Figura 5.28 - Embrião de galinha com 72h, onde se visualizam as proeminências nasais lateral (L) e mediana (M) em torno do placoide nasal.



Figura 5.29 - A aproximação dos processos nasais medianos pode ser observada nesse feto (cortesia de Nívia Lothhammer).

Quando o processo maxilar não se funde com o processo nasal mediano, tem-se a *fenda labial* (ou *lábio leporino*). Fatores genéticos e ambientais (herança multifatorial) são responsáveis por essa anomalia. Esses fatores interferem na migração das células da crista neural para o processo maxilar, tornando-o hipoplásico. A incidência é de um caso a cada 1.000 nascimentos, sendo mais frequente no sexo masculino.

Uma situação mais severa (e rara) é a não fusão do processo maxilar com o processo nasolateral, gerando a *fenda facial oblíqua*, uma fissura que se estende ao lado do nariz, com persistência do sulco nasolacrimal.

A não fusão dos processos nasais medianos resulta em uma fenda labial mediana e no *nariz bífido*, em que o septo nasal está dividido e as duas narinas estão completamente separadas. Uma variação no grau de fusão desses processos provoca um sulco na ponta do nariz. Da mesma maneira, quando se trata dos processos mandibulares, tem-se a covinha no queixo.

Até a sexta semana, não há separação entre lábios e gengiva. O ectoderma interpõe-se entre o mesoderma, resultando na lâmina labiogengival, que degenera na sua maior parte e separa os lábios e a gengiva, com exceção da região do freio.

A língua começa a se formar no final da quarta semana. A *parte oral* (2/3 anteriores) da língua desenvolve-se de *duas proeminências distais* e de *uma proeminência mediana* (*tubérculo ímpar*). Essas proeminências resultam da proliferação do mesênquima do primeiro par de arcos branquiais. A *parte faríngea* (terço posterior) da língua desenvolve-se de duas estruturas: a *cópula* e a *eminência hipobranquial*. A cópula resulta da proliferação de mesênquima do segundo par de arcos branquiais, e a eminência hipobranquial, do terceiro e do quarto pares de arcos branquiais.

As proeminências distais da língua aumentam rapidamente em tamanho, unem-se e crescem mais do que a proeminência mediana da língua. Os planos de fusão das proeminências distais da língua são marcados na face superior da língua pelo sulco mediano e, na superfície inferior, pelo septo mediano. A linha de fusão das partes oral e faríngea da língua é

indicada no adulto por um sulco em forma de V, o sulco terminal.

O epitélio da língua diferencia-se do endoderma, e o tecido conjuntivo, do mesênquima dos arcos branquiais. A maior parte da musculatura da língua deriva dos mioblastos que migram dos somitômeros.

As papilas linguais circunvaladas e foliadas aparecem ao final da oitava semana. Mais tarde, surgem as papilas fungiformes e, da 10^a à 11^a semana, as papilas filiformes. Da 11^a à 13^a semana, desenvolvem-se os corpúsculos gustativos.

Ao final do sexto mês, as vias reflexas entre os corpúsculos gustativos e os músculos faciais já estão estabelecidas como pode ser constatado pela expressão facial do feto a uma substância amarga colocada no líquido amniótico.

A *tireoide* forma-se a partir de um divertículo do endoderma do assoalho da faringe primitiva, entre o primeiro e o segundo pares de bolsas faríngeas. Esse divertículo migra caudalmente do vértice do V lingual até seu local definitivo no pescoço, em frente da traqueia. Está conectado inicialmente com a língua pelo ducto tireoglossal, mas essa ligação desaparece em torno da sétima semana. A sua abertura persists no ápice do sulco terminal como o forame cego da língua adulta.

O desenvolvimento da tireoide envolve a indução de um segmento do endoderma pelo mesoderma, e as células endodérmicas passam a expressar quatro fatores de transcrição: Hhex, Nkx2-1, Pax-8 e Foxe-1.

O primórdio da tireoide consiste em uma massa compacta de células endodérmicas. Com a invasão do mesênquima vascular, há a organização em uma rede de cordões epiteliais e, posteriormente, em pequenos grupos celulares. Finalmente são formadas vesículas com uma camada de células: os folículos tireoidianos, os quais secretam hormônios a partir da 11^a semana.

O palato é proveniente do mesoderma das proeminências nasais medianas e das proeminências maxilares. O segmento intermaxilar, resultante da união das proeminências nasais medianas, contribui para o *processo palatino mediano*, que será responsável pela parte anterior do palato, em forma de cunha. A parte posterior do palato, que é a sua maior porção, é derivada dos *processos palatinos laterais*, que surgem do mesoderma das proeminências maxilares na sexta semana. Eles crescem inicialmente para baixo, em ambos os lados da língua, mas, na sétima semana, ascendem e projetam-se na horizontal (como uma prateleira) para uma posição superior à língua. Os processos palatinos laterais crescem um em direção ao outro e fusionam-se na 10^a semana, separando as cavidades nasal e oral. A fusão é indicada pela rafe mediana. O septo nasal cresce inferiormente e funde-se com o palato.

O mesênquima do processo palatino secreta FGF-10, o qual se liga a um receptor no ectoderma, estimulando a liberação de shh. Este provoca a produção de BMP-2 no mesênquima. BMP-2 e Msx-1, que interage com BMP-4, estimulam a proliferação das células mesenquimais dos processos palatinos e consequentemente o seu crescimento.

A elevação dos processos palatinos laterais pode resultar da hidratação devido ao ácido hialurônico secretado pelas células mesenquimais. O alinhamento para a posição horizontal pode ser determinado pela orientação das células mesenquimais e das fibras colágenas.

TGF-β3 é expresso nas células ectodérmicas na borda dos processos palatinos laterais logo antes da sua união. Ele estimula a apoptose dessas células, permitindo a fusão.

A não fusão dos processos que formam o palato, por serem hipoplásicos por causa de drogas, como anticonvulsionantes ou corticoides, ou por razões genéticas (ocorre na trissomia do 13), resulta na *fenda palatina* (Figura 5.30).

A incidência dessa anomalia é de 1/2.500 nascimentos, sendo mais comum no sexo feminino, o que pode estar relacionado com o fato de demorar mais uma semana para o palato se fechar nesse sexo, ficando mais tempo suscetível a teratógenos.

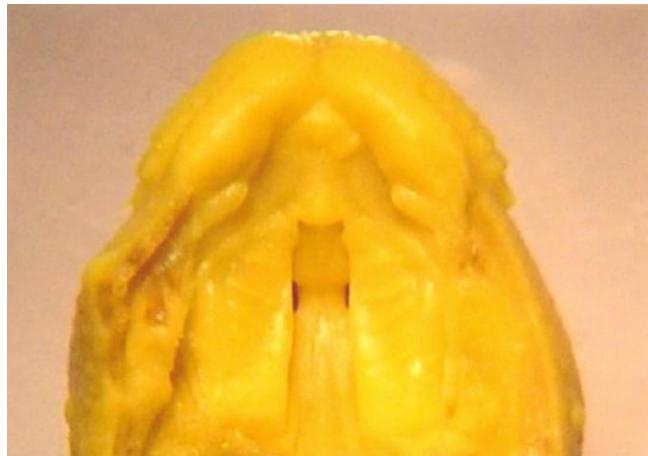


Figura 5.30 - Fenda palatina em feto de camundongo.

Osso desenvolve-se no palato anterior, na porção pré-maxilar da maxila, que contém os dentes incisivos, e estende-se para os processos palatinos laterais, formando o palato duro. As porções posteriores dos processos palatinos laterais não se ossificam e constituem o palato mole e a úvula.

A migração insuficiente de células da crista neural para o primeiro par de arcos branquiais resulta em uma hipoplasia desses arcos e dos seus derivados, levando à micrognatia (mandíbula pequena) ou à agnatia (ausência da mandíbula) (Figura 5.31).

A síndrome de Pierre Robin e a síndrome de Treacher Collins são duas manifestações da *síndrome do primeiro arco*.

Na *síndrome de Pierre Robin*, o indivíduo apresenta micrognatia, fenda palatina (em consequência da obstrução ao fechamento dos processos palatinos laterais pelo deslocamento posterior da língua) e defeitos das orelhas.

A *síndrome de Treacher Collins (disostose mandibulofacial)* é herdada como condição autossômica dominante. O gene *TCOF1*, através da proteína *Treacle*, afeta a sobrevivência e a proliferação das células da crista neural. Em caso de mutação desse gene, a apoptose aumenta e diminui a proliferação das células da crista neural, de modo que a população dessas células no primeiro par de arcos branquiais é reduzida. Há subdesenvolvimento da mandíbula e dos ossos zigomáticos, palato alto ou fendido, dente incompleto

e anormalidades das orelhas interna, média e externa.

Teratógenos também podem causar hipoplasia da face inferior, como é o caso da isotretinoína, um derivado da vitamina A, usado no tratamento da acne.

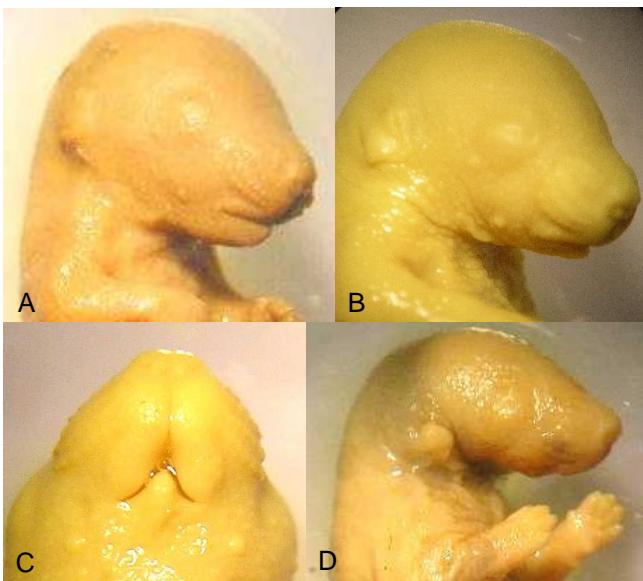


Figura 5.31 - Fets de camundongo com mandíbula normal (A), micrognatia (B e C) e agnatia (D). Reparar na implantação baixa das orelhas nesse último.

Sistema nervoso:

Como visto anteriormente, na terceira semana de desenvolvimento, o ectoderma suprajacente à notocorda é induzido a diferenciar-se na placa neural, a qual se fecha no tubo neural (Figuras 5.14 a 5.19). O tubo neural derivará o sistema nervoso central, sendo que a região anterior ao quarto par de somitos formará o encéfalo, e o restante, a medula espinhal.

O *neuroepitélio* apresenta inicialmente somente uma camada, constituída por um tipo de célula glial imatura, a célula glial radial. Ela é uma célula-tronco capaz de gerar tanto células da glia como neurônios. Exibe um corpo ovoide, com um prolongamento curto, ancorado na superfície apical, junto à luz do tubo neural, e outro mais longo, que se ramifica (por

isso, a denominação radial) e termina na superfície basal, que é circundada pela lâmina basal, a membrana limitante externa. Seu citoplasma é rico em filamentos intermediários de vimentina, nestina e, às vezes, proteína acídica fibrilar glial (GFAP de *glial fibrillary acidic protein*).

A disposição paralela das células gliais radiais dá um aspecto de paliçada ao neuroepitélio. Os núcleos estão posicionados em diferentes alturas conforme a fase do ciclo celular: as figuras mitóticas estão próximas à luz do tubo neural, e os núcleos em interfase, no lado oposto. Entre a oitava e a 22^a semana, há a produção de neuroblastos. Para tanto uma das células-filhas da mitose perde o contato com a luz do tubo e desloca-se para a extremidade oposta, não mais sintetiza DNA e nem se divide.

Quando as células gliais radiais sofrem clivagem meridional (que é perpendicular à superfície apical), as células-filhas herdam quantidades iguais dos produtos dos genes *Numb* e *Notch-1*, localizados nos polos apical e basal, respectivamente. As duas células-filhas originadas são iguais (a divisão é dita simétrica): ambas reiniciam o ciclo ou ambas migram. Com a clivagem equatorial (paralela à superfície apical), a célula-filha mais próxima à superfície interna terá *Numb*, e a outra, mais próxima à membrana limitante externa, terá uma alta concentração do receptor de superfície *Notch-1* (a divisão é designada assimétrica): a primeira é uma célula glial radial e reinicia o ciclo celular, e a segunda é um neuroblasto, que migra junto à superfície basal e não realiza mais mitoses.

Na diferenciação dos neuroblastos, há a ativação dos genes *neurogenina 1* e *neurogenina 2*, a supressão da síntese de nestina e a expressão de neurofilamentos. No início, os neuroblastos não possuem prolongamentos, mas logo desenvolvem dois processos citoplasmáticos opostos, tornando-se bipolares. Posteriormente um dos processos é substituído por vários dendritos e o outro se alonga no axônio, resultando em neurônios multipolares.

Os neurônios, ainda bipolares, enrolam-se em torno dos prolongamentos das células gliais radiais e utilizam-nos como guias em sua migração. Há

moléculas de adesão celular na superfície do neurônio e na superfície das células gliais radiais. Enquanto os neurônios migram, inibem a proliferação das células gliais radiais.

A camada junto à luz do tubo neural, que contém as células em mitose, é denominada zona *ventricular* (ou *ependimária*). A nova camada estabelecida com a migração dos neurônios é a zona *intermediária* (antigamente chamada zona do manto). Os neurônios emitem processos dendríticos e axônios em direção à periferia do tubo neural, criando uma região pobre em células, a zona *marginal*.

A gliogênese geralmente inicia após a neurogênese. Os progenitores das células da glia não expressam mais nestina e sintetizam GFAP. Os gliócitos (oligodendrócitos e astrócitos), originados do neuroepitélio, ocuparão a zona intermediária e a zona marginal.

A formação dos oligodendrócitos depende da sinalização de shh da notocorda.

Os oligodendrócitos recobrem muitos dos axônios da zona marginal com bainhas de mielina. A mielinização inicia no fim do segundo mês na medula espinhal e, no encéfalo, no terceiro trimestre. Continua durante o primeiro ano após o nascimento e é finalizada quando as fibras nervosas tornam-se funcionais.

O hormônio da tireoide triiodotironina (T3) tem papel decisivo no desenvolvimento da linhagem oligodendrocítica e na mielinização. A tetraiodotironina (T4), forma imatura do hormônio da tireoide, ao atravessar a membrana das células gliais, é convertida na forma ativa T3, que se liga a um receptor de localização citoplasmática. O complexo receptor-T3 migra para o núcleo, onde possibilita a expressão dos genes reguladores da proliferação e da diferenciação das células da glia e da produção de mielina. O atraso da mielinização no hipotireoidismo neonatal produz um quadro de retardo mental chamado *cretinismo*.

As células que circundam a luz do tubo neural cessam suas divisões e diferenciam-se nas células ependimárias (ou ependimócitos). Em determinadas ocasiões, muitas das células do *epêndima* podem se comportar como células-tronco, gerando neurônios ou gliócitos.

As células da micróglia (microgliócitos) originam-se das células mesenquimais provenientes da medula óssea que, no final do período fetal, alcançam o sistema nervoso central através da corrente sanguínea.

Na quarta semana de desenvolvimento, a porção anterior do tubo neural expande-se e origina três vesículas encefálicas: *prosencéfalo*, *mesencéfalo* e *rombencéfalo* (Figura 5.32). Essa expansão é promovida pela pressão de fluido contra as paredes. A pressão não se dissipava pela futura medula espinhal, porque há uma oclusão temporária do tubo neural na base do encéfalo.

Ainda na quarta semana, surgem duas protuberâncias das paredes laterais do prosencéfalo, as vesículas ópticas, primórdios dos olhos (Figura 5.32).

O tubo neural curva-se entre o mesencéfalo e o rombencéfalo (*flexura cefálica*) e entre o rombencéfalo e o restante do tubo neural (*flexura cervical*), adquirindo a forma de um C na sua extremidade cefálica.

Na quinta semana, o prosencéfalo deriva o telencéfalo (mais cranial) e o diencéfalo. O mesencéfalo continua como tal. O rombencéfalo divide-se em metencéfalo e mielencéfalo (mais posterior), e entre eles ocorre a *flexura pontina* (Figura 5.33).

O telencéfalo expande-se lateralmente e dará origem aos hemisférios cerebrais. Do terceiro ao oitavo mês, surgem sulcos e giros (Figura 5.34), o que aumenta a área do córtex cerebral sem aumento de volume da massa cefálica.

O córtex cerebral pode ser dividido em uma área filogeneticamente mais antiga, o rinencéfalo (paleopálio), e em outra mais recente, que apareceu nos répteis, o neopálio, do qual deriva o neocôrtex.

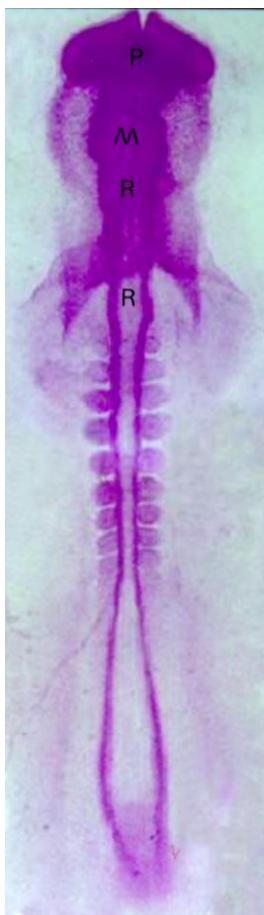


Figura 5.32 - Embrião de codorna, com 30h de incubação, onde a parte anterior do tubo neural expandiu-se nas três primeiras vesículas encefálicas: prosencéfalo (P) (de onde as vesículas ópticas projetam-se lateralmente), mesencéfalo (M) e rombencéfalo (R) (cortesia de Casimiro García Fernández).

O rinencéfalo começa a se formar em torno da sexta semana como uma evaginação da parte ventral do telencéfalo. A sua porção basal está constituída pelos bulbos olfatórios e pelos pedúnculos olfatórios. Os neurônios dos bulbos olfatórios recebem informação de células que percebem substâncias químicas (odores) e enviam essa informação a uma parte caudal do córtex cerebral para análise. A sua porção cortical está composta pelo hipocampo, que desempenha um papel importante no aprendizado e na memória, e pela substância cinzenta, onde há pontos de retransmissão dos impulsos olfatórios.



Figura 5.33 - Embrião de galinha, com 48h de incubação, onde são distinguidas as cinco vesículas encefálicas: telencéfalo (T), diencéfalo (D), mesencéfalo (M), metencéfalo (MT) e mielencéfalo (MI). São ainda indicadas a vesícula óptica (VO) e a vesícula auditiva (VA).

O neocôrte surge entre o terceiro e o sétimo mês de desenvolvimento, a partir da migração das células da zona intermediária para a zona marginal, ficando a substância cinzenta periférica. As seis camadas de neurônios que compõem a substância cinzenta são estabelecidas pela migração das células da camada mais interna, a primeira a se formar, para a mais externa, sendo que os neurônios maiores ficam situados na camada interna, e os neurônios menores, nas demais.

No ser humano, o neocôrte é bastante desenvolvido, com um grande número de zonas

associativas. É responsável pela aprendizagem, pela memória, pela fala, pela atividade voluntária e pelo controle inibitório.

O estabelecimento de sinapses inicia na vida intrauterina, aumenta nos três primeiros anos e diminui o seu ritmo entre três e 10 anos de idade. Conforme as exigências do meio, os neurônios mudam morfológica e fisiologicamente, e as sinapses são criadas, desfeitas ou consolidadas (*plasticidade neuronal*). As sinapses utilizadas tornam-se estáveis, enquanto as que não forem usadas serão removidas. Por isso, a importância de um ambiente rico em estímulos durante a infância e da atividade intelectual contínua na fase adulta.

Os hemisférios cerebrais formam os lobos frontal, temporal, parietal e occipital. Há ainda o lobo da ínsula, que se posiciona profundamente, devido ao crescimento acentuado dos hemisférios cerebrais. Em geral, o hemisfério cerebral direito recebe sensações e controla o movimento do lado esquerdo do corpo, enquanto o hemisfério cerebral esquerdo está envolvido com as sensações e os movimentos do lado direito do corpo.

Na substância branca, há fibras de associação que interligam os hemisférios cerebrais. Por exemplo, há a comissura anterior, que conecta os dois bulbos olfatórios; a comissura do fórnix, que inter-relaciona as estruturas do hipocampo de cada lado; o corpo caloso, que liga as áreas neocorticais das metades direita e esquerda do cérebro, e o quiasma óptico (*chiasma* = cruzamento), onde metade das fibras dos nervos ópticos cruza para o lado oposto do cérebro (Figura 5.34). Assim, o lado direito do encéfalo recebe a informação de ambos os olhos para a interpretação visual do lado esquerdo de um objeto, e o lado esquerdo do encéfalo, a informação para a visualização do lado direito do objeto.

As cavidades dos hemisférios cerebrais são os ventrículos laterais (Figura 5.34).

Profundamente na substância branca, ladeando os ventrículos, há os núcleos (regiões de substância cinzenta) da base. Pelo aspecto, foi denominado corpo estriado. É subdividido em dois grandes núcleos: o

núcleo lentiforme (globo pálido e putâmen) e o núcleo caudado. Eles estão envolvidos no controle inconsciente do tônus muscular e nos movimentos corporais complexos.

O desenvolvimento do telencéfalo envolve três centros de padronização: o centro de padronização rostral, derivado da borda neural anterior, que secreta FGF-8; o centro de padronização dorsal, que produz BMPs e Wnts, e o centro de padronização ventral, que libera shh. Além de afetar os centros de padronização dorsal e ventral, o FGF-8, através de moléculas, como Foxg-1 e Emx-2, regula o crescimento das vesículas telencefálicas e, de Nkx-2.1, providencia o início da ventralização pelo efeito no shh. BMPs padronizam a linha média dorsal e induzem a formação do plexo coroide, e Wnts promovem a formação das estruturas caudais do telencéfalo, como o hipocampo.

O diencéfalo diferenciar-se-á no hipotálamo, no tálamo e no epitélamo e contribuirá para a formação da hipófise, dos olhos e da glândula pineal (Figura 5.34).

O hipotálamo, o tálamo e o epitélamo surgem como três saliências das paredes laterais do diencéfalo. Em relação ao tálamo, o hipotálamo é ventral, e o epitélamo, dorsal. O hipotálamo tem núcleos que regulam as funções viscerais, como o sono, a homeostasia, a temperatura corporal, a atividade cardíaca, a ingestão de alimento e de líquido e o comportamento emocional e sexual. Ele também comanda respostas corporais por intermédio da secreção de hormônios pela hipófise. O tálamo possui núcleos que recebem informações visuais, auditivas e tátteis, de dor e temperatura e que as enviam para o córtex cerebral. Desempenha um papel importante na manutenção da consciência e na aquisição do conhecimento (cognição). O epitélamo tem funções associadas ao hipotálamo. Ele possui núcleos relacionados à mastigação e à deglutição.

A zona limitante intertalâmica, um grupo de células posicionadas acima da extremidade anterior do tubo neural, secreta shh, que organiza o limite dorsal e ventral

do futuro tálamo.

O espessamento das paredes laterais do diencéfalo comprime a luz, resultando em uma fenda estreita, o terceiro ventrículo (Figura 5.34).

Na quarta semana, do assoalho do diencéfalo projeta-se, em direção à cavidade oral primitiva (estomodeu), um divertículo em forma de funil, o *infundíbulo*, que se diferenciará na *neuro-hipófise*. Uma evaginação do teto do estomodeu, a *bolsa de Rathke*, encontra o infundíbulo e perde a conexão com o ectoderma oral. No fim do segundo mês, a bolsa de Rathke derivará a *adeno-hipófise* (Figuras 5.35 e 5.36).

As células da bolsa de Rathke originam-se na borda neural anterior. BMP-4 e FGF-8 do diencéfalo estimulam a proliferação celular do primórdio da bolsa de Rathke, e *Hesx-1*, *Lhx-3* e *Lhx-4* promovem a sua diferenciação.

Na sétima semana, um divertículo mediano do teto do diencéfalo (mais precisamente do epítalamo) desenvolve-se na glândula pineal (Figura 5.37). É uma glândula filogeneticamente primitiva, que está sob a influência do fotoperíodo e secreta maior quantidade de melatonina à noite. Essa substância inibe a função do eixo hipófise-gônadas e auxilia na regulação do ciclo sono-vigília.

O teto do diencéfalo, cranial ao epítalamo, é constituído por uma camada de ependimócitos, recoberta por mesênquima vascular. Esses tecidos originarão o plexo coroide do terceiro ventrículo. Os ependimócitos dos plexos coroides formam o líquido cerebrospinal a partir do plasma sanguíneo. Esse líquido circula pelos ventrículos, as cavidades do encéfalo, pelo espaço subaracnóideo (entre as meninges aracnoide e pia-máter) do encéfalo e da medula espinhal e pelo canal central da medula. Ele transporta oxigênio, glicose e outras substâncias importantes para o metabolismo; remove resíduos e substâncias tóxicas, e protege o sistema nervoso central contra choques mecânicos.

O *mesencéfalo* continua sendo assim denominado no adulto. É composto pelo teto e pelos pedúnculos cerebrais.

Os neuroblastos que migram para o teto se agregam em dois pares de grupos de neurônios, sendo o par cranial os colículos superiores, e o par caudal os colículos inferiores (Figura 5.34). Os colículos superiores recebem a informação dos nervos ópticos e, através do tálamo, encaminham-nas para as áreas visuais do córtex cerebral (lobo occipital). Os colículos inferiores transmitem os impulsos da cóclea para o tálamo, que, por sua vez, os envia para as áreas auditivas dos hemisférios cerebrais (lobo temporal). As ligações entre os colículos superiores e inferiores auxiliam a coordenação dos reflexos visuais e auditivos.

Diferente do que ocorre no córtex cerebral, nas três camadas da substância cinzenta dos colículos superiores, a mais externa é a primeira a se formar, e a mais interna, a última.

Os pedúnculos cerebrais (Figura 5.34) são constituídos pelo tegmento e pela base. No tegmento, organizam-se os núcleos eferentes somáticos dos nervos cranianos III e IV, que suprem a maioria dos músculos extrínsecos dos olhos; o núcleo de Edinger-Westphal, responsável pela inervação do músculo esfíncter da pupila e do músculo ciliar dos olhos; os núcleos rubros (a cor vermelha é dada pelo rico suprimento sanguíneo e ao pigmento com ferro dos neurônios), e a substância negra (assim designada pela presença de melanina, precursor do neurotransmissor dopamina). Os núcleos rubros e a substância negra estão envolvidos no controle do movimento voluntário. Anterior à substância negra, encontra-se a base dos pedúnculos cerebrais, onde transitam as vias motoras.

O mesencéfalo contém axônios que descendem do córtex cerebral até o encéfalo posterior e a medula espinhal, como os tratos corticopontino, corticobulbar e corticoespinhal.

Logo depois da indução neural, sinais da notocorda e das regiões organizadoras da cabeça (placa precordial e endoderma visceral anterior/hipoblasto) promovem a

expressão do fator de transcrição Otx-2 (*orthodenticle homologue* 2) na futura região do prosencéfalo-mesencéfalo e de Gbx-2 (*gastrulation brain homeobox* 2) na região do rombencéfalo. O limite na expressão desses dois fatores de transcrição forma o organizador ístmico, que secreta FGF-8. Este induz a expressão dos genes *paired-box Pax2* e *Pax5* e dos genes *engrailed En1* e *En2*, importantes na padronização anteroposterior. No organizador ístmico, há também a sinalização Wnt-1, que estimula a proliferação celular. A padronização do eixo dorsoventral deve-se à secreção de shh ventralmente, que promove a proliferação neuronal nessa região e inibe a expressão de moléculas, como Pax-7, características da região dorsal.

Devido ao crescimento acentuado de suas paredes, a sua luz estreita-se e torna-se o aqueduto do mesencéfalo, que une o terceiro e o quarto ventrículos, isto é, a luz do diencéfalo e a luz do metencéfalo e do mielencéfalo (Figura 5.34).

Do início da quarta até o fim da quinta semana, é observada uma segmentação no rombencéfalo (Figura 5.32). Esses segmentos são denominados *neurômeros* (ou *rombômeros*) e resultam da proliferação celular acentuada. Os corpos celulares de vários dos nervos cranianos originam-se aí.

A especificação dos rombômeros (r) 1 a 3 é regulada pelo próprio Gbx-2. O fator de transcrição Krox-20 guia a formação dos r3 e r5; o fator de transcrição *kreisler* e Hoxa-1 estão envolvidos na formação de r5, e um gradiente descendente de ácido retinoico, produzido pelos somitos anteriores, tem um papel importante na formação de r4 e r7.

As paredes do *metencéfalo* originarão o cerebelo e a ponte, enquanto a sua luz será a parte cranial do quarto ventrículo (Figura 5.34).

Assim como o cérebro, o cerebelo também apresenta um córtex de substância cinzenta, a substância branca interna e, no interior desta, núcleos de substância cinzenta. A substância cinzenta periférica (constituída pelas camadas molecular, de Purkinje e granular) resulta da migração dos

neuroblastos da zona intermediária para a zona marginal. Os núcleos cerebelares derivam de células da zona intermediária que permanecem em suas posições originais.

A migração dos precursores dos neurônios da camada molecular é paralela à superfície dorsal no sentido anterior. Após o término das mitoses, parte dessas células migra para o interior onde estabelecem a camada granular. Nesse trajeto, cruzam com os precursores das células de Purkinje, que migram da camada interna para uma posição entre as camadas granular e molecular. As células de Purkinje secretam shh, que induz a proliferação dos precursores dos neurônios das camadas molecular e granular.

O cerebelo é responsável pela coordenação dos movimentos, pela postura e pelo equilíbrio. Da medula espinhal recebe informações sobre a posição do corpo no espaço, e da ponte, informação do córtex cerebral, especificando a meta do movimento pretendido. Ele compara essas informações e calcula a sequência das contrações musculares para executar o movimento. Ao contrário dos hemisférios cerebrais, o lado esquerdo do cerebelo está envolvido com os movimentos do lado esquerdo do corpo, e o lado direito do cerebelo com os movimentos do lado direito do corpo. O cerebelo coordena ainda aprendizagem motora e a memória de procedimentos, além de complexas funções sensoriais, emocionais e cognitivas.

A ponte possui núcleos que são sítios de transmissão dos sinais para os movimentos voluntários, que se originam no córtex cerebral e vão para o cerebelo; núcleos que ajudam a controlar a respiração, e núcleos associados aos nervos cranianos V-VIII. Apresenta a formação reticular, de aspecto em rede pela disposição de pequenos aglomerados de corpos de neurônios com feixes de axônios, ou seja, uma mistura de substância cinzenta e substância branca, que coordena o ciclo vigília-sono. As fibras nervosas que ligam os córtices cerebral e cerebelar com a medula espinhal passam pela ponte. A ponte retransmite os impulsos nervosos entre o bulbo e o mesencéfalo e de um lado do cerebelo para o outro.

O *mielencéfalo* originará o bulbo. Seus dois núcleos principais são: o centro cardiovascular, que regula o ritmo e a força dos batimentos cardíacos e o diâmetro dos vasos sanguíneos, e o centro respiratório bulbar de ritmicidade, que regula a frequência da respiração. Há ainda núcleos associados às sensações de toque, pressão e vibração; núcleos que coordenam os reflexos de deglutição, vômito, tosse e espirro, e

núcleos que recebem a informação sensitiva ou fornecem a resposta motora dos nervos cranianos VIII-XII. Contém também a formação reticular.

Na substância branca do bulbo, passam os tratos sensitivos (ascendentes) e motores (descendentes) que se estendem entre a medula espinhal e outras partes do encéfalo. A sua cavidade será a porção caudal do quarto ventrículo (Figura 5.34).

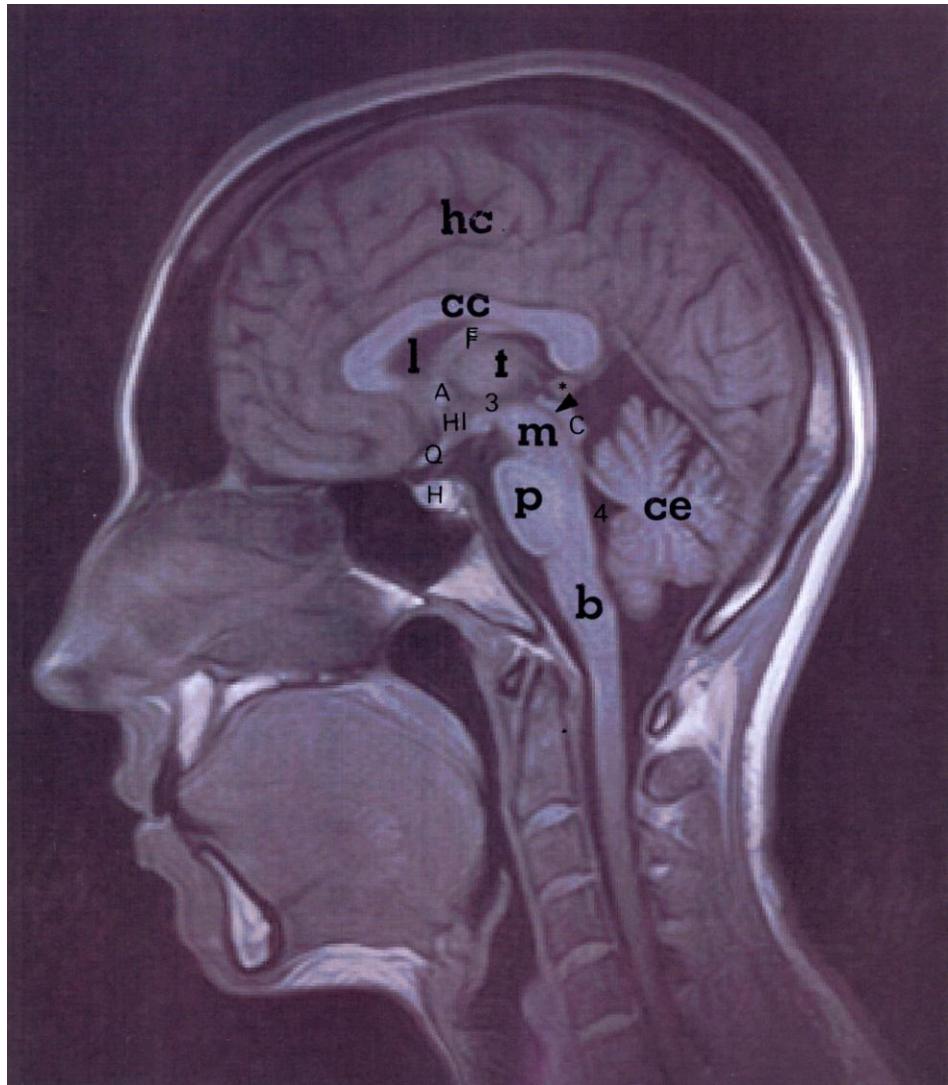


Figura 5.34 - Imagem por ressonância magnética do encéfalo adulto (vista medial): hemisférios cerebrais (hc), comissura anterior (A), fórnix (F), corpo caloso (cc), quiasma óptico (Q), septo pelúcido – limite medial do corno frontal do ventrículo lateral (l); hipotálamo (HI), tálamo (t), hipófise (H), glândula pineal (*), terceiro ventrículo (3); colículos do mesencéfalo (C), pedúnculo cerebral do mesencéfalo (m), aqueduto do mesencéfalo (►); cerebelo (ce), ponte (p); bulbo (b), e quarto ventrículo (4).

Devido à flexura pontina, a placa do teto do mielencéfalo é extremamente fina (Figura 5.35), constituída por uma camada de células ependimárias e pelo mesênquima vascular, que originará a pia-máter. Essas duas camadas são denominadas tela coroide. O mesênquima vascular prolifera e invagina para a luz do quarto ventrículo, formando o plexo coroide, produtor do líquido cerebroespinal.



Figura 5.35 - Corte de embrião de galinha, onde a hipófise estava sendo formada a partir do infundíbulo (I), uma projeção do diencéfalo (D), e da bolsa de Rathke (►), uma evaginação do estomodeu (E). M – mielencéfalo; VA – vesículas auditivas.

Em torno do quarto mês de desenvolvimento, surgem orifícios na placa do teto do quarto ventrículo, os foramens de Luschka (dois laterais) e o forame de Magendie (um mediano). Através deles, o líquido tem acesso ao espaço subaracnóideo, donde será absorvido pelas vilosidades aracnóideas e irá para o sistema venoso.

Normalmente, o volume do líquido cerebroespinal permanece constante de 80 a 150mL, pois é absorvido tão rapidamente quanto é produzido. *Hidrocefalia* é o acúmulo desse líquido por distúrbio na sua absorção, por estenose do aqueduto do mesencéfalo ou por obstrução das aberturas do quarto ventrículo ou nos espaços subaracnóideos. O aumento na quantidade de líquido cerebroespinal causa o adelgaçamento das paredes do encéfalo e a expansão do crânio no feto, já que as suturas da calota craniana ainda não estão fusionadas.

Algumas formas de hidrocefalia são devidas a mutações de genes no cromossoma X.

O conjunto do mesencéfalo, ponte e bulbo denomina-se tronco encefálico.

Se, no encéfalo, a migração celular, o crescimento diferencial e a morte celular produzem modificações no padrão das zonas ventricular, intermediária e marginal, na *medula espinhal*, essas três camadas são mantidas com poucas alterações. A zona intermediária transforma-se na substância cinzenta, e a zona marginal, na substância branca. Em consequência, a substância cinzenta localiza-se internamente e em forma de H, e a substância branca fica ao seu redor. A luz original do tubo neural diminui, mas continua delimitada pelo epêndima (Figura 5.38).

A medula espinhal primitiva é dividida nas placas alares e basais. As placas alares são situadas dorsalmente, e as placas basais, ventralmente. As placas alares direita e esquerda estão conectadas pela lâmina do teto, e as placas basais, pela lâmina do assoalho. As placas alares são precursoras dos cornos dorsais (ou posteriores), onde entram os axônios dos neurônios situados nos gânglios sensitivos. As placas basais derivam os cornos ventrais (ou anteriores), que contêm neurônios multipolares, cujos axônios

conduzem os impulsos para os músculos (portanto, neurônios motores) (Figura 5.38).

Duas classes de proteínas induzem a diferenciação celular ao longo do eixo dorsoventral do tubo neural para formar a medula espinhal: shh e BMPs.

Os fatores de transcrição Pax-3, Pax-7, Msx-1 e Msx-2 são expressos na placa neural. Shh, secretada pela notocorda, induz a diferenciação das células da linha média da placa neural na lâmina do assoalho. Há a repressão da expressão de Pax-3 e Pax-7, permitindo essa transformação. As células da lâmina do assoalho passam a produzir shh já no estágio de sulco neural.

BMP-4 e BMP-7, produzidas na ectoderme que ladeia as margens da placa neural (futura epiderme) e depois nas pregas neurais, induzem as moléculas dorsalizantes Pax-3, Pax-7, Msx-1 e Msx-2, resultando na lâmina do teto. Após o fechamento do tubo neural, as BMPs não são mais sintetizadas na ectoderme epidérmica, mas sim na lâmina do teto e na sua vizinhança.

No início da diferenciação neuronal, a expressão de BMPs persiste na região dorsal do tubo neural, e a expressão de shh é mantida na notocorda e na lâmina do assoalho. Vários membros da família BMP e a dorsalin, outro membro da superfamília do TGF-β, estão envolvidos na indução dos tipos celulares da metade dorsal do tubo neural, como células da crista neural, células da lâmina do teto e interneurônios dorsais. A sinalização Wnt, além de promover a proliferação dos progenitores neurais, exerce uma influência dorsalizante sobre eles. O destino celular na região ventral depende da concentração de shh (então essa proteína é mais do que um simples indutor: é um morfógeno). A exposição à alta concentração nas regiões ao lado da lâmina do assoalho (placas basais) induz a diferenciação dos neurônios motores, e a menor concentração que alcança as áreas acima das placas basais (região intermediária) resulta em interneurônios ventrais.

No início do período fetal, aparecem duas camadas de mesênquima em torno do encéfalo e da medula espinhal, envolvidas na formação das meninges. A camada mais interna, originária da crista neural, subdivide-se na pia-máter e na aracnoide, sendo, no espaço entre elas, circula o fluido

cerebrospinal. A camada mais externa, de origem mesodérmica, forma a dura-máter e ainda serve de molde para a ossificação intramembranosa da calota craniana.

No embrião, a medula espinhal estende-se por todo o comprimento do canal vertebral. Os nervos espinhais passam pelos foramens intervertebrais próximo aos seus locais de origem. Com o crescimento da coluna vertebral, a extremidade caudal da medula espinhal situa-se no nível da primeira vértebra sacral aos seis meses, da segunda ou terceira vértebra lombar ao nascimento e entre a 12^a vértebra torácica e a terceira vértebra lombar no adulto. As raízes nervosas espinhais dos segmentos lombar e sacral correm obliquamente da medula espinhal até o nível correspondente da coluna vertebral. Esse feixe de raízes nervosas é denominado cauda equina.

O espaço na coluna vertebral abaixo da medula espinhal é um local seguro para a retirada do fluido cerebrospinal para análise.

O sistema nervoso periférico é originado das células da crista neural. Essas células desprendem-se do neuroepitélio da placa neural (na região cranial) ou do tubo neural (no tronco) e formam uma lâmina dorsal contínua, por cima do tubo neural, que logo se divide em duas faixas longitudinais e se segmentam. Os blocos têm correspondência com os somitos.

As células da crista neural migram e diferenciam-se nos neurônios, nas células-satélites e nas células de Schwann dos gânglios sensitivos cranianos, dos gânglios espinhais e dos gânglios intramurais. Elas ainda derivam a bainha conjuntiva dos nervos, a medula da adrenal, que pode ser considerada um gânglio simpático altamente modificado, e os melanócitos.

Neurofibromatose (doença de von Recklinghausen) é uma doença genética que ocorre em cerca de 1/3.000 nascimentos vivos. O gene envolvido é muito grande e sujeito a uma alta taxa de mutação. Características comuns são manchas café com leite na pele,

neurofibromas (tumores de nervos periféricos) múltiplos, frequentemente centenas e ocasional gigantismo de um membro ou dígito.

Os neurônios dos gânglios sensitivos cranianos e espinais são pseudounipolares, enquanto aqueles dos gânglios intramurais são multipolares. Os neurônios pseudounipolares surgem como neurônios bipolares, mas, nesse caso, os dois prolongamentos fundem-se próximo ao corpo celular.

A mielinização das fibras nervosas periféricas, promovida pelas células de Schwann, ocorre do segundo ao quinto mês, sendo que as raízes motoras são mielinizadas antes das raízes sensitivas (no sistema nervoso central, a mielinização inicia nos tratos sensitivos).

Há uma interação entre a célula de Schwann e o axônio para a mielinização. Os axônios produzem fatores moleculares que sinalizam o início desse processo, sugerindo que seja o axônio que se identifica à célula de Schwann para ser mielinizado ou não. Moléculas da matriz extracelular, como a laminina presente na lâmina basal da célula de Schwann, e fatores de crescimento, como o FGF, o fator de crescimento derivado de plaquetas (*platelet-derived growth factor* – PDGF), o fator de crescimento neural (*nerve growth factor* – NGF), o fator de crescimento epidérmico (*epidermal growth factor* – EGF), a neorregulina e as citocinas, são os sinais que controlam a mielinização.

Precursores das células de Schwann que não são associados com axônios não recebem o suporte de neorregulina e sofrem apoptose.

A primeira atividade reflexa é observada na sexta semana, quando o embrião reage ao toque perioral com uma flexão contralateral do pescoço. No início do terceiro mês, o feto responde à estimulação tática de toda a superfície do corpo, exceto as costas e o topo da cabeça. Ao final do quarto mês, executa movimentos, sendo inclusive capaz de agarrar um bastão de vidro. No sexto mês, aparece o reflexo de sucção.

Olhos:

No início do desenvolvimento, o prosencéfalo constitui um único campo óptico, que posteriormente é dividido em dois. Duas vesículas são projetadas do prosencéfalo lateralmente: são as *vesículas ópticas*. Quando o prosencéfalo divide-se em telencéfalo e em diencéfalo, elas permanecem em comunicação com o diencéfalo (Figuras 5.32, 5.33 e 5.36). As vesículas ópticas contactam o ectoderme de revestimento suprajacente e induzem sua transformação nos *placoides do cristalino*, os quais se invaginam nas vesículas do cristalino e, posteriormente, se diferenciam nos cristalinos. Os placoides e as vesículas do cristalino, por sua vez, agem sobre as vesículas ópticas. Elas se invaginam e adquirem uma forma de cálice, com parede dupla. Esse cálice óptico se transforma na retina, sendo a camada mais interna (próxima à vesícula encefálica) a camada pigmentar e a mais externa a camada sensorial, com os fotorreceptores (Figuras 5.36, 5.37 e 5.39).

No desenvolvimento inicial da retina, o mesênquima invade a cavidade do cálice óptico e diferencia-se em um conjunto rico em ácido hialurônico, semelhante a um gel transparente: é o humor vítreo. Ele preenche o espaço entre a retina sensorial e o cristalino, formando o corpo vítreo, o qual protege a retina contra choques e vibrações.

Durante o período fetal, o espaço entre as duas camadas da retina desaparece quando se tornam justapostas. No entanto, se isso não ocorrer, tem-se o *deslocamento congênito da retina*. Pode ser consequência de um crescimento desigual das duas camadas, de modo a não ficarem em perfeita aposição, ou do acúmulo de líquido, como o humor vítreo, sangue ou exsudato. O deslocamento da retina também pode acontecer por um trauma no globo ocular, por infecções intraoculares ou pela retinopatia diabética, onde há uma proliferação anormal dos vasos sanguíneos da retina. O afastamento e a presença de líquido entre as camadas prejudicarão a visão.

Os axônios das células ganglionares da retina neural juntam-se na base do olho e penetram pelo pedúnculo que conecta o cálice óptico ao diencéfalo, formando o nervo óptico. Na face ventral do cálice óptico, há uma fenda que se estende ao longo da superfície ventral do pedúnculo óptico e que constitui a fissura óptica (ou coroide). No mesênquima que preenche as fissuras ópticas, desenvolvem-se os vasos hialoides. A artéria hialoide atinge o interior do cálice óptico, atravessa o corpo vítreo e ramifica-se no cristalino. A veia hialoide recolhe o sangue dessas estruturas. Posteriormente, os lábios dessa fissura fundem-se, e os vasos são incluídos no nervo óptico. As partes proximais dos vasos persistem como artéria central e veia central da retina, enquanto as partes distais, que supriam o cristalino, regridem antes do nascimento. A abertura redonda do cálice óptico originará a pupila.

O não fechamento da fissura óptica durante a sexta ou sétima semana resulta no *coloboma da retina* (ou *da íris*), em que a retina tem o aspecto de buraco de fechadura. É um defeito hereditário, transmitido como uma característica autossômica dominante. Pode ser também causado por fatores ambientais.

O campo óptico forma-se ao redor da placa precordal, no fim da gastrulação. Suas células expressam Rax (*retina and anterior neural fold homeobox*), Pax-6 e Lhx-2. Rax e o fator de transcrição Six-3 (*sine oculis-3*) suprimem a atividade de Wnt, evitando a posteriorização dessa região e permitindo então a produção de shh. Com a secreção de shh pela placa precordal e pela região mediana e ventral do prosencéfalo, a expressão de Pax-6 na linha média é reprimida, e o campo óptico divide-se em dois: os primórdios ópticos esquerdo e direito. Essa divisão também pode ser decorrente de movimentos no sentido anterior, segundo a expressão do gene *cyclops*, de células da região ventral do prosencéfalo. No 22º dia de gestação, as paredes laterais da vesícula encefálica evaginam-se, resultando nas vesículas ópticas.

As vesículas ópticas, através de FGF e BMP, induzem a transformação do ectoderme de revestimento nos *placoides do cristalino*. Pax-6 permite que o ectoderma superficial responda aos sinais inutivos da vesícula óptica aposte e promove a expressão dos genes

Eya1 e *Eya2 (eyes absent)*, iniciando a diferenciação no placoide do cristalino. Ainda ativa o fator de transcrição Sox-2, que provoca o espessamento do ectoderma no placoide do cristalino. A expressão de Pax-6 continua quando o placoide se invagina na vesícula do cristalino. O regulador transcracional Foxe-3, que opera em decorrência de Pax-6, facilita a separação da vesícula do cristalino do ectoderma superficial e a transformação das células posteriores em fibras do cristalino. Sob a influência de Sox-2, Pax-6 e Maf (proteínas pareadas com um oncogene), as células epiteliais do cristalino tornam-se alongadas, transparentes, com grande quantidade de proteínas *crystallin* α , β e γ . Depois da indução do cristalino, secreções da retina, do qual o FGF é o principal componente, acumulam-se no humor vítreo e estimulam a formação das fibras do cristalino.

O placoide do cristalino estimula a vesícula óptica a se achatar e se tornar côncava, resultando no cálice óptico. Isso requer a expressão de Lhx-2 e a ação de ácido retinoico. A expressão diferencial dos genes *Pax* determina a formação do cálice óptico (futura retina) ou do pedúnculo óptico (futuro nervo óptico). Através da exposição à alta concentração de shh, a expressão de Pax-6 é inibida e Pax-2 é induzida no pedúnculo óptico, enquanto a concentração menor de shh distalmente permite a expressão de Pax-6 na vesícula óptica. Estimulada pelo FGF do ectoderma superficial, uma interação entre Pax-2 e Pax-6 subdivides a vesícula óptica em uma camada distal (adjacente ao ectoderma superficial) e uma camada proximal (vizinha ao pedúnculo óptico). Sob a influência de Pax-6, a camada distal invagina-se, tornando-se a camada mais interna do cálice óptico, e expressa o fator de transcrição Vsx-2: essa camada será a retina sensorial. Inicialmente, o fator de transcrição Mitf (*microphthalmia-associated transcription factor*) é expresso por toda a vesícula óptica, mas, através da ação de BMP do mesênquima ao redor, originado da crista neural, e de Pax-2 e Pax-6, a expressão de Mitf torna-se restrita à camada proximal (externa). A presença de shh ventralmente estimula a produção de Otx-2 nessa camada e sua diferenciação no epitélio pigmentar da retina. Na camada interna do cálice óptico, shh e a proteína ventroptina, antagonistas da BMP-4, estimulam a expressão dos fatores de transcrição Vax-2 e Pax-2 na região ventral. Na parte dorsal, BMP-4 sinaliza a expressão de Tbx-5.

As células que expressam Pax-2 no pedúnculo óptico providenciam as moléculas-guia para orientar o crescimento dos axônios da retina que passam pelo nervo óptico e pelo quiasma óptico e entram no trato óptico

contralateral. Depois dos processos neuronais alcançarem o cérebro, o pedúnculo óptico é denominado nervo óptico.

A camada de ectoderma de revestimento, depois da internalização do placoide do cristalino, é refeita por epibolia e, por indução da vesícula do cristalino, gera o epitélio da córnea (Figuras 5.36, 5.37 e 5.39). As células cuboides do ectoderma tornam-se altas pela aquisição de organelas envolvidas na secreção, como o complexo de Golgi, e produzem colágenos tipos I, II e IX. O estroma formado permite a migração de células da crista neural, provenientes da borda do cálice óptico. Essas células organizam um epitélio cuboide, denominado endotélio da córnea. Elas secretam grandes quantidades de ácido hialurônico para o estroma, o que serve de substrato para outra onda de migração de células da crista neural. Essas células se diferenciarão em fibroblastos.

A expressão de Pax-6 no ectoderma da superfície é necessária para a indução da córnea.

A migração celular é interrompida com a secreção de hialuronidase pelas células. Com a remoção do ácido hialurônico e a consequente perda de água, a córnea tem sua espessura diminuída. Os fibroblastos contribuem para a matriz do estroma com fibras colágenas. A córnea ainda possui a membrana de Bowman e a membrana de Descemet, que correspondem à membrana basal do epitélio externo e do endotélio da córnea, respectivamente.

A transparência da córnea é possibilitada pela desidratação do estroma. Como visto anteriormente, a remoção da maior parte da água do estroma ocorre com a degradação do ácido hialurônico. Outro mecanismo envolve a tiroxina produzida pela glândula tireoide em maturação. Esse hormônio age sobre o endotélio da córnea fazendo-o bombear sódio do estroma para a câmara anterior do olho. As moléculas de água acompanham os íons de sódio.

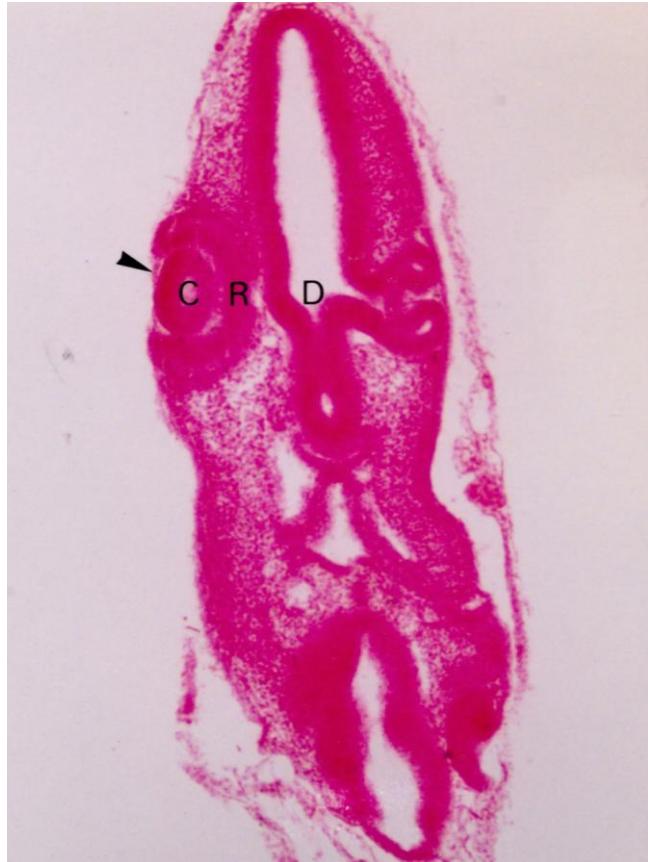


Figura 5.36 - Corte de embrião de galinha, onde é possível observar a formação da hipófise e dos olhos. Do diencéfalo (D) projetam-se as vesículas ópticas, agora invaginadas em cálices ópticos, os quais derivarão a retina (R). A vesícula do cristalino (C) é proveniente da internalização do placoide do cristalino, portanto de origem do ectoderma de revestimento. O ectoderma de revestimento refaz-se e será a córnea (►).

Outro evento importante na morfogênese da córnea é a curvatura acentuada que sofre devido a fatores mecânicos, como a pressão do líquido intraocular. A forma convexa permite que a córnea ajuste-se ao cristalino para conduzir os raios de luz focalizados para a retina. Irregularidades na curvatura da córnea, como acontecem no *astigmatismo*, causam distorções na imagem visual.



Figura 5.37 - Corte da cabeça de um embrião de galinha, onde são visualizados: um divertículo do teto do diencéfalo, responsável pela glândula pineal (←), os olhos em formação e a invaginação dos placoides nasais (PN).



Figura 5.39 - Na formação do cristalino, as células da vesícula do cristalino sintetizam e acumulam as proteínas do cristalino e tornam-se cilíndricas e alongadas (por isso, são denominadas fibras do cristalino), obliterando o espaço que havia.

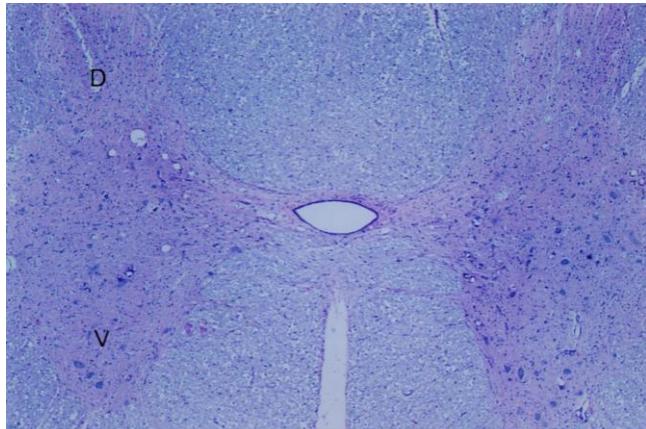


Figura 5.38 - Corte histológico da medula espinhal, onde se observam: a substância branca externa; a substância cinzenta interna, em forma de H, com os cornos dorsais (D) e ventrais (V), e o canal ependimário. HE.

Na borda do cálice óptico, a íris e o corpo ciliar diferenciam-se. Eles apresentam a camada externa pigmentada e a camada interna não pigmentada, contínuas com a camada pigmentar (interna) e a camada neural (externa) da retina. O estroma da íris é superficial em relação à camada pigmentada. Ele se origina da crista neural. A concentração de melanócitos e de melanina no estroma da íris determina a cor dos olhos.

A cor azulada na maioria dos recém-nascidos é fruto da pigmentação intrínseca da camada pigmentar da íris. A pigmentação definitiva do olho desenvolve-se gradualmente durante os primeiros seis a 10 meses de vida pós-natal. Se a melanina ficar restrita ao epitélio da

íris, os olhos serão azuis. Se a melanina estiver presente também no estroma, serão castanhos.

No interior do estroma da íris, estão os primórdios dos músculos esfínter pupilar e dilatador da pupila. Esses músculos são de origem neuroectodérmica e nascem da camada epitelial anterior da íris. A íris circunda parcialmente a parte externa do cristalino e, modificando o diâmetro da pupila, controla a quantidade de luz que passa por ele e consequentemente que incide sobre a retina.

As células da camada interna não pigmentada do corpo ciliar são transportadoras de íons e modificam o plasma sanguíneo que circula nos capilares do conjuntivo, secretando-o como humor aquoso na câmara posterior (entre o cristalino e a íris). O humor aquoso entra na câmara anterior (entre a íris e a córnea), passa por uma trama de tecido conjuntivo frouxo, desemboca no canal de Schlemm e é drenado para o seio venoso.

O desenvolvimento anormal da drenagem do humor aquoso durante o período fetal provoca a elevação da pressão intraocular, o que leva à degeneração das células ganglionares da retina e à cegueira. O *glaucoma congênito* pode resultar de infecções, como a causada pelo vírus da rubéola.

Abaixo do corpo ciliar está o músculo ciliar, derivado do mesênquima da borda do cálice óptico. A sua contração torna o cristalino mais convexo, o que altera seu poder de refração na acomodação para visão para perto.

O esboço do olho é envolvido por mesênquima originado do mesoderma e das células da crista neural. Ele se diferencia em duas camadas: a coroide, mais interna, de tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado e com melanócitos, e a esclera, a parte branca dos olhos, de tecido conjuntivo denso modelado. A esclera é contínua com a dura-máter.

As pálpebras desenvolvem-se como pregas ectodérmicas com mesênquima no interior. O

ectoderma interno deriva o epitélio da conjuntiva. O mesênquima diferencia-se no conjuntivo e nos músculos. As pálpebras tornam-se aparentes na sétima semana e unem-se ao final da nona semana (Figuras 5.40 e 5.41). Antes que voltem a se abrir, os cílios e as glândulas sebáceas formam-se do ectoderma superficial (Figura 5.42). A reabertura das pálpebras ocorre do sexto ao sétimo mês.

A reabertura das pálpebras é mediada por BMP.



Figura 5.40 - Embrião humano com oito semanas (54 a 55 dias, estágio Carnegie 22), onde se notam os olhos ainda abertos, com início da formação das pálpebras.

As glândulas lacrimais são glândulas exócrinas compostas, que surgem a partir de invaginações do ectoderma. Elas produzem lágrimas no segundo mês de vida, por isso o choro sem lágrimas do recém-nascido.

Orelhas:

Na quarta semana, por indução da notocorda, do mesoderma paraxial e do rombencéfalo (mais precisamente da região que será mielencéfalo), ocorre um espessamento do ectoderma de revestimento nos placoides óticos. Eles se invaginam para o

mesênquima subjacente e terminam por se separar do ectoderma como *vesículas auditivas* (*vesículas óticas* ou *otocistos*) (Figuras 5.33 e 5.35). Estas se diferenciam no labirinto membranoso, composto por: ductos semicirculares,utrículo, sáculo, ducto e saco endolinfáticos e ducto coclear. O órgão espiral (ou de Corti), cujas células pilosas são receptoras dos sons, diferencia-se da parede do ducto coclear. O mesênquima é induzido pelas vesículas óticas e transforma-se em cartilagem e posteriormente em tecido ósseo, formando o labirinto ósseo, constituído por: vestíbulo, canais semicirculares e cóclea. O labirinto membranoso e o labirinto ósseo compõem a orelha interna.



Figura 5.41 - Feto com três meses, cujas pálpebras estão fusionadas.



Figura 5.42 - Cílios, sobrancelhas e cabelos já presentes no feto.

FGF-3 do rombencéfalo induz o ectoderma superficial a expressar Pax-2. Sinais Wnt acima de um limiar estimulam a diferenciação das células Pax-2 positivas no placoide ótico, enquanto as células expostas a uma concentração menor ao limiar derivam a epiderme. Possivelmente sob a influência do FGF-3, o placoide ótico invagina-se na vesícula ótica. Esta sofre padronização dorsoventral através da sinalização Wnt na região dorsal do tubo neural e de shh de fontes ventrais. A vesícula ótica alonga-se, formando, sob a influência de Nkx-5, Dlx-5 e Gbx-2, uma região vestibular (ductos semicirculares,utrículo e sáculo) dorsal e, sob o controle de Pax-2 e Sox-3, uma região auditiva (ducto coclear) ventral. Pax-2 e FGF-3, secretado dos r3 e r6, são importantes para o estabelecimento do ducto endolinfático na superfície dorsomedial da vesícula ótica. BMP-4 do ectoderma da vesícula ótica estimula a diferenciação do mesênquima ao redor na cartilagem, a qual sofre ossificação endocondral no labirinto ósseo.

Os ossículos da orelha média são provenientes do primeiro e do segundo arcos branquiais, e as tubas auditivas e as cavidades timpânicas, do primeiro par de bolsas faríngeas.

A orelha externa consiste no meato acústico externo, na camada externa da membrana timpânica e no pavilhão auditivo. Os meatos acústicos externos derivam do primeiro par de sulcos branquiais. As membranas timpânicas diferenciam-se da camada de ectoderma do primeiro par de sulcos branquiais e de endoderma do primeiro par de bolsas faríngeas, com mesoderma interposto. Os pavilhões auditivos surgem, na sexta semana, da modelagem de seis tubérculos de mesênquima, revestidos por ectoderma (três do primeiro arco branquial e três do segundo), que crescem ao redor do primeiro par de sulcos branquiais.

A exposição à estreptomicina, à talidomida e ao ácido salicílico durante o primeiro trimestre pode afetar o desenvolvimento do meato acústico externo e do pavilhão auditivo.

Inicialmente as orelhas estão posicionadas em nível do pescoço, mas, à medida que a mandíbula se desenvolve, ascendem para o lado da cabeça, na altura dos olhos (Figura 5.31).

Sistema cardiovascular:

Mesmo em formação, o sistema cardiovascular permite a circulação sanguínea entre o embrião e os anexos, suprindo a necessidade de nutrientes e oxigênio e promovendo a eliminação de catabólitos.

Na terceira semana de desenvolvimento, os vasos sanguíneos começam a se organizar no mesoderma extraembrionário do saco vitelino, do córion e do pedúnculo do embrião e no mesoderma intraembrionário (exceto o mesoderma precordial e a notocorda). Eles surgem a partir da confluência de ilhotas sanguíneas, com células denominadas hemangioblastos. As células periféricas na ilhot

diferenciam-se nas células endoteliais, e as células internas, nas hemácias.

No saco vitelino, *Indian hedgehog* secretado pelo endoderma extraembrionário estimula o mesoderma extraembrionário a produzir BMP-4, que desencadeia a formação das ilhotas sanguíneas.

Os hemangioblastos, sob a influência de Runx-1, seguem a linhagem hematopoética, enquanto, respondendo a Hoxa-3, entram na linhagem endotelial. Podem ainda derivar as células musculares lisas dos vasos.

Os vasos sanguíneos formam-se por três mecanismos principais: pela coalescência dos angioblastos (precursores das células endoteliais) *in situ* (ex.: aorta dorsal); pela migração dos angioblastos de outros sítios (ex.: endocárdio), e pela ramificação de vasos já existentes (ex.: vasos intersegmentares do eixo corporal e vasos do sistema nervoso). No tronco e nas extremidades, o mesoderma local torna-se associado com o revestimento endotelial para constituir a parede vascular. Na cabeça e em muitas áreas do sistema arco aórtico, o mesênquima derivado da crista neural contribui para o tecido conjuntivo e o músculo liso do vaso.

Os angioblastos inicialmente são estimulados pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF-A de *vascular endothelial growth factor*) do mesoderma para formar os plexos capilares primários. Depois angiopoietina-I, Tie-2 e a sinalização Notch contribuem para o brotamento desses vasos. PDGF, TGF- β e miocardina estão envolvidos na construção da parede vascular.

Nas primeiras seis semanas, os eritrócitos em circulação são principalmente derivados do saco vitelino. Entretanto são células primitivas: grandes e nucleadas.

A hematopoiese intraembrionária inicia, no fim da quarta semana, em ilhotas no mesoderma lateral

esplâncnico associado com a parede ventral da aorta dorsal (grupos para-aórticos) e logo depois na região AGM (de *aorta/genital ridge/mesonephros* – aorta/crista genital/mesonefro). Células-tronco hematopoéticas dessa região migram, através do sangue, para o saco vitelino, a placenta e o fígado, assim como aquelas do saco vitelino e da placenta vão para o fígado. Da sexta à oitava semana, o fígado substitui o saco vitelino como principal fonte de hemácias. Os eritrócitos do fígado são anucleados, com uma vida curta (50 a 70 dias) e com hemoglobina fetal, que tem uma afinidade maior pelo oxigênio do que a forma adulta.

Genes das famílias *Hoxa* e *Hoxb* regulam a proliferação das células-tronco hematopoéticas, e BMP-4, *Indian hedgehog* e Wnt estimulam e mantêm a atividade dessas células.

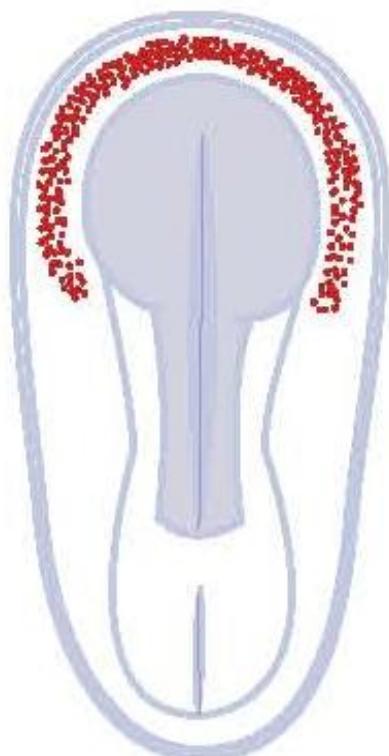
No saco vitelino e nos sítios embrionários de hematopose, as células endoteliais retêm por um curto período a capacidade hematopoética. Na região AGM, a sinalização de óxido nítrico, resultante do estresse causado pelo fluxo sanguíneo sobre as células endoteliais, pode induzir sua transformação em células-tronco hematopoéticas.

No fim do período embrionário, células-tronco hematopoéticas do fígado colonizam o baço, e, do terceiro ao quinto mês, esses dois órgãos são os principais sítios de hematopose. Mais tarde, o baço torna-se infiltrado por linfócitos.

O início do desenvolvimento do baço requer a ação cooperativa de Pod-1, uma proteína hélice-alça-hélice, e Bapx-1, uma proteína contendo *homeobox*, atuando através do fator de transcrição, Pbx-1. Essas substâncias agem sobre Nkx 2.5 e o oncogene *Hox-11*. Nkx 2.5 dita a assimetria do coração também. O baço é reconhecível na quarta semana, como uma condensação de mesênquima coberto pelo mesotélio no mesogástrio dorsal, vizinho ao broto dorsal do pâncreas.

O fígado continua a produzir eritrócitos até o início do período neonatal, mas sua contribuição começa a declinar no sexto mês, quando a medula óssea assume a atividade hematopoética. Essa mudança é controlada pelo cortisol secretado pelo córtex da adrenal do feto. Na ausência desse hormônio, a hematopose permanece confinada ao fígado. A medula óssea produz eritrócitos anucleados, com hemoglobina do tipo adulto.

O coração é gerado a partir de dois tubos endocárdicos, originados como os vasos, no *mesoderma lateral esplâncnico* da região cranial (Figura 5.43). Esses tubos se fundem com a aproximação das extremidades dos folhetos embrionários no dobramento do embrião no plano transversal. O dobramento no plano longitudinal leva a área cardiogênica para uma posição ventral ao intestino anterior.



E. Leite e T. Montanari

Figura 5.43 - Embrião com 19 dias, onde é visível a área cardiogênica situada no mesoderma lateral esplâncnico, cranial ao tubo neural.

O tubo cardíaco primitivo sofre uma série de dilatações, sendo identificadas quatro cavidades cardíacas primitivas: *bulbo cardíaco*, *ventrículo primitivo*, *átrio primitivo* e *seio venoso*, no sentido anteroposterior. O revestimento endotelial do tubo cardíaco será o endocárdio, e o mesoderma ao redor (a geleia cardíaca e o manto miocárdio), o tecido subendocárdio, o miocárdio e o epicárdio (ou folheto visceral do pericárdio), sendo que esse último é produzido pela proliferação e migração de células mesoteliais do seio venoso. O coração primitivo começa a bater por volta do 22º dia. As contrações musculares têm origem no próprio músculo cardíaco e ocorrem em ondas peristálticas do seio venoso para o bulbo cardíaco.

Parte do coração desenvolve-se do campo cardíaco primário (crescente cardíaco). Gradiente de ácido retinoico proveniente do mesoderma posterior faz com que as células posteriores do crescente cardíaco diferenciem-se no átrio, enquanto as células anteriores, não expostas ao ácido retinoico, derivarão o ventrículo esquerdo. Essas duas câmaras são os componentes mais primitivos do coração de mamíferos.

O campo cardíaco secundário é estabelecido por precursores do mesoderma do aparelho branquial. Células do primeiro par de arcos branquiais tornam-se incorporadas ao ventrículo direito, e células do segundo par de arcos branquiais, ao tronco-cone. Essas células ainda contribuem para o miocárdio do átrio e o epicárdio.

Vários conjuntos de moléculas, como Mef2, Nkx2, Gata, Tbx e *Hand*, guiam a diferenciação do tecido cardíaco. Eles são regulados diferencialmente por ativadores específicos para os campos cardíacos primário ou secundário. *Hand-1* é expressa em células derivadas do campo cardíaco primário, e *Hand-2*, no secundário.

Do bulbo cardíaco, perfurando o pericárdio, sai o tronco-cone, o qual se dilata no saco aórtico, de onde se originam um par de aortas ventrais primitivas, que se ramificam nos arcos aórticos no interior dos arcos branquiais. Nos vertebrados com guelras, as artérias dos arcos aórticos ramificam-se em um leito capilar, onde o sangue é oxigenado. Nos embriões de

mamíferos, os arcos aórticos permanecem como vasos contínuos, ocorrendo a troca de gases na placenta. O sangue dos arcos aórticos deságua em um par de aortas dorsais.

As aortas ventrais e as aortas dorsais formam-se contínuas aos tubos endocárdicos, sendo que as primeiras estão posicionadas ventralmente ao intestino anterior e as segundas, dorsalmente. Na quarta semana, as aortas dorsais fusionam-se em um vaso único na região posterior ao aparelho branquial, entre a quarta vértebra torácica e a quarta vértebra lombar.

As aortas dorsais ramificam-se nas artérias intersegmentares, que penetram entre os somitos e irrigam os seus derivados e o tubo neural, ou seja, a parede corporal, os músculos do tronco, a coluna vertebral, a medula espinhal e os membros. As aortas dorsais também distribuem o sangue para o saco vitelino, através das artérias vitelinas, e para a placenta pelas artérias umbilicais.

O sangue da cabeça e do tronco retorna ao coração através de um par de veias cardinais anteriores e de um par de veias cardinais posteriores. A união dessas veias resulta nas veias cardinais comuns (antigamente denominadas ductos de Cuvier), que desembocam no seio venoso. Este recebe também sangue do saco vitelino pelas veias vitelinas e sangue oxigenado da placenta por intermédio das veias umbilicais.

Devido ao crescimento diferencial das suas paredes, o tubo cardíaco dobra-se. Ocorre um aprofundamento do sulco bulboventricular esquerdo e do sulco atrioventricular direito, fazendo com que o bulbo cardíaco se posicione à direita e o ventrículo primitivo, à esquerda. O átrio eleva-se em direção dorsocranial, trazendo consigo o seio venoso (Figuras 5.33 e 5.44). O bulbo cardíaco e o ventrículo primitivo ficarão um ao lado do outro, em posição ventral ao átrio.

O bulbo cardíaco será o ventrículo direito, e o ventrículo primitivo, o ventrículo esquerdo. O átrio primitivo, expandido lateralmente, contornará a porção superior do bulbo cardíaco e o tronco-cone, e derivará os átrios direito e esquerdo. O seio venoso desloca-se para a direita e sofre atrofia do seu lado esquerdo.

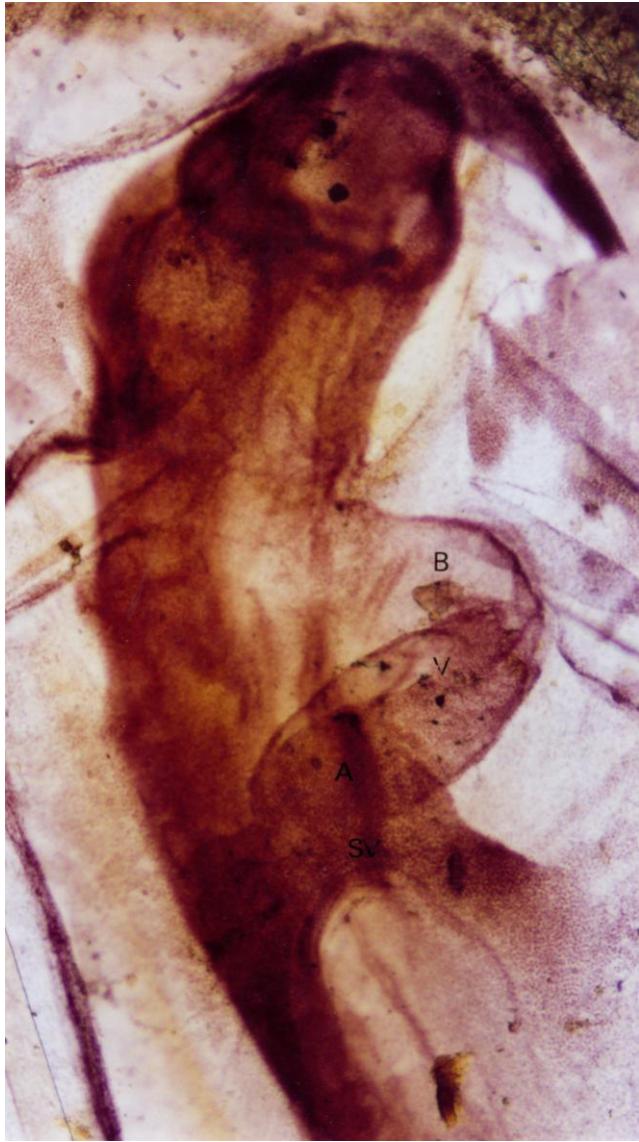


Figura 5.44 - Porção cranial do embrião de galinha in toto, onde, além das vesículas encefálicas e ópticas, vê-se o coração iniciando a sua formação a partir do tubo cardíaco: B – bulbo cardíaco; V – ventrículo primitivo; A – átrio primitivo, e SV – seio venoso.

O corno esquerdo do seio venoso originará o seio coronário, e o corno direito tornar-se-á o *sinus venarum*, a parte lisa da parede do átrio direito (o restante da parede tem aparência trabeculada), no qual se abrem as veias cava superior e inferior e o seio coronário. O marcapasso (um agregado de células que

dá início à onda excitatória) situado no seio venoso passa a se localizar no átrio direito e corresponde ao nó sinoatrial. Um pouco mais tarde, o restante do sistema condutor, como o nó atrioventricular e o feixe atrioventricular, será diferenciado.

Na quarta semana, devido à proliferação das células mesenquimais, surgem espessamentos do canal atrioventricular: os coxins endocárdicos atrioventriculares. Eles servem como valvas primitivas que auxiliam na propulsão do sangue. Na quinta semana, esses coxins se fusionam, formando o septo intermédio.

Do teto do átrio primitivo, cresce uma fina membrana, o *septum primum*, em direção ao septo intermédio. O espaço entre o *septum primum* e o septo intermédio é o *ostium primum*. Antes que esse espaço seja obliterado, apoptose de células na parte dorsal do *septum primum* resulta no *ostium secundum*. Na sexta semana, surge, à direita do *septum primum*, uma membrana muscular, o *septum secundum*. Ele ultrapassa a localização do *ostium secundum*, mas, próximo ao septo intermédio, cessa o seu crescimento. Essa abertura é conhecida como forame oval. O forame oval e o *ostium secundum* permitem a passagem do sangue do átrio direito para o átrio esquerdo durante a vida intrauterina. O refluxo do sangue é impedido pela aposição do *septum primum* ao *septum secundum*.

Do assoalho do ventrículo, no limite com o bulbo cardíaco, cresce o septo interventricular ao encontro do septo intermédio, separando o bulbo cardíaco (ventrículo direito) do ventrículo primitivo (ventrículo esquerdo).

No tronco-cone, duas cristas derivadas do mesênquima da crista neural projetam-se para a luz em espiral e fusionam-se entre si e com o septo intermédio, separando o tronco pulmonar, que se abre no ventrículo direito, e o tronco aórtico, que é contínuo ao ventrículo esquerdo. A septação em espiral do tronco-cone explica o arranjo contorcido da artéria pulmonar e da aorta.

Entre a sexta e a oitava semana, há mudanças na disposição primitiva dos arcos aórticos, levando à estrutura arterial adulta (Quadro 5.2).

Na oitava semana, as veias cardinais anteriores conectam-se por uma anastomose que desvia o sangue da veia cardinal anterior esquerda para a direita. Esse vaso anastomótico se torna a veia branquiocefálica esquerda quando a porção caudal da veia cardinal anterior esquerda se degenera. A veia cardinal comum esquerda fará parte do seio coronário. A veia cardinal anterior direita e a veia cardinal comum transformar-se-ão na veia cava superior, que, assim como o seio coronário, desembocará no átrio direito. As veias cardinais anteriores também se diferenciam nas veias jugulares internas. As veias cardinais posteriores contribuem para a formação da veia cava inferior e originarão a maioria das veias das cavidades torácica e abdominal.

As veias vitelinas, provenientes do saco vitelino, entram pelo pedúnculo do embrião e ascendem ventrolateralmente ao intestino anterior até o seio venoso. Com a organização do fígado, os sinusoides confluem para as veias vitelinas esquerda e direita. Quando da regressão do corno esquerdo do seio venoso e da porção proximal da veia vitelina esquerda, o sangue do lado esquerdo do fígado é canalizado para a veia vitelina direita, que deriva as veias hepáticas e, da sua porção cranial, origina parte da veia cava inferior. A veia vitelina direita também gera a veia mesentérica superior, a qual drena o sangue das alças intestinais. O segmento da veia vitelina esquerda que persiste dá a veia-porta.

As veias umbilicais, que trazem o sangue oxigenado da placenta, entram no embrião pelo pedúnculo (cordão umbilical) e, no seu trajeto para o coração, passam ao lado do fígado, estabelecendo conexões com os sinusoides hepáticos. A veia umbilical direita e o segmento proximal da veia umbilical esquerda degeneram, e é o restante da veia umbilical esquerda que leva sangue da placenta para o fígado. Cria-se uma comunicação entre a veia umbilical esquerda e a veia cava inferior: o ducto venoso, o qual permite que o sangue atravesse o fígado sem passar pelos sinusoides.

No feto, ao atingir o fígado, cerca da metade do sangue oxigenado vindo da placenta é drenada pelo ducto venoso à veia cava inferior, entrando rapidamente ao átrio direito. O resto do sangue corre

pelos sinusoides hepáticos e, através das veias hepáticas, desemboca na veia cava inferior. Para essa veia também conflui o sangue não oxigenado dos membros inferiores, do abdômen e da pelve.

O átrio direito recebe o sangue da veia cava inferior, da veia cava superior e da coronária. Do átrio direito, o sangue passa para o átrio esquerdo ou para o ventrículo direito. Por causa da orientação das válvulas dessas veias e da pressão sanguínea, o sangue que entra no átrio direito da veia cava inferior passa pelo desvio interatrial para o átrio esquerdo, enquanto o sangue da veia cava superior e do seio coronário passa pela válvula tricúspide para o ventrículo direito.

No átrio esquerdo, o sangue é misturado com uma pequena quantidade de sangue não oxigenado proveniente das veias pulmonares e vai para o ventrículo esquerdo e daí para a aorta (porção ascendente). Apesar da mistura com sangue venoso, as artérias que suprem a metade superior do corpo possuem sangue bem oxigenado.

No ventrículo direito o sangue sai do coração via tronco pulmonar. Como os pulmões ainda se encontram colapsados, o volume e o fluxo sanguíneos são baixos. A pressão na artéria pulmonar é alta, e a maior parte do sangue contido nessa artéria é desviada, por intermédio do ducto arterioso, para a aorta (descendente), indo irrigar a parte inferior do corpo e retornando para a placenta, através das artérias umbilicais, para a oxigenação.

Durante as contrações uterinas, o ducto venoso fecha-se, e o sangue passa pelos sinusoides hepáticos, dispersando o seu fluxo, o que evita sobrecarga ao coração fetal. Logo após o nascimento, a musculatura lisa das artérias umbilicais contrai-se, e o fluxo sanguíneo do feto em direção à placenta é impedido. A interrupção da circulação placentária provoca uma queda na pressão sanguínea da veia cava inferior e uma redução no volume de sangue que entra no átrio direito e consequentemente no átrio esquerdo.

Com o início da respiração pulmonar e o aumento de seu leito vascular, decai a pressão nas artérias pulmonares, bem como no átrio e no ventrículo direitos. O sangue das artérias pulmonares é direcionado aos pulmões e não mais ao ducto

arterioso, que agora se encontra obliterado. O átrio esquerdo recebe o sangue proveniente dos pulmões pelas veias pulmonares, aumentando a pressão nessa cavidade, o que faz com que o *septum primum* seja empurrado contra o *septum secundum*, resultando no fechamento entre os átrios. A justaposição desses septos leva à sua fusão no período de cerca de um ano.

Um *ostium secundum* aumentado e a hipoplasia do *septum secundum* são defeitos comuns que provocam a persistência da comunicação interatrial. Sintomas como hipertensão pulmonar podem aparecer após os 30 anos.

Sistema respiratório:

O nariz é formado pelo processo frontonasal e pelos processos nasais laterais e medianos. O processo frontonasal origina parte do dorso (a raiz) do nariz, e os processos nasais laterais derivam as asas do nariz. O restante do dorso e a ponta do nariz e ainda o septo nasal resultam da fusão das proeminências nasais medianas (Figuras 5.27 a 5.29).

O epitélio olfatório diferencia-se dos placoides nasais, espessamentos do ectoderma oriundo da borda neural anterior, presentes no processo frontonasal. Os placoides invaginam-se, constituindo as cavidades nasais (Figuras 5.27 e 5.37). Alguns dos sinusoides aéreos paranasais surgem na vida fetal, enquanto outros não aparecem até o nascimento.

Inicialmente a cavidade nasal e a cavidade oral estão em comunicação, mas, na sexta semana, começa a separação com o estabelecimento do palato a partir do processo palatino mediano e dos processos palatinos laterais.

Na quarta semana, há uma evaginação do endoderma na extremidade caudal da faringe (posterior ao quarto par de arcos branquiais) para o mesoderma lateral esplâncnico subjacente, formando o *tubo laringotraqueal* (ou *divertículo respiratório*). Ele se aprofunda caudalmente, em posição ventral ao intestino primitivo e dará surgimento à laringe, à traqueia e, ao se ramificar, à árvore brônquica. O

endoderma diferencia-se no epitélio de revestimento e nas glândulas, e o *mesoderma lateral esplâncnico* origina o tecido conjuntivo (inclusive a cartilagem), a musculatura lisa e os capilares do sistema respiratório (Figuras 5.45 e 5.46).

Durante a quarta e a quinta semanas, a proliferação do mesênquima do quarto e do sexto pares de arcos branquiais ao redor do sulco laringotraqueal converte-o na glote, com a epiglote posicionada cranialmente e as proeminências aritenoides, lateralmente. O mesênquima que envolve o orifício da laringe, proveniente desses arcos branquiais, diferencia-se nas cartilagens tireoide, cricoide e aritenoides. Similar ao esôfago, a laringe sofre uma oclusão temporária, sendo recanalizada da nona à 10^a semana, quando um par de dobras laterais e recessos formam a base estrutural para as cordas vocais e os ventrículos da laringe.

A indução do sistema respiratório é mediada pela sinalização Wnt e pelo FGF-10 do mesoderma. Esse fator de crescimento é produzido em resposta à ação do ácido retinoico e de Tbx-4 e Tbx-5. A parede ventral do intestino anterior, na região do futuro trato respiratório, expressa o fator de transcrição Nkx 2.1, enquanto a parede dorsal é caracterizada pela expressão de Sox-2. Nkx 2.1 e FGF-10 promovem a proliferação epitelial do divertículo respiratório. Sob a influência de Wnt, cristas mesodérmicas projetam-se e fusionam-se em uma direção posteroanterior, criando um septo que separa o divertículo do intestino primitivo.

O mesoderma vizinho ao endoderma controla a ramificação do primórdio, sendo que o mesoderma ao redor da futura traqueia a impede e aquele dos brotos pulmonares a induz. A dicotomização inicia com a inibição da proliferação do divertículo pela BMP-4, secretada pelas células epiteliais do ápice. Shh do epitélio estimula a proliferação das células mesenquimais vizinhas, as quais secretam TGF-β1, que inibe a produção de FGF-10 e promove a síntese de moléculas da matriz extracelular, como a fibronectina e os colágenos dos tipos I, III e IV, estabilizando o ápice do divertículo. No mesênquima lateral ao antigo ápice, as concentrações de shh e TGF-β1 são reduzidas, e FGF-10 é secretado, criando dois novos centros estimuladores da proliferação das células epiteliais. Assim, há a ramificação sucessiva do divertículo.

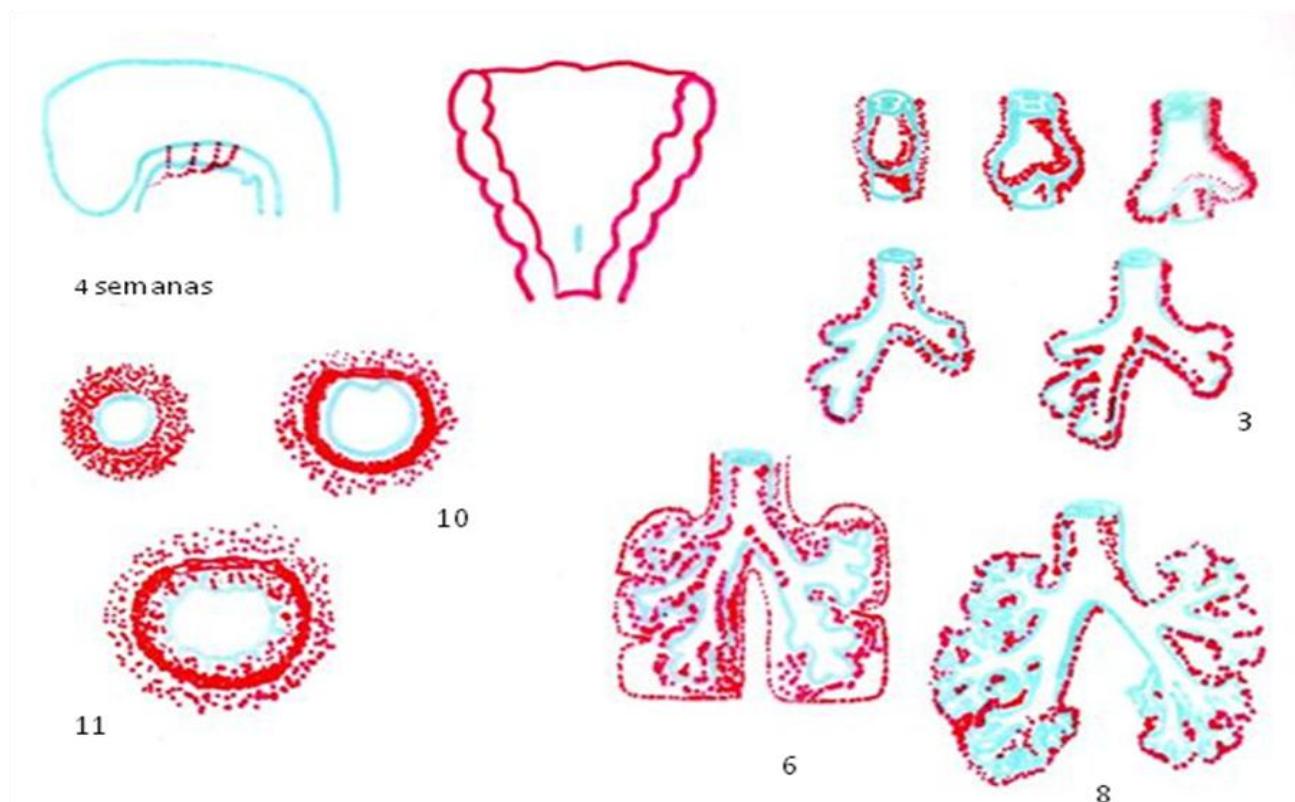


Figura 5.45 - O sistema respiratório surge a partir de uma evaginação da extremidade caudal da faringe, o divertículo respiratório (ou tubo laringotraqueal). Ele se aprofunda e se ramifica, originando a traqueia, os brônquios e os bronquiólos. O endoderma diferencia-se no epitélio, e o mesoderma lateral esplâncnico, no tecido conjuntivo (inclusive na cartilagem hialina) e no músculo liso do trato respiratório. Baseado em Moore, 1984. p.140-3.



Figura 5.46 - Corte de embrião de galinha, onde se visualiza a bifurcação do tubo laringotraqueal (TL). Notar a sua proximidade com o intestino primitivo anterior (↔).

A diferenciação do endoderma no epitélio respiratório está associada à expressão de vários fatores de transcrição, incluindo o fator de transcrição tireoidiano e Foxa-2; a receptores de ácido retinoico, e a genes contendo domínio homeobox. Os genes *Hox* estão envolvidos na especificação regional do trato respiratório. Um gradiente de sinalização Wnt e de BMP-4, que é mais alto nos ramos distais, evita que as células posicionadas distalmente formem fenótipos dos ramos maiores, proximais. A proteína epimorfina, localizada no mesênquima, permite a polaridade e o arranjo celular adequado das células epiteliais, sendo, portanto, importante na finalização da árvore brônquica.

A formação do músculo liso a partir do mesoderma lateral esplâncnico depende dos sinais de shh e BMP-4 dos brotos epiteliais distais. FGF-9 secretado pela pleura ajuda a controlar a proliferação e a diferenciação dos precursores das células musculares lisas.

Devido à proximidade do tubo laringotraqueal e do intestino primitivo, erroneamente pode ocorrer uma comunicação entre a traqueia e o esôfago: *fistula traqueoesofágica*. Sua incidência é de 1/2.500 nascimentos, sendo mais comum no sexo masculino.

A perda da sinalização Wnt, levando à supressão de Nkx 2.1 ventralmente, e a atividade Sox-2 reduzida na parede dorsal do intestino anterior são relacionadas à ocorrência de fistulas traqueoesofágicas.

Com dois meses, o feto começa a executar movimentos respiratórios. Períodos de respiração rápida são alternados com paradas da respiração (apneia). Esses movimentos preparam os músculos respiratórios e estimulam o desenvolvimento dos pulmões.

No sexto mês, os pulmões apresentam alvéolos de epitélio simples cúbico. Os pneumócitos do tipo II (ou células septais) formam-se primeiro no revestimento alveolar. Eles produzem *surfactante pulmonar*, uma lipoproteína que diminui a tensão superficial dos alvéolos, facilitando a sua expansão na inspiração e evitando que colapssem na expiração. Depois da proliferação, alguns pneumócitos do tipo II tornam-se pavimentosos e perdem a função secretora, sofrendo diferenciação terminal em pneumócitos do tipo I. Estes pneumócitos também podem ser gerados de células precursoras no revestimento alveolar.

Até os oito anos, o epitélio alveolar adquire a forma pavimentosa e os septos interalveolares tornam-se mais finos, favorecendo as trocas gasosas entre a luz do alvéolo e os capilares sanguíneos localizados no tecido conjuntivo do septo interalveolar.

Os estágios do desenvolvimento dos pulmões são resumidos no Quadro 5.3.

Quadro 5.3 - Estágios do desenvolvimento dos pulmões:

- estágio embrionário (da quarta à sétima semana): abrange o surgimento do divertículo respiratório até os segmentos broncopulmonares;
- estágio pseudoglandular (da oitava à 16^a semana): sua denominação deve-se à aparência de glândula do pulmão nesse período; há o crescimento dos ductos nos segmentos broncopulmonares;
- estágio canicular (17^a à 26^a semana): ocorre a formação dos bronquíolos respiratórios e o aumento da vascularização;
- estágio de saco terminal (26^a semana ao nascimento): os sacos alveolares organizam-se nas extremidades dos bronquíolos respiratórios, e o epitélio dos alvéolos diferencia-se nos pneumócitos do tipo I e nos pneumócitos do tipo II;
- estágio pós-natal (do nascimento até os oito anos): há inicialmente um aumento de tecido conjuntivo entre os sacos alveolares, mas depois há uma diminuição, favorecendo as trocas gasosas.

Os recém-nascidos prematuros, com menos de sete meses, não sobrevivem sem a administração exógena de surfactante. Ao nascerem, como não possuem quantidades suficientes dessa lipoproteína, apresentam dificuldade em respirar, exibindo um quadro definido como *síndrome da angústia respiratória*. O esforço na expansão dos alvéolos pode lesioná-los, produzindo a *doença da membrana hialina*.

O folheto visceral da pleura pulmonar é oriundo do mesoderma lateral esplâncnico, e o folheto parietal, do mesoderma lateral somático.

Ao nascimento, metade do volume dos pulmões é preenchida pelo líquido amniótico. Ele é removido pela boca e pelo nariz, quando o tórax é pressionado durante o parto, e pela rede capilar sanguínea e linfática.

O diafragma, que separa a cavidade torácica da abdominal, é constituído pelo septo transverso, pelo mesentério do esôfago, pelas pregas pleuroperitoneais e pelo mesênquima da parede dorsal. O septo transverso projeta-se da parede ventral como uma prateleira semicircular e funde-se com a face ventral do mesentério esofágico, separando o coração do fígado. As pregas pleuroperitoneais crescem dorsolateralmente para o mesentério esofágico e para o septo transverso. O mesênquima da parede corporal forma as bordas dorsolaterais do diafragma, subjacente às extremidades caudais dos pulmões. A musculatura do diafragma é originada de precursores provenientes dos somitos occipitais.

Sistema digestório:

No fechamento do embrião em disco para um tubo, as extremidades do endoderma aproximam-se e incorporam a parte dorsal da vesícula vitelina, formando o *intestino primitivo*.

Ainda em virtude do dobramento do embrião, a membrana bucofaríngea e a membrana cloacal ficam posicionadas, separando, respectivamente, o

estomodeu (cavidade oral primitiva) e o *proctodeu* do intestino primitivo. Eles são revestidos por *ectoderma*, que é responsável pelo epitélio da cavidade oral, das glândulas salivares parótidas e do terço inferior do canal anal.

Como descrito na formação da cabeça e do pescoço, a língua desenvolve-se a partir do endoderma e do mesênquima dos arcos branquiais.

O intestino primitivo é dividido em: anterior, médio e posterior. O *intestino anterior* origina a faringe, o esôfago, o estômago, a primeira porção do intestino delgado (o duodeno), o pâncreas, o fígado e a vesícula biliar. O *intestino médio* deriva o resto do intestino delgado (o jejunum e o íleo) e parte do intestino grosso (ceco, apêndice, cólon ascendente e metade ou 2/3 do cólon transverso). O *intestino posterior* forma a última porção do intestino grosso (metade ou o terço distal do cólon transverso, cólon descendente, sigmoide, reto e a porção superior do canal anal).

A regionalização do intestino primitivo é regulada pela sinalização Wnt, pela influência de FGFs, pela expressão dos genes *Hox* e pelo *shh*. O intestino anterior é determinado pela supressão dos sinais Wnt e expressa os fatores de transcrição *Sox-2*, *Hhex* e *Foxa-2*. A sinalização Wnt-5a atua no endoderma do intestino médio, e este expressa *Pdx-1* e *Cdx-2*. A ação de Wnt e FGF-4 especifica o intestino posterior através da expressão de *Cdx-2*. Esse fator de transcrição é importante para a expressão ordenada dos genes *Hox*, que padroniza o trato digestório. *Shh* é expresso no endoderma, no limite entre os intestinos anterior e médio (ainda aberto) e entre este e o intestino posterior. No limite posterior, o *shh* é seguido pela expressão de *BMP-4*, que é acompanhada por um gradiente anteroposterior de expressão dos genes *Hox9* a *13* no mesoderma.

O *endoderma* do intestino primitivo origina o epitélio de revestimento do trato digestório (da faringe aos 2/3 superiores do canal anal) e dos seus anexos (glândulas sublinguais e submandibulares, fígado, vesícula biliar e pâncreas). O *mesoderma lateral esplâncnico* deriva o tecido conjuntivo, o músculo liso

e o revestimento epitelial do peritônio visceral. O *mesoderma lateral somático* é responsável pelo peritônio parietal e pela derme do abdômen.

O endoderma prolifera bastante, e a luz é obliterada, sendo posteriormente canalizada por apoptose. Erros nesse processo resultam em: *atresia esofágica*, quando o esôfago termina em fundo cego (a ocorrência dessa anomalia geralmente está associada com a de fístula traqueoesofágica); *estenose esofágica*, quando há o estreitamento da luz, e *atresia ou estenose duodenal*.

O músculo estriado das porções inicial e mediana do esôfago é proveniente do mesoderma paraxial, enquanto o músculo liso dos segmentos mediano e distal deriva do mesoderma lateral esplâncnico. A musculatura esofágica é inervada pelo nervo vago.

O estômago é resultado de uma dilatação da região caudal do intestino anterior. Inicialmente a dilatação é uniforme, e o órgão, na quinta semana, tem um aspecto fusiforme. Entretanto um crescimento mais rápido da parede dorsal do que da ventral provoca a grande curvatura. Ele sofre rotação de 90° no sentido horário e uma inclinação, ficando praticamente transversal ao eixo longitudinal do corpo, com a parede convexa dorsal posicionada no lado esquerdo do corpo e a parede côncava ventral no lado direito.

O estômago está conectado à parede corporal dorsal pelo mesentério dorsal (mesogástrio dorsal) e à parede ventral pelo mesentério ventral. No mesogástrio dorsal, desenvolvem-se o baço e a cauda do pâncreas, e, no mesentério ventral, o fígado. Com a rotação do estômago, o mesogástrio dorsal forma uma estrutura em saco, a bolsa omental. Parte do mesogástrio dorsal, o grande omento, pende ao lado do cólon transverso e de porções do intestino delgado como uma aba dupla de tecido adiposo. Os dois lados do grande omento fusionam-se e obliteram a bolsa omental. O mesentério ventral entre o fígado e o estômago é o omento menor.

No segundo mês, a mucosa gástrica apresenta dobras e fossetas gástricas. Os tipos celulares

diferenciam-se no período fetal, e a secreção de ácido clorídrico inicia pouco antes do nascimento.

O estômago é especificado pela ação dos fatores de transcrição Hoxa-5 e Barx-1, os quais inibem a sinalização Wnt. Um gradiente posteroanterior de FGF-10, produzido no mesoderma, promove a diferenciação das glândulas gástricas. A formação do esfíncter pilórico é dirigida pelos fatores de transcrição Sox-9 e Nkx 2.5, cuja expressão no mesoderma é estimulada por sinais BMP-4, e por genes *Hox*.

Brotamentos do endoderma da porção caudal do intestino anterior originam o fígado, a vesícula biliar e o pâncreas. O mesoderma lateral esplâncnico ao redor é responsável pelo tecido conjuntivo desses órgãos.

A sinalização TGF- β restringe a especificação do endoderma do intestino anterior para permitir que o endoderma pré-hepático e pré-pancreático seja receptivo aos sinais indutores. Durante o fechamento do embrião, quando a região cranial dobra-se, criando o intestino anterior, o endoderma ventral deste é apostado ao mesoderma cardíaco e ao mesoderma do septo transverso. Altos níveis de FGF secretados pelo mesoderma cardíaco, BMP-4 do mesoderma do septo transverso e ácido retinoico induzem a formação do fígado.

Graças à atividade do gene *homeobox Hhex*, o epitélio derivado do endoderma torna-se pseudoestratificado, com os núcleos interfásicos na posição basal e as figuras mitóticas na posição apical. Através dos fatores de transcrição *Hhex*, *Prox-1* e *Tbx-3*, as células perdem a E-caderina, degradam a lâmina basal com metaloproteinases da matriz (MMPs) e migram para o mesoderma lateral esplâncnico do septo transverso, formando cordões hepáticos. O mesoderma fomenta a proliferação desses cordões pelo fator de crescimento hepático (HGF), que se liga ao receptor c-met, localizado na superfície das células dos cordões hepáticos, os hepatoblastos. Guiados pelos fatores de transcrição fator nuclear hepático-4 (HNF-4) e FoxA, alguns hepatoblastos diferenciam-se em hepatócitos. Outros, sob a influência de TGF- β e Notch, arranjam-se em uma única camada de células ao redor dos ramos da veia porta e diferenciar-se-ão nos ductos biliares.

O fígado desenvolve-se bastante devido à produção de células do sangue a partir da sexta semana (Figura 5.47). A função hematopoética declina no sexto mês quando é assumida pela medula óssea. No terceiro mês, os hepatócitos começam a produzir bile, que é drenada para a vesícula biliar, onde é armazenada, e posteriormente é liberada para o intestino delgado. À medida que o período fetal progride, o fígado é ativo em armazenar glicogênio e na síntese de ureia a partir dos metabólitos nitrogenados.

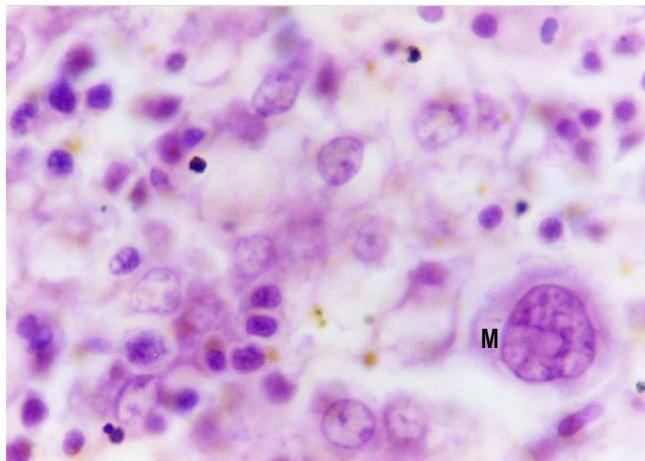


Figura 5.47 - Fotomicrografia de fígado de feto de camundongo, realizando hematopose (M – megacarioblasto).

O pâncreas é formado da fusão de dois brotos: o dorsal (maior) e o ventral (menor). O broto dorsal cresce diretamente do intestino anterior, e o ventral, do divertículo hepático, embora de uma população de células endodérmicas diferente daquela precursora do fígado e da vesícula biliar. Quando o duodeno rota para a direita e forma uma alça, o broto ventral fusiona-se com o broto dorsal.

O endoderma dos brotos pancreáticos estabelece uma rede de túbulos. Agregados celulares nas extremidades dos túbulos desenvolvem-se na porção glandular acinosa serosa, produtora de enzimas digestivas. Os túbulos diferenciam-se nos ductos, que conduzem as enzimas para o duodeno. As ilhotas de Langerhans surgem do desprendimento de células dos

túbulos para os espaços entre os ácinos. Essas glândulas endócrinas cordonais secretam insulina e glucagon no quinto mês de gestação.

Caudal ao endoderma hepático, há uma região precursora do pâncreas e da vesícula biliar. Expressando Sox-17 e Pdx-1, as células são bipotentes. Algumas dessas células cessam a expressão de Sox-17, mas, ao continuar a expressão de Pdx-1, derivam o pâncreas ventral. Outras perdem a expressão de Pdx-1 e continuam a expressão de Sox-7 e tornam-se o ducto cístico e a vesícula biliar.

O pâncreas ventral desenvolve-se em decorrência da exposição a um baixo nível de FGF, já que movimentos do endoderma levam essas células para longe do mesoderma cardíaco. O seu desenvolvimento depende da atividade do fator de transcrição Ptf-1a. Para o pâncreas dorsal se desenvolver, shh produzido localmente deve ser inativado pela ativina e pelo FGF da notocorda. Ácido retinoico do mesoderma paraxial é necessário para a sua indução. Durante os estágios iniciais do broto pancreático dorsal, as células progenitoras pancreáticas expressam os fatores de transcrição Pdx-1 e Hoxb-9.

A ação de folistatina e FGFs do mesoderma, em combinação com a ativação do sistema receptor Notch, resulta na diferenciação dos precursores pancreáticos em células acinosa. Em uma via que não envolve a ativação do sistema Notch, mas com sinais provenientes da vascularização local, as células precursoras tornam-se células do ducto ou células endócrinas. As células progenitoras endócrinas expressam o fator de transcrição neurogenina-3 e Isl-1. Dois tipos de células precursoras são derivados: as células caracterizadas pela expressão de Pax-6 e Nkx 2.2 originam células α , produtoras de glucagon, e células γ , produtoras do polipeptídeo pancreático, e as células que expressam Pax-4 e Nkx 2.2 diferenciam-se nas células β , secretoras de insulina, e nas células δ , secretoras de somatostatina.

Raramente, a fusão incorreta dos brotos pancreáticos ou um broto ventral bífido pode circundar o duodeno de ambos os lados, o que é denominado *pâncreas anular*. Estudos em camundongos sugerem que a sinalização de shh reduzida no local pode levar ao crescimento demais de tecido do broto ventral.

Como a cavidade abdominal ainda é pequena e é ocupada pelo fígado aumentado, à medida que a alça intestinal se expande, ela é projetada para dentro do cordão umbilical (hérnia umbilical fisiológica). Ainda no interior do cordão umbilical, a alça sofre rotação de 90° no sentido anti-horário (a rotação tem como eixo a artéria mesentérica superior). Em consequência, a parte cranial da alça do intestino médio (a que desenvolve o intestino delgado) é voltada para a direita, enquanto o segmento caudal (intestino grosso) se estabelece para a esquerda. No terceiro mês, devido à diminuição do fígado e ao aumento da cavidade abdominal, as alças intestinais retornam ao abdômen.

O não retorno das alças intestinais de modo a permanecerem no cordão umbilical configura a *onfalocele*. O saco herniado é revestido pelo âmnio e pelo peritônio. Essa malformação pode ser decorrente de uma cavidade abdominal hipoplásica e/ou de defeitos da musculatura abdominal. A sua incidência é de 1/3.500 nascimentos, mas metade dos casos é de natimortos.

Quando os intestinos retornam normalmente à cavidade abdominal, mas sofrem herniação no período pré-natal ou pós-natal, tem-se a *hérnia umbilical*. A alça intestinal herniada é recoberta pela pele. A protrusão ocorre porque a musculatura da parede ventral, a musculatura reto-abdominal, não fecha o anel umbilical.

Na *gastrosquise*, as vísceras ficam expostas pela não formação apropriada da parede abdominal, devido a um fechamento incompleto das pregas laterais do embrião na quarta semana. Ocorre em 1/10.000 nascimentos.

O intestino delgado (formado pelo ramo cranial) retorna primeiro e ocupa a parte central do abdômen. Quando o segmento do intestino grosso se internaliza, sofre mais uma rotação de 180° no sentido anti-horário, situando o ceco à direita na cavidade abdominal, em posição subepática. O ceco cresce para baixo, enquanto o cólon se alonga e resulta no cólon ascendente. O intestino delgado, que antes era uma linha contínua com o intestino grosso, agora desemboca nele quase em ângulo reto. Um divertículo do ceco, o apêndice cecal, é formado. Parte do cólon transverso diferencia-se do intestino médio, e o

restante, do intestino posterior, que também origina o cólon descendente e o sigmoide.

O crescimento em extensão do intestino delgado resulta em grande parte do efeito do FGF-9 produzido pelo epitélio, que estimula a proliferação dos fibroblastos no tecido conjuntivo. O desenvolvimento do ceco depende da interação entre FGF-9 do epitélio e FGF-10 do mesoderma subjacente.

A porção terminal do intestino posterior, a cloaca, é inicialmente comum aos sistemas urinário e digestório. Um septo de tecido conjuntivo, o septo uroretal, separa a cloaca em duas regiões: o seio urogenital (ventralmente) e o canal anorrectal, ou seja, o reto e 2/3 superiores do canal anal (dorsalmente). Ao alcançar a membrana cloacal, o septo uroretal divide-a em membrana urogenital e membrana anal. A área de fusão do septo uroretal com a membrana cloacal constitui o tendão do períneo (ou corpo perineal).

As membranas bucofaríngea e cloacal consistem somente de ectoderma e endoderma. A ausência de vascularização, por não haver mesoderma interponto, leva à degeneração dessas membranas e, por conseguinte, à comunicação do tubo digestório com o exterior. A membrana bucofaríngea rompe-se na quarta semana, e a membrana cloacal, na oitava semana. Com a ruptura da membrana cloacal, é adicionado ao líquido amniótico o *mecônio*, um material esverdeado, composto de células descamadas da pele e do intestino, de bile e de substâncias engolidas junto com o fluido amniótico.

Ânus imperfurado ocorre em 1/4.000 a 5.000 nascimentos. O orifício anal pode ser ausente devido a não perfuração da membrana cloacal pela invasão de mesoderma e, em consequência, pela presença de vascularização. Pode ainda resultar de um desenvolvimento anormal do septo uroretal que ocasionaria a separação incorreta da cloaca em suas regiões urogenital e anorrectal.

Sistema urinário:

O mesoderma intermediário origina acúmulos segmentados, que se canalizam, formando os *túbulos nefrogênicos* (Figura 5.23). À medida que se estabelecem os túbulos mais caudais, os mais craniais vão degenerando. Surgem três sistemas renais sucessivos, com sobreposição cronológica: o *pronefro* (no início da quarta semana), o *mesonefro* (no fim da quarta semana) e o *metanefro* (na quinta semana).

A organização desses três sistemas renais é um exemplo de recapitulação evolutiva. O pronefro é o rim das larvas de anfíbios, dos peixes ciclóstomos e de alguns teleósteos. O mesonefro é o rim dos anfíbios e da maioria dos peixes. Ele também é funcional durante a maior parte do desenvolvimento embrionário nas aves e nos répteis. O metanefro é o rim definitivo dos répteis, das aves e dos mamíferos.

O pronefro está situado na região cervical e é constituído por alguns aglomerados celulares e túbulos, que confluem em um par de ductos. Estes correm longitudinalmente no embrião, em direção à cloaca (Figura 5.48). O pronefro logo degenera, mas a maior parte dos ductos é utilizada pelo mesonefro.

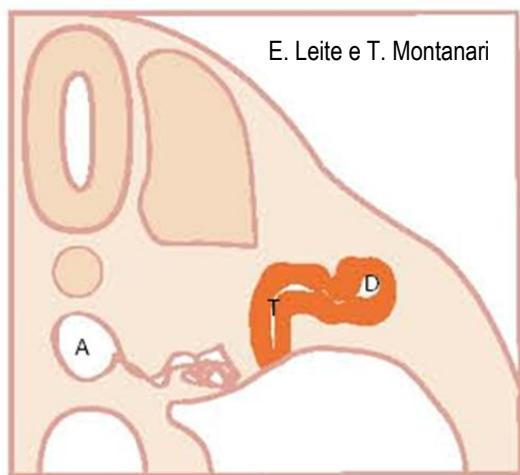


Figura 5.48 - Representação do pronefro: da aorta dorsal (A) projeta-se um ramo vascular, onde o sangue é filtrado. Esse filtrado vai para o celoma e daí para o túbulo proneférico (T) e para o ducto proneférico (D), o qual corre longitudinalmente no embrião e desemboca na cloaca.

Ácido retinoico promove a expressão de Hox 4-11 no mesoderma intermediário, o qual responde com a síntese dos fatores de transcrição Pax-2 e Pax-8. Estes induzem a expressão de Lim-1 (Lhx-1), responsável pela agregação das células mesenquimais dos ductos pronéfricos.

O mesonefro está localizado em posição posterior ao pronefro, nas regiões torácica e lombar. Ele é composto de túbulos segmentados, os túbulos mesonéfricos, que se abrem no par de ductos mesonéfricos, originalmente ductos pronéfricos.

A conversão das células mesenquimais nos túbulos mesonéfricos depende da expressão de Pax-2 e de WT-1 (*Wilms tumor suppressor*).

Os túbulos mesonéfricos diferenciam-se em unidades excretoras que correspondem a uma versão primitiva do néfron. A extremidade proximal expande-se na cápsula de Bowman e circunda o glomérulo, um enovelamento de capilares da ramificação da aorta dorsal. O conjunto da cápsula de Bowman e do glomérulo é o corpúsculo renal. O filtrado sanguíneo proveniente do corpúsculo renal segue pelo túbulo mesonéfrico, que está bastante contorcido. Durante esse trajeto, íons e outras substâncias são absorvidos para a rede capilar em torno dos túbulos. O restante do filtrado sai pela outra extremidade dos túbulos mesonéfricos para os ductos mesonéfricos (ou ductos de Wolff). Esses ductos desembocam na cloaca (Figura 5.49).

O mesonefro não forma um sistema elaborado para concentração da urina, porque o embrião está em um ambiente aquático, assim como os peixes e anfíbios, onde esse tipo de rim é presente. Portanto, há pouca necessidade de conservar água.

O mesonefro funciona até a 10^a semana, tempo suficiente para o desenvolvimento dos rins definitivos. Os ductos mesonéfricos e alguns túbulos mesonéfricos caudais persistem nos indivíduos do sexo masculino e contribuirão para a formação de ductos genitais.

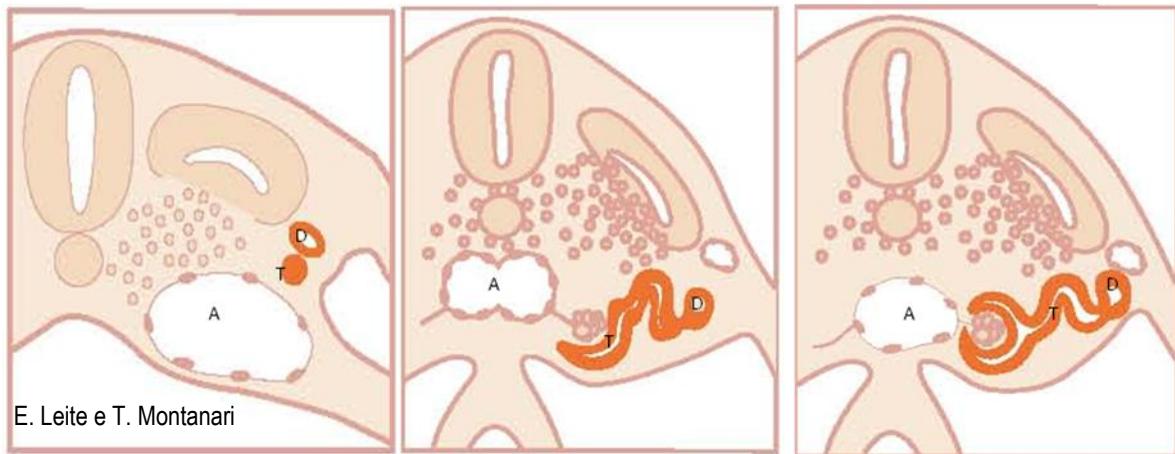


Figura 5.49 - Esquema da formação do mesonefro: a aorta dorsal (A) ramifica-se e origina o glomérulo; os túbulos mesonéfricos (T) alongam-se, a extremidade proximal envolve o glomérulo, formando a cápsula de Bowman, e a extremidade distal desemboca no ducto mesonéfrico (D), que se abre para a cloaca. Baseado em Carlson, 1988 apud Browder et al., 1991. p.302.

Há uma indução recíproca entre o blastema metanéfrico e o broto uretérico. O fator de transcrição WT-1 é expresso no blastema e controla a síntese do fator neurotrófico derivado da glia (GDNF de *glial cell line-derived neurotrophic factor*), o qual regula a indução e a ramificação do broto uretérico. O receptor para GDNF, c-Ret, um membro da superfamília de receptor tirosina quinase, é inicialmente expresso no ducto mesonéfrico e torna-se localizado no ápice do blastema metanéfrico. Em resposta ao sinal GDNF do mesenquima metanefrogênico, as extremidades epiteliais dos brotos uretéricos produzem FGF-2 e citocina LIF (de *leukemia inhibitory factors* – fatores inibidores de leucemia), que promovem a diferenciação das células mesenquimais nas células epiteliais do néfron. BMP-7, que é produzida na mesma área, evita a apoptose das células mesenquimais e as mantém em um estado de desenvolvimento lâbil. O mesenquima metanéfrico divide-se em uma região epitelial tubular, em que as células expressam Wnt-4 e Pax-2, e no estroma, onde as células mesenquimais expressam BF-2. Esses fatores de transcrição contribuem para a formação dos túbulos renais.

Quando o tubulo assume uma forma de S, são vistos padrões diferentes de expressão gênica ao longo da sua extensão. Na extremidade perto do glomérulo, os níveis de expressão Pax-2 diminuem, enquanto NT-1 torna-se fortemente expressa. A expressão de Lim-1 e o sistema Delta/Notch são importantes para formação do tubulo

contorcido proximal. Nesse tubulo, k-caderina é o marcador celular, enquanto, no futuro tubulo contorcido distal, Wnt-4 e E-caderina permanecem proeminentes.

GDNF liga-se a c-Ret e ao co-receptor Gfra-1, localizados na membrana plasmática das células epiteliais do broto uretérico. A expressão de Wnt-9b nas extremidades dos brotos uretéricos é importante para a ramificação. A localização posterior do broto uretérico resulta de uma combinação de repressão da expressão de GDNF nas regiões mais anteriores pela ação de Slit-2/Robo-2 no mesenquima e de sprouty, que reduz a sensibilidade do ducto mesonéfrico anterior à ação de GDNF. BMP produzido no mesoderma inibe o crescimento do broto uretérico, mas, no blastema metanefrogênico, gremlin inibe a ação de BMP.

A ausência de ligação entre a parte tubular do néfron e o sistema de ductos coletores é proposta como causa da *doença policística renal congênita*, onde há a presença de centenas de cistos nos rins. Sua incidência é de 1 em 800 nascimentos. A forma mais comum é uma condição autossômica dominante, resultante de mutações dos genes *PKD1* e *PKD2*, que produz as proteínas policistina-1 e policistina-2. Elas são receptores da membrana celular envolvidos em vários processos, como proliferação, polaridade e diferenciação.

A divisão do broto uretérico resulta em *ureter bífido*,

e o desenvolvimento de dois brotos uretéricos de um mesmo lado induzirá a formação de um rim a mais, ou seja, de um *rim supranumerário*.

A falta do broto uretérico faz com que o blastema metanéfrico não sofra indução para a formação do rim. Enquanto a ausência de um dos rins não causa sintomas pela compensação funcional do outro, o não estabelecimento dos dois rins é incompatível com a vida pós-natal. A *agenesia renal unilateral* ocorre em 1/1.000 nascimentos, e a *agenesia renal bilateral*, em 1/3.000 nascimentos.

Os bebês com agenesia renal bilateral, devido à pressão mecânica do útero por causa da baixa quantidade de líquido amniótico, exibem a *síndrome de Potter*, caracterizada por: face com nariz achatado, hipertelorismo, pregas epicânticas, orelhas em posição baixa, queixo recuado, dedos espessos com pontas afiladas, hipoplasia pulmonar e deslocamento do quadril.

O metanefro é constituído por duas porções distintas: o *broto uretérico* (ou *divertículo metanéfrico*) e o *blastema metanéfrico*. O broto uretérico é um divertículo do ducto mesonéfrico, próximo da abertura na cloaca. Derivarão o ureter, a pelve renal, os cálices e os tubos coletores. O blastema metanéfrico é a massa de mesoderma intermediário ao redor da extremidade distal do broto uretérico, onde se diferenciam os néfrons.

À medida que os tubos coletores vão se ramificando, organizam-se ao lado aglomerados de células do blastema, que se transformam em pequenas vesículas e posteriormente em túbulos em forma de S. A extremidade proximal desses túbulos envolve o glomérulo, ramificação da aorta, originando a cápsula de Bowman, enquanto a extremidade distal conflui no tubo coletor. A partir desse primórdio, diferencia-se o néfron, constituído por: corpúsculo renal, túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo distal.

Os rins, que inicialmente se estabeleceram na região pélvica, localizar-se-ão no abdômen com o crescimento da parte caudal do embrião em direção oposta e com o alongamento do ureter. Novos ramos da aorta passam a nutrir os rins, e os ramos inferiores regridem. Os rins também rotam 90° durante a subida, sendo que a pelve renal muda de uma posição anterior

para uma medial. Os rins atingem sua posição adulta em torno da nona semana, quando também inicia a filtração glomerular.

Podem ocorrer erros no deslocamento dos rins, como, por exemplo, um dos rins pode cruzar a linha média e fundir-se com o outro rim (*ectopia renal cruzada*); o rim pode permanecer na região pélvica (*rim pélvico*), ou os rins não migram para fora da cavidade pélvica, porque ficam presos na raiz da artéria mesentérica inferior e, com a proximidade dos seus polos inferiores, fundem-se, formando o *rim em ferradura* (incidência de 1/400 indivíduos).

Os rins pélvicos estão sujeitos à infecção e a obstruções dos ureteres.

O *seio urogenital*, resultante da divisão da cloaca entre a quarta e a sétima semana, formará a bexiga e a uretra. Portanto, o epitélio desses órgãos é de origem endodérmica, com exceção do epitélio da parte terminal da uretra masculina que é derivado do ectoderma superficial. O tecido conjuntivo e o tecido muscular são provenientes do mesoderma lateral esplâncnico adjacente.

Inicialmente a bexiga é contínua com o alantoide, mas ele se torna um cordão fibroso, o úraco, que prende o ápice da bexiga ao umbigo e será o ligamento umbilical mediano.

Sistema reprodutor:

As *células germinativas primordiais* (ou *gonócitos*) originam-se de células na região posterior do epiblasto. Elas passam pela linha primitiva e formam um agrupamento no mesoderma extraembrionário, junto ao alantoide. Na quarta semana, são encontradas no endoderma caudal do saco vitelino. Migram pelo endoderma do intestino posterior e pelo mesentério dorsal até as gônadas em formação (cristas gonadais) no mesoderma intermediário, onde são observadas na quinta semana.

As células precursoras são especificadas em células germinativas primordiais por BMP-2, BMP-4 e BMP-8b, secretadas pelo ectoderma extraembrionário vizinho. Os gonócitos mantêm a pluripotência pela expressão de Sox, nanog e oct-4. O repressor Blimp-1 evita que as células entrem em um programa transcricional que as tornaria somáticas. Durante a migração, os gonócitos não sofrem apoptose pela ação de Nanos-3 e proliferam em resposta aos fatores mitogênicos LIF (*leukemia inhibitory factor*), o fator da célula-tronco (SCF de *stem cell factor*) e *Steel factor* (kit-ligante). Fatores quimiotáticos secretados pelas cristas gonadais atraem as células germinativas primordiais. Ao entrar nas cristas gonadais, progredem para um estágio competente para meiose sob a influência de Dazl (*Deleted in azoospermia-like*).

Ambientes diferentes das gônadas fazem com que os gonócitos entrem na meiose no sexo feminino, mas não no sexo masculino. No sexo feminino, ácido retinoico, proveniente dos túbulos mesonéfricos, é encontrado na gônada e, através de Stra-8, que é necessário para a duplicação do DNA na interfase, estimula os gonócitos a iniciar a meiose. Na gônada do sexo masculino, a ação da enzima Cyp26b1 do citocromo P450 cataboliza o ácido retinoico em metabólitos inativos, evitando que sofram esse tipo de divisão. Há ainda a atividade antimeiótica de Nanos-2 nas células germinativas. Assim, os gonócitos, na gônada masculina, dividem-se lentamente por mitose durante o fim do período embrionário, no período fetal e depois do nascimento. A gônada feminina suprime a formação dos fatores inibitórios Cyp26b1 e Nanos-2.

Na quinta semana de desenvolvimento, as cristas gonadais são reconhecidas como dois espessamentos longitudinais do *mesoderma intermediário*, entre o mesonefro e o mesentério dorsal. Elas são constituídas pelo epitélio celomático, derivado do mesoderma em contato com o celoma, e pela crista mesonéfrica, que corresponde ao restante do mesoderma. O epitélio celomático originará os cordões sexuais, os quais crescem para o mesenquima subjacente da crista mesonéfrica. A gônada indiferenciada, nesse momento, consiste em um córtex e em uma medula.

Para o desenvolvimento das gônadas, é necessária a expressão dos genes *WT1* e de *Lim1* e de *SF-1*

(*steroidogenic factor-1*).

No sexo masculino, em um grupo de células somáticas da gônada em desenvolvimento, há a expressão do fator determinante testicular pelo gene *SRY* (*sex determining region of the Y chromosome*), localizado no braço curto do cromossomo Y. Esse fator promove a diferenciação das células dos cordões sexuais primários em células de Sertoli.

A diferenciação do testículo depende de um sinal do mesonefro, possivelmente *WT-1*, e da expressão do gene *Sry*. Esse gene ativa a síntese de *Sox-9*, que estabelece os cordões sexuais primários e inicia a diferenciação das células de Sertoli. *Sox-9* estimula a ação de *FGF-9*, que reforça a atividade de *Sox-9*.

Na sexta semana, os gonócitos entram nos cordões sexuais primários e, pela oitava semana, as células de Sertoli diferenciam-se neles. Essas células induzem a migração de células mesenquimais dos mesonefros para entre os cordões, onde se transformam em células endoteliais; estimulam a diferenciação das células de Leydig a partir das células mesenquimais, e produzem *AMH* (hormônio antimülleriano), uma glicoproteína da família do *TGF-β*, que promove a regressão dos primórdios dos ductos genitais femininos. Os cordões sexuais primários são envolvidos por uma fina camada de células mioídes de origem local.

Desert hedgehog e *PDGF* (*platelet-derived growth factor*) são os sinais das células de Sertoli que estimulam a diferenciação das células de Leydig.

As porções externas dos cordões sexuais formam os cordões seminíferos, com as células de Sertoli e os gonócitos. Nos anos pré-puberdade, os gonócitos diferenciar-se-ão nas espermatogônias e, na adolescência, com a espermatogênese, os cordões seminíferos serão os túbulos seminíferos. As porções internas dos cordões sexuais constituem os túbulos

retos e a rede testicular, a qual se conecta aos díctulos eferentes, derivados dos túbulos mesonéfricos.

As células de Leydig devem surgir de precursores na própria crista gonadal, provenientes dos mesonefros e são reconhecidas na oitava semana. Da nona à 14^a semana, sob influência da hCG, que é semelhante ao LH, secretam andrógenos (testosterona e androstenediona), contribuindo para a diferenciação dos ductos genitais masculinos e a da genitália externa. Gradualmente degeneram após a 17^a semana. Na puberdade, com a secreção de LH pela hipófise, células mesenquimais presentes no tecido intersticial diferenciar-se-ão nas células de Leydig, e será retomada a síntese de testosterona.

No sexo feminino (sem SRY), os cordões sexuais primários, situados na medula, degeneram, e uma nova migração de células do epitélio celomático para o mesênquima do córtex origina os cordões sexuais secundários. Os gonócitos são incorporados neles e diferenciam-se em oogônias. Essas células proliferam através de mitoses e sofrem interfase, resultando nos oócitos primários, que são circundados pelas células foliculares, originadas do epitélio celomático. A fragmentação dos cordões sexuais produz os folículos primordiais. O tecido conjuntivo e os vasos sanguíneos da zona medular são derivados do mesonefro. Os ovários estão formados da 13^a à 17^a semana.

Wnt-4 e Rspo-1 devem reprimir a expressão de FGF-9, causando uma redução de Sox-9, o que inibe o desenvolvimento do testículo e leva à formação do ovário.

Em situações raras, pode haver tecido testicular e tecido ovariano na mesma gônada ou a presença de um testículo e de um ovário (geralmente não funcionais). A maioria dos *hermafroditas verdadeiros* é 46, XX, com genitália externa feminina, embora o clitóris seja hipertrofiado.

Nos embriões com seis semanas, de ambos os sexos, há dois pares de ductos no mesoderma

intermediário: os ductos mesonéfricos, comuns ao sistema urinário, e os ductos paramesonéfricos, laterais aos ductos mesonéfricos, provenientes da invaginação do epitélio celomático.

As extremidades craniais dos ductos parmesonéfricos abrem-se no celoma, futura cavidade peritoneal. Os ductos parmesonéfricos correm paralelamente aos ductos mesonéfricos, mas os segmentos caudais fundem-se, de modo que os ductos parmesonéfricos exibem uma configuração em Y. A parte fusionada é o primódio uterovaginal, o qual se projeta na parede dorsal do seio urogenital, entre as extremidades dos ductos mesonéfricos.

Os ductos parmesonéfricos surgem sob a influência de Wnt-4 produzido pelos mesonefros, e seu crescimento caudal depende da sinalização Wnt-9b dos ductos mesonéfricos. Os ductos parmesonéfricos não desenvolvem uma luz verdadeira até terem contato com o seio urogenital.

O hormônio antimülleriano (AMH), produzido pelas células de Sertoli, inibe o crescimento dos ductos parmesonéfricos (antigamente denominados ductos de Müller), responsáveis pelo trato reprodutor feminino. Sob a influência da testosterona secretada pelas células de Leydig, os *ductos mesonéfricos* (ou ductos de Wolff) progridem e originam os epidídimos, os ductos deferentes e as vesículas seminais.

Os canais eferentes são provenientes dos túbulos mesonéfricos remanescentes. O epitélio glandular da próstata e das glândulas bulbouretrais surge de proliferações endodérmicas do seio urogenital. O mesoderma associado diferencia-se no estroma e no músculo liso.

O AMH interage com um receptor serina-treonina quinase ligado à membrana das células mesenquimais ao redor dos ductos parmesonéfricos. Essas células passam a informação para as células epiteliais dos ductos sofrerem apoptose ou se transformarem em mesenquima.

Genes *Hox* desempenham um papel na especificação de várias regiões do trato reprodutor masculino. Hoxa-10

é expresso ao longo do ducto mesonéfrico, na posição da futura cauda do epidídimos à inserção do ducto deferente na uretra. Hoxa-13 e Hoxd-13 determinam que o órgão a ser formado no local é a próstata.

A formação das glândulas sexuais acessórias depende da interação epitélio-mesênquima e da estimulação androgênica. As células mesenquimais têm receptores para os andrógenos e são o alvo primário dos hormônios, já que, neste período, as células epiteliais não contêm receptores para eles. Depois do estímulo pelos andrógenos, as células mesenquimais atuam sobre o epitélio através de efeitos parácrinos de fatores de crescimento.

No embrião, os tecidos ao redor do seio urogenital sintetizam 5 α -redutase que converte testosterona a diidrotestosterona. Este andrógeno, atuando através dos receptores nas células mesenquimais, e a secreção resultante de FGF-10 e TGF- β 1 pelo mesênquima, regula a produção de shh no epitélio do seio urogenital. Em resposta à sinalização shh e ao ácido retinoico, há uma ramificação do epitélio nos ductos prostáticos. A extensão do brotamento é regulada pela ação inibitória de BMP-4, que é fortemente expressa lateralmente à área onde os ductos se ramificam. O epitélio prostático em desenvolvimento também induz o mesênquima ao redor a se diferenciar nas células musculares lisas.

Podem restar resquícios dos ductos paramesonéfricos nas posições cranial e caudal: outrículo prostático e o apêndice do testículo, respectivamente. As porções degeneradas dos túbulos mesonéfricos que persistem próximo ao testículo são chamadas *paradidymis*.

No feto feminino, os ductos mesonéfricos desaparecerão devido à falta de testosterona, e os *ductos paramesonéfricos* originarão as tubas uterinas, o útero e o terço superior da vagina, sendo que as porções craneais, cujas extremidades se abrem no celoma, dão as tubas uterinas, e as porções caudais, que se fundem no primódio uterovaginal, derivam o útero e parte da vagina.

Os 2/3 restantes da vagina diferenciam-se do seio urogenital. Portanto, o epitélio vaginal é de origem endodérmica. O hímen é constituído de duas lâminas

de epitélio (uma oriunda do primódio uterovaginal e outra do seio urogenital) com tecido conjuntivo, derivado do mesoderma, interposto.

O desenvolvimento completo do trato reprodutor feminino depende dos hormônios estrogênicos secretados pelos ovários do feto.

Wnt-7a é expresso no epitélio dos ductos paramesonéfricos e parece estar envolvido em manter a expressão de uma sequência de genes *Hox*: *Hoxa-9* nas tubas uterinas; *Hoxa-10* no útero; *Hoxa-11* no útero e na cérvix, e *Hoxa-12* na parte superior da vagina. A expressão do gene *Hox* continua pela vida adulta (pelo menos, em camundongo).

Uma pequena parte da extremidade cranial dos ductos paramesonéfricos pode persistir na extremidade fimbriada da tuba uterina como hidátide de Morgagni. Remanescentes dos ductos mesonéfricos podem persistir como *epoöphoron* e *paraoöphoron*, vizinhos aos ovários, ou como ductos de Gartner, ao longo do útero ou da vagina superior. Porções desses ductos podem formar cistos.

As genitálias externas masculina e feminina são indiferenciadas até o terceiro mês, consistindo de tubérculo genital, pregas urogenitais e pregas labioescrotais. Essas estruturas se desenvolvem do mesênquima (recoberto pelo ectoderma) ao redor da membrana cloacal, sendo que as pregas labioescrotais e as pregas urogenitais estão dispostas nas laterais e o tubérculo genital se encontra ventralmente, fruto da fusão parcial das pregas urogenitais. Os andrógenos produzidos pelo feto do sexo masculino são importantes para a virilização da genitália externa.

O tubérculo genital origina a glande do pênis ou o clitóris; as pregas urogenitais fusionam-se no corpo do pênis ou continuam separadas e dão os pequenos lábios, e as pregas labioescrotais fusionam-se na linha média, formando a bolsa escrotal ou continuam separadas, resultando nos grandes lábios (Quadro 5.4, Figuras 5.50 e 5.51).

Quadro 5.4 - Derivados da genitália indiferenciada:

	sexo masculino	sexo feminino
tubérculo genital	glande do pênis	clitóris
pregas urogenitais	corpo do pênis	pequenos lábios
pregas labioescrotais	bolsas escrotais	grandes lábios



Figura 5.50 - Fotografia da genitália de feto com três meses, onde ocorreu a fusão das pregas labioescrotais.



Figura 5.51 - Sonograma de feto com 17 semanas, mostrando genitália masculina. Cortesia de Denise Schiel Santiago.

O tubérculo genital expressa elementos 5' ao longo dos grupos de genes *Hox*, especificamente *Hoxa-13* e *Hoxd-13*. Shh, expresso no endoderma do seio urogenital, é a principal molécula que atua no mesênquima e no ectoderma para provocar o crescimento do tubérculo genital. Muitos membros das famílias Wnt e FGF são ativos no tubérculo genital.

No sexo masculino, sob a influência da diidrotestosterona, o tubérculo genital se alonga e as pregas labioescrotais aumentam. Há um dobramento ventral na direção proximodistal quando as pregas urogenitais se fecham na posição média, resultando uma linha de junção epitelial, que sofrerá canalização secundária e se destacará do epitélio da superfície ventral para formar a uretra. BMP-7, Eph-efrina e FGF estão envolvidos no fechamento ventral da uretra. A uretra é formada pelo revestimento endodérmico do seio urogenital. A linha de fusão das pregas urogenitais é marcada pela persistência de uma rafe ventral, que é contínua com a rafe escrotal. O crescimento do falo é dependente de testosterona.

O não crescimento do clitóris depende da influência inibitória de receptores de estrógeno. Em camundongos, se os receptores de estrógeno são inativados, o clitóris sofre alongamento, e masculinização parcial da genitália ocorre. Isso pode ser causado pela influência dos níveis basais de andrógenos, que, no desenvolvimento normal, são reprimidos pelos estrógenos.

No sexo feminino, o seio urogenital permanece aberto como vestíbulo, onde a uretra e a vagina se abrem. No sexo masculino, a maior parte do seio urogenital é revestida pela placa uretral endodérmica. Quando a membrana cloacal rompe-se na oitava semana, o seio urogenital abre-se diretamente para o lado externo entre as pregas urogenitais. A uretra feminina desenvolve-se da parte mais cranial do seio urogenital, que equivale à origem da uretra prostática.

Devido à exposição a estrógenos *in utero*, o meato uretral pode estar localizado em posição incorreta: na *hipospadia*, encontra-se na superfície ventral do pênis e, na *epispadia*, na superfície dorsal. O segundo caso é muito raro.

Em camundongos, a ausência da expressão local de *Hoxa-13*, distúrbios no sistema Eph-efrina ou ausência na sinalização KGF ou BMP resultam na hipospadia.

Pseudo-hermafroditismo feminino: a constituição cromossômica é 46, XX, porém, devido à produção excessiva de andrógenos pela adrenal do feto ou da mãe ou a tratamento com andrógenos ou progestágenos, a genitália é masculinizada, podendo exibir desde um aumento clitoriano até a fusão parcial ou total dos grandes lábios.

Pseudo-hermafroditismo masculino: esses indivíduos são 46, XY, mas, por causa de uma produção inadequada de hormônios pelos testículos fetais, apresentam hipoplasia do falo e uma estrutura semelhante a um útero, derivado doutrículo prostático, remanescente dos ductos paramesonéfricos.

Síndrome da insensibilidade androgênica (ou *síndrome da feminização testicular*): apesar do cariótipo 46, XY e da presença de testículos intra-abdominais, o fenótipo é feminino, com o desenvolvimento de genitália externa feminina, mamas e características sexuais secundárias, devido a mutações na sequência que codifica o receptor para andrógenos. A menstruação não ocorre, porque o útero é ausente ou rudimentar.

A identificação do sexo do bebê através da ultrassonografia é realizada com mais segurança a partir do quinto mês, porque o clitóris, originário do tubérculo genital, é ainda relativamente grande no feto com 18 semanas, o que pode levar à interpretação incorreta de uma genitália feminina como sendo masculina.

No terceiro mês, há a descida dos testículos da cavidade abdominal para a região inguinal. Os testículos estavam ancorados pelo ligamento suspensor cranial, derivado do ligamento diafragmático do mesonefro, e pelo ligamento inguinal (caudal) do mesonefro. Sob a ação de andrógenos, que atuam nos receptores no ligamento suspensor cranial, esse ligamento degenera, liberando os testículos de sua localização próxima ao diafragma. Pela atividade de *Insl-3*, produzido pelas células de Leydig, os testículos passam a se situar na região inguinal, mantidos pelo gubernáculo, um cordão mesenquimatoso do ligamento inguinal do mesonefro, que liga a gônada à superfície interna das pregas labioescrotais. Nessa época, devido ao aumento da pressão intra-abdominal em consequência do rápido

desenvolvimento dos órgãos e do fechamento do cordão umbilical, há uma herniação do peritônio ao longo de cada gubernáculo para o interior da bolsa escrotal. Essa evaginação é o processo vaginal, e seu alargamento forma o canal inguinal.

Entre o sétimo mês e o nascimento, há a perda de proteoglicanas da matriz extracelular do gubernáculo, diminuindo sua extensão, o que contribui para o movimento dos testículos pelos canais inguinais para a bolsa escrotal. Esse processo depende de andrógenos. O gubernáculo é reduzido a um pequeno ligamento fibroso. Logo após a migração, a porção cranial do processo vaginal é destruída, e o canal inguinal é fechado. A porção caudal será a túnica vaginal, uma camada dupla de mesotélio que circunda o testículo.

A insuficiência de andrógenos e o não encurtamento do gubernáculo podem levar à retenção de um ou dos dois testículos na cavidade abdominal, o que é denominado *criptorquidismo*. Se os testículos não descerem para a bolsa escrotal até o primeiro ano de vida, deve ser realizada a correção cirúrgica. Assim, evita-se o dano morfológico da gônada e o risco de malignização, que é 50 vezes maior.

Normalmente o canal inguinal é fechado após a entrada dos testículos no saco escrotal. Se esse fechamento não ocorrer, alças intestinais podem descer para a bolsa escrotal, resultando em uma *hérnia inguinal*.

Sistemas muscular e esquelético:

A segmentação craniocaudal do *mesoderma paraxial* resulta nos *somitos* (Figuras 5.18, 5.19 e 5.32). No somito recém-formado, surge uma cavidade central que é ocupada por uma população de células dispostas frouxamente. Essas células e outras da parede ventromedial do somito constituem o *esclerotomo* e migram em torno da notocorda e do tubo neural para formar a *coluna vertebral* (Figuras 5.23, 5.52 e 5.53).

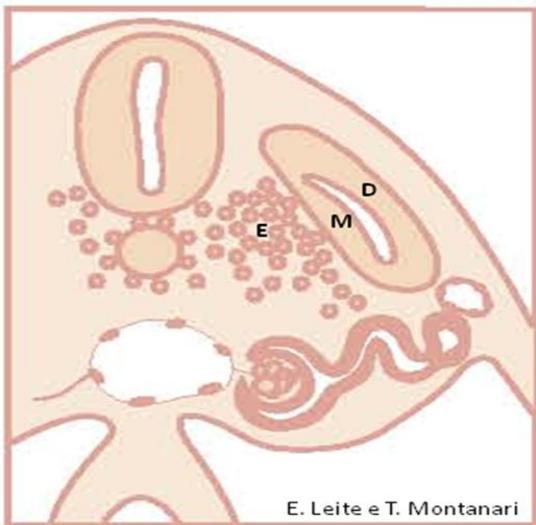


Figura 5.52 - Esquema da diferenciação do somito em esclerótomo (E), dermátomo (D) e miótomo (M) e da migração das células do esclerótomo em torno da notocorda.

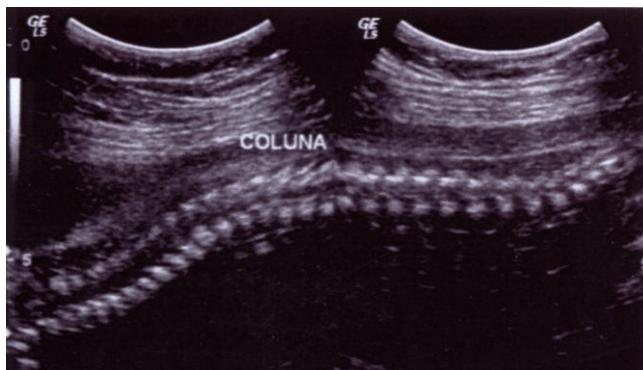


Figura 5.53 - Nessa ecografia de feto com seis meses, nota-se a segmentação da coluna vertebral em virtude da sua origem a partir dos somitos. Cortesia de Micheli da Silva R. Ornaghi.

As células da porção ventral do esclerótomo, estimuladas por substâncias da notocorda, formam o corpo da vértebra, enquanto a porção dorsal do esclerótomo, sob a indução do tubo neural, origina o arco vertebral.

Cada vértebra é constituída da metade caudal do somito anterior e da metade cranial do somito

seguinte. A metade cranial do primeiro esclerótomo融合a-se com o osso occipital do crânio. A metade caudal do primeiro esclerótomo e a metade cranial do segundo esclerótomo compõem a primeira vértebra cervical e assim segue. A metade caudal do oitavo esclerótomo será parte da primeira vértebra torácica.

O espaço entre duas vértebras é preenchido por células que se originam da porção cranial do corpo vertebral e formarão o anel fibroso e pela notocorda, que derivará o núcleo pulposo. O anel fibroso e o núcleo pulposo constituem os discos intervertebrais.

As vértebras, inicialmente de tecido mesenquimal, sofrem condrificação na sexta semana e ossificação da sétima semana de desenvolvimento até por volta dos 25 anos de vida.

A organização da coluna vertebral e da musculatura e dos nervos associados persiste como uma recordação do passado ontogenético e filogenético segmentado do ser humano. Mecanismos moleculares semelhantes estão na base do desenvolvimento embrionário inicial dos animais e envolvem genes homeóticos. A expressão de genes *Hox* começa quando aparece o mesoderma pré-somítico e prossegue até a formação da cartilagem das primeiras vértebras. Uma combinação específica desses genes determina os diferentes tipos de vértebras ao longo do eixo cefalocaudal.

Moléculas sinalizadoras, como membros da superfamília do TGF- β , as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP-5 e BMP-7) e o fator de crescimento GDF-5 regulam o desenvolvimento do sistema esquelético.

O desenvolvimento individual da vértebra inicia com a diferenciação do esclerótomo no somito pela indução do shh liberado da notocorda. Sob estímulo contínuo de shh, que influencia a expressão de Pax-1, a porção ventromedial do esclerótomo forma o corpo da vértebra. A indução pelo teto do tubo neural, que resulta na expressão de Pax-9 e dos genes contendo homeobox *Msx-1* e *Msx-2*, guia as células da região dorsal do esclerótomo a formarem a parte dorsal da vértebra, ou seja, o arco vertebral.

Há casos em que o tubo neural se fecha, mas não há formação normal da coluna vertebral.

Quando poucas vértebras são afetadas e a medula espinhal e as meninges permanecem no lugar, tem-se a *espinha bífida oculta*. O local nas costas apresenta uma pequena depressão com um tufo de pelos (Figura 5.54). O surgimento dos pelos pode resultar da exposição da pele a influências indutivas do tubo neural, que normalmente seriam bloqueadas pelo arco vertebral. Esse defeito ocorre em 5% da população. Os indivíduos são geralmente assintomáticos, mas uma pequena porcentagem exibe defeitos funcionais da medula espinhal e das raízes dorsais.

Se mais vértebras não se formarem corretamente, projeta-se do canal vertebral uma vesícula membranosa com a aracnoide, tendo-se a espinha bífida com meningocele, ou uma vesícula com essa meninge e a medula espinhal, resultando na espinha bífida com meningomielocele (Figuras 5.54 e 5.55). A dura-máter é ausente nesses locais. Por causa do deslocamento das raízes espinhais, a meningomielocele está associada a problemas graves, como infecção crônica, déficits motor e sensitivo e distúrbios da função da bexiga.



T. Montanari

Baseado em Larsen, 1993, p. 86 e 88.

Figura 5.54 - Representação dos defeitos do fechamento da coluna vertebral.



Figura 5.55 - Recém-nascido com meningomielocele (Fotografia pertencente ao acervo do Departamento de Ciências Morfológicas, UFRGS).

Além do esclerótomo, o somito apresenta o *dermomiótomo*, posicionado dorsalmente. Ele se separa em *dermátomo* (mais dorsal) e *miótomo* (mais ventral) (Figuras 5.23 e 5.52). O *dermátomo* origina a derme (o tecido conjuntivo) da pele do pescoço e do tronco, e o *miótomo*, a musculatura do tronco e dos membros.

O *miótomo* divide-se em *epímero* (dorsal) e *hipômero* (ventral). O *epímero* diferencia-se nos músculos extensores da coluna vertebral. Pela origem segmentada, cada músculo derivado de um *miótomo* faz conexão com duas vértebras vizinhas, o que facilita o movimento da coluna vertebral. O *hipômero* segmenta-se em três camadas musculares ventrolaterais, localizadas na região torácica e na

região abdominal. No tórax, são formados os músculos intercostais internos e externos e o músculo transverso. No abdômen, originam os músculos oblíquos externo e interno e o músculo transverso.

Há ainda a migração de células do hipômero para a parede ventral do corpo, que organizam uma coluna de musculatura longitudinal, a qual, na região cervical, forma o escaeno, o gênio-hióideo e a musculatura infra-hióidea; na região torácica, geralmente desaparece, mas pode formar o músculo esternal, e no abdômen, será o músculo reto abdominal.

No somito, Pax-3 e Myf-5 ativam Myo-D, fazendo com que certas células do dermomiotomo fiquem comprometidas com a linhagem miogênica. Com os níveis aumentados de Myo-D, as células mononucleadas saem do ciclo mitótico e começam a se fusionar em miotubos. Há a expressão de miogenina neste estágio e posteriormente, nos miotubos em maturação, de Myf-6. Quando o músculo alcança o tamanho normal, miostatina, membro da família TGF- β , interrompe o seu crescimento. A forma do músculo é determinada mais pela trama de tecido conjuntivo do que pelos mioblastos.

A especificação do hipômero é regulada pela sinalização Wnt e por BMP-4 do ectoderma e do mesoderma lateral. Os fatores de transcrição Six e Eya são ativados, levando à expressão dos genes *Pax3* e *Lbx1*. Este último evita a diferenciação prematura desses músculos.

Os nervos espinhais brotam do tubo neural no mesmo nível dos miótomas que inervam. Os nervos dividem-se em um ramo dorsal para o epímero e um ramo ventral para o hipômero. O primeiro nervo espinhal localiza-se entre a base do crânio e a primeira vértebra cervical. O oitavo nervo espinhal situa-se entre a sétima vértebra cervical e a primeira vértebra torácica.

Os tendões que se inserem nos músculos extensores da coluna vertebral (provenientes do epímero) são derivados do *syndetome* do somito, enquanto os tendões da musculatura do hipômero surgem do mesoderma lateral somático.

As *costelas* desenvolvem-se de zonas de condensação no mesênquima, laterais às vértebras torácicas. Devido ao rearranjo dos somitos ao formar as vértebras, a parte proximal da costela surge da região central do esclerótomo, enquanto a parte distal é derivada da porção lateral do somito cranial. Os processos costais tornam-se cartilaginosos e iniciam a ossificação na sexta semana. Na união entre o processo costal e a vértebra, estabelece-se a articulação sinovial.

Produtos do grupo *Hox-6* promovem a expressão dos fatores miogênicos Myf-5 e Myf-6 nos miótomas dos somitos ao nível torácico. Eles estimulam a liberação de PDGF e FGF, os quais promovem o crescimento da porção proximal da costela no esclerótomo. A formação da parte distal da costela requer BMP do mesoderma lateral somático.

A projeção de processos costais das vértebras cervicais ou lombares resulta em *costelas acessórias* (ou *supranumerárias*), que podem ser rudimentares ou bem desenvolvidas. Sua ocorrência deve-se à expressão errada de determinados genes *Hox*.

O *esterno* forma-se a partir de duas áreas de condensação do mesoderma lateral, posicionadas ventrolateralmente, entre as costelas. Elas se tornam barras cartilaginosas e vão se fundindo craniocaudalmente e com as extremidades ventrais das sete primeiras costelas. A ossificação começa no manúbrio e nas esternébras (corpo do esterno) durante a vida fetal, mas o centro de ossificação do processo xifoide aparece na infância.

As *clavículas* são os primeiros ossos a se estabelecerem. Elas surgem da crista neural e sofrem ossificação intramembranosa a partir da sétima semana. Mais tarde, surge cartilagem nas extremidades.

Assim como a coluna vertebral, a base do *crânio* (ossos esfenoide e etmoide, porções petrosa e mastoide dos temporais e a maior parte do occipital)

origina-se dos somitos e sofre ossificação endocondral.

Se não ocorre a ossificação no osso occipital, saem da caixa craniana uma parte do encéfalo e as meninges (*meningoencefalocele*) ou ainda parte do sistema ventricular (*meningoidroencefalocele*).

Os demais ossos do crânio (o maxilar, os ossos zigomáticos, a mandíbula, o anel timpânico, a parte interparietal do osso occipital, a parte escamosa dos ossos temporais, os ossos parietais e o osso frontal) formam-se por ossificação intramembranosa, o que tem início no terceiro mês.

Logo depois da indução para ossificação, as células mesenquimais produzem N-caderina, que promove a condensação das células. O TGF- β estimula a síntese de fibronectina e N-CAM, que mantêm a agregação celular. As células expressam BMP-2, BMP-4 e posteriormente BMP-3. Na ossificação intramembranosa, os fatores de transcrição Runx-2 e Osx (Osterix) controlam a diferenciação das células mesenquimais em osteoblastos. Na ossificação endocondral, Sox-9 faz com que os condroblastos secreteem matriz cartilaginosa, e Runx-2, *Indian hedgehog* e BMP-6, que os condrócitos sofram hipertrofia. Os condrócitos hipertrofiados expressam o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o qual estimula a invasão de vasos sanguíneos, que trazem os precursores dos osteoblastos. FGF-18, produzido pelo pericôndrio, inibe a maturação dos condrócitos da periferia do molde cartilaginoso.

Interações indutivas entre o encéfalo e o mesoderma suprajacente estimulam a ossificação intramembranosa da abóboda craniana. Por isso, a ausência da abóboda craniana (*acrania*) na anencefalia.

Ao nascimento, a ossificação intramembranosa do neurocrânio é ainda incompleta, tendo-se as fontanelas, de tecido conjuntivo denso, na intersecção dos ossos: a fontanela anterior, localizada entre as duas lâminas do osso frontal e os dois ossos parietais;

a fontanela posterior, na convergência dos ossos parietais e do occipital; as fontanelas anterolaterais (esfenoides), e as posterolaterais (mastoides). A fontanela posterior e as fontanelas anterolaterais fecham-se pelo terceiro mês; as posterolaterais, por volta do primeiro ano de vida, e a anterior, em torno dos dois anos de idade.

A ossificação do neurocrânio depende da influência indutiva do epitélio sobre o mesênquima. BMP estimula a formação do osso. A noguina, um antagonista da BMP, é expressa nas fontanelas. Sob a influência local de FGF-2, a noguina é suprimida nas suturas que se fundem, permitindo a formação do osso mediada pela BMP. Por outro lado, a ausência de FGF-2 permite que a noguina reprenda a BMP não ocorrendo a ossificação nas suturas que não se fecham.

A presença dessas seis fontanelas permite a deformação da abóboda craniana na passagem pela vagina, no parto, e sua ossificação e fusão das suturas tardivamente acomodam o crânio à expansão do encéfalo durante a infância.

Os somitômeros constituem a principal fonte da musculatura da cabeça e do pescoço.

Os *membros* começam a se desenvolver na quarta semana, sendo que os superiores iniciam a sua formação antes dos inferiores. Inicialmente os primórdios dos membros são brotos de *mesoderma lateral somático*, revestidos pelo *ectoderma* (Figura 5.23).

Sinais do mesoderma paraxial (provavelmente baseados no código *Hox* e dependentes da sinalização de ácido retinoico) iniciam a expressão de dois fatores de transcrição T-box no mesoderma lateral somático: Tbx-5 na área dos futuros membros anteriores e Tbx-4 (junto com Pitx-1) na área dos membros posteriores. Eles fazem com que as células mesodérmicas secreteem FGF-10, o qual, por sua vez, estimula o ectoderma suprajacente a produzir FGF-8. Uma alça de retroalimentação entre esses fatores de crescimento é estabelecida, e o membro começa a se desenvolver.

Ele se organiza segundo três eixos fixados na seguinte ordem: 1º) anteroposterior (do primeiro ao quinto dígito); 2º) dorsoventral (as costas das mãos e dos pés são dorsais, e as palmas e as plantas são ventrais), e 3º) proximodistal (da base do membro até a ponta dos dedos).

O eixo anteroposterior do membro resulta da expressão dos fatores de transcrição Gli-3 e Hand-2 na parte anterior e na parte posterior do broto, respectivamente.

O eixo dorsoventral é determinado pela expressão das moléculas sinalizadoras Wnt-7a e *radical fringe* no ectoderma dorsal do broto e do fator de transcrição *engrailed-1* (En-1) na face ventral. Wnt-7a, produzido pelo ectoderma dorsal, estimula o mesoderma subjacente a expressar o fator de transcrição Lmx-1b, conferindo o caráter dorsal também a esse folheto. En-1, expresso no ectoderma ventral, reprime a formação de Wnt-7a e consequentemente de Lmx-1b, tornando o mesoderma subjacente ventral. En-1 ainda evita a expressão de *radical fringe* no ectoderma ventral.

O desenvolvimento do membro no eixo proximodistal é promovido pela *crista ectodérmica apical*, um espessamento do ectoderma ao longo do ápice do broto. Ela surge e é mantida sob influência do mesoderma, de modo que esse folheto (e não o ectoderma) determina a forma do membro. A crista apical está posicionada na borda entre o ectoderma dorsal, que expressa *radical fringe*, e o ectoderma ventral, que expressa En-1. Não se estabelece na ausência da justaposição do ectoderma com propriedades dorsal e ventral, ou seja, quando o ectoderma expressa somente *radical fringe* e não expressa En-1 na parte ventral. A crista produz FGF-8 ao longo da sua extensão e FGF-4, FGF-9 e FGF-17 na sua metade posterior. Os FGFs promovem a proliferação das células mesenquimais e evitam a diferenciação das células mais distais, o que resulta no crescimento do membro. A ausência da crista apical leva à interrupção do desenvolvimento do membro, enquanto a presença de uma crista adicional forma um membro supranumerário.

Diferencia-se por primeiro o segmento proximal e posteriormente os mais distais do broto. As células na parte proximal sofrem a influência do ácido retinoico proveniente dos somitos, enquanto as células mesenquimais na extremidade distal são mantidas em proliferação pela ação de FGF e Wnts. Influenciadas pelo FGF-8 do ectoderma, as células do mesenquima distal expressam Msx-1, um marcador de células

indiferenciadas.

Os genes *Hox* estão envolvidos na padronização do eixo proximodistal: *Hoxd9* a *Hoxd13* são expressos em sequência da base para a extremidade do primórdio do membro.

As células mesenquimais agregam-se na margem posterior do broto, constituindo a *zona de atividade polarizadora*. A sua localização é determinada pela expressão de *Hoxb8* após a sinalização de ácido retinoico. O FGF ativa as células dessa região, que produzem shh, o qual controla o padrão do membro ao longo do eixo anteroposterior. As células expostas à concentração mais alta do morfógeno organizam-se nas estruturas posteriores, ao passo que aquelas submetidas à concentração mais baixa derivam estruturas anteriores. Assim, para se formar, o quinto dígito exige a exposição mais alta e mais demorada de shh, enquanto, o primeiro dígito (o polegar) não requer shh. A sequência de formação dos dígitos é do quinto ao primeiro.

A zona de atividade polarizadora ainda mantém a estrutura e a função da crista epidérmica apical. Na sua ausência ou de shh, a crista apical regride. O shh da zona de atividade polarizadora induz a expressão de *gremlin*, que bloqueia a ação de Gli-3 na parte posterior do broto. Então esse fator de transcrição, que inibe a expressão de shh, atua somente na parte anterior. Shh estimula a expressão dos genes *Hox*, e Gli-3 confina a expressão deles à parte posterior. *Gremlin* inibe ainda a BMP-2, um inibidor de FGF-4. Assim, a expressão desse fator de crescimento na parte posterior da crista apical é permitida. FGF-4, junto com Wnt-7a, estimula a secreção de shh.

À medida que o broto se alonga, a zona de atividade polarizadora torna-se mais distal e envolvida por células produtoras de shh, responsáveis pela formação dos dedos. Em dado momento, as células produtoras de *gremlin* afastam-se das células secretoras de shh da zona de atividade polarizadora, de modo a não receberem mais o estímulo de shh para a liberação de *gremlin*. Sem essa molécula sinalizadora, a secreção de FGF-4 pela crista apical é afetada e consequentemente do shh, interrompendo o crescimento do membro.

Na quinta semana, os primórdios têm forma de remo. Neles ocorrem condensações mesenquimais que derivam a cartilagem hialina. O ectoderma inibe a condrogênese, o que faz com que o esqueleto se

posicione centralmente. Na sexta semana, há a diferenciação do punho, do cotovelo e dos raios digitais, condensações mesenquimais que são primórdios dos dedos. Na extremidade de cada raio digital, parte da crista ectodérmica apical permanece e induz o desenvolvimento do mesênquima nos moldes cartilaginosos das falanges. Na sétima semana, inicia a ossificação endocondral. No início da oitava semana, os dedos das mãos são curtos e apresentam membrana interdigital, mas, no final dessa semana, os dedos estão separados devido à apoptose da membrana (Figuras 5.56 e 5.57).



Figura 5.56 - Embrião com oito semanas (54 a 55 dias, estágio Carnegie 22). Observar os membros superiores mais longos do que os inferiores, dobrados nos cotovelos e os dedos curtos.

BMP-2, BMP-4 e BMP-7 e os fatores de transcrição Msx-1 e Msx-2 são expressos nas membranas interdigitais. As BMPs, especialmente BMP-4 atuando junto com a mediação de Msx-2, iniciam a apoptose da membrana interdigital.

A formação de raios digitais extras é responsável pela *polidactilia*. O dedo supranumerário não é funcional, porque não tem a musculatura apropriada. Essa anomalia é herdada como um traço recessivo, e o defeito é inerente ao mesoderma e não ao ectoderma.

Se não ocorrer a morte das células da membrana interdigital, haverá a fusão de dedos: uma anomalia denominada *sindactilia*. É herdada como um traço dominante ou recessivo simples. Sua incidência é de cerca de 1/2.200 nascimentos.

O ectoderma deriva o epitélio da epiderme e seus anexos, como pelos ou penas, dependendo da espécie. Entre a sexta e a oitava semana, surgem na palma das mãos, na planta dos pés e na ponta dos dedos, os *coxins volares* (Figura 5.57).



Figura 5.57 - Feto com três meses. Os dedos das mãos e dos pés são compridos e sem membrana interdigital. Nas pontas dos dedos, há os coxins volares.

No coxim volar da ponta dos dedos, organizam-se as cristas epidérmicas, com forma de arcos ou

espirais. Essas figuras geram um padrão característico para cada indivíduo: as digitais. As cristas epidérmicas são reconhecidas na superfície da pele no fim do quinto mês de gestação.

À medida que os ossos longos se formam, os mioblastos, provenientes dos *somitos*, agregam-se em uma grande massa muscular. Esse músculo se separa em componentes dorsal (extensor) e ventral (flexor) e posteriormente nos músculos individuais. Os tendões dos membros diferenciam-se do mesoderma lateral somático.

Da sétima à nona semana, os membros superiores e inferiores sofrem rotação. Os membros superiores giram cerca de 90° lateralmente, e os membros inferiores, cerca de 90° medialmente. Assim, os cotovelos apontam para a região dorsal, e os músculos extensores localizam-se nas faces lateral e posterior dos membros superiores, enquanto os joelhos situam-se na face ventral, e os músculos extensores, na face anterior.

Os axônios motores que saem da medula espinhal penetram nos brotos dos membros na sexta semana e inervam as massas musculares dorsal e ventral. Os axônios sensitivos entram no broto do membro depois dos axônios motores e usam-nos como guia.

Células da crista neural que migraram para o primórdio do membro derivam as células de Schwann dos nervos e os melanócitos.

Os vasos sanguíneos dos membros organizam-se das células endoteliais de vários ramos segmentares da aorta e das veias cardinais e do próprio mesoderma lateral somático.

O uso de *talidomida* por mulheres grávidas para aliviar enjoos e náusea, nos anos 60, provocou uma elevada incidência de crianças com um ou mais membros ausentes (*amelia*) ou desenvolvidos parcialmente (*meromelia* ou *focomelia*), além de outros defeitos, como ausência das orelhas (*anotia*), problemas cardíacos, estenose duodenal e malformações do sistema urinário.

A *talidomida* é um inibidor do fator de necrose tumoral- α e prejudica o embrião entre a quarta e a sexta semana. O período de desenvolvimento em que a droga foi ingerida está relacionado com o dano provocado. O

bloqueio da formação dos membros no início da quarta semana leva à *amelia*, enquanto, se ocorrer na quinta semana, gera *meromelia*.

Na gênese da *meromelia*, há dano aos vasos sanguíneos localizados na parte proximal do broto do membro, que destrói essa região, enquanto a microvasculatura na parte distal é preservada, permitindo o desenvolvimento desse segmento.

A *talidomida* continua a ser produzida, porque é utilizada no tratamento da *hanseníase* e do *mieloma múltiplo*.

Sistema tegumentar:

A pele é composta da epiderme, de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, e da derme, de tecido conjuntivo. A epiderme e seus anexos (cabelos, pelos, unhas, glândulas sudoríparas, sebáceas e mamárias) originam-se do *ectoderma*, enquanto a derme diferencia-se do *mesoderma* subjacente ao ectoderma, sendo a maior parte do *dermátomo* dos somitos. A derme dos membros e do abdômen é proveniente do *mesoderma lateral somático*. Na face e em partes do pescoço, a derme descende da *crista neural* céfálica e é, portanto, de origem ectodérmica.

Há uma indução recíproca entre o ectoderma e o mesoderma subjacente para a formação da epiderme e de seus anexos e da derme.

Quando os componentes ectodérmicos e mesenquimais são isolados, o ectoderma diferencia-se em uma camada de células, não produzindo o epitélio estratificado da epiderme, nem seus anexos. O mesenquima continua como tal, não resultando na derme. Quando o ectoderma de uma parte do corpo é combinado com o mesoderma de outra região, o ectoderma torna-se a epiderme correspondente à região do mesoderma e não ao do seu local de origem.

A sinalização Wnt do ectoderma, através da via β -catenina faz com que as células do dermomiótomo e as células do mesoderma lateral somático expressem Dermo 1, um marcador dérmico.

No segundo mês de desenvolvimento, a epiderme consiste de uma camada basal, cujas células sofrem mitoses, e de uma camada superficial de células pavimentosas, denominada *periderme*, a qual permite a passagem de água e eletrólitos para o líquido amniótico. No terceiro mês, as células provenientes da camada basal compõem uma camada intermediária.

Durante o sexto mês, com a apoptose e a descamação das células da periderme e a diferenciação das demais camadas, a epiderme apresenta os seguintes estratos: basal (ou germinativo), onde as células proliferam; espinhoso, assim designado por causa do aspecto produzido pelas interdigitações e pelos desmossomos que unem as células; granuloso, com o acúmulo de grânulos de querato-hialina nas células, e córneo, com células mortas, ricas em queratina (Figura 5.58).

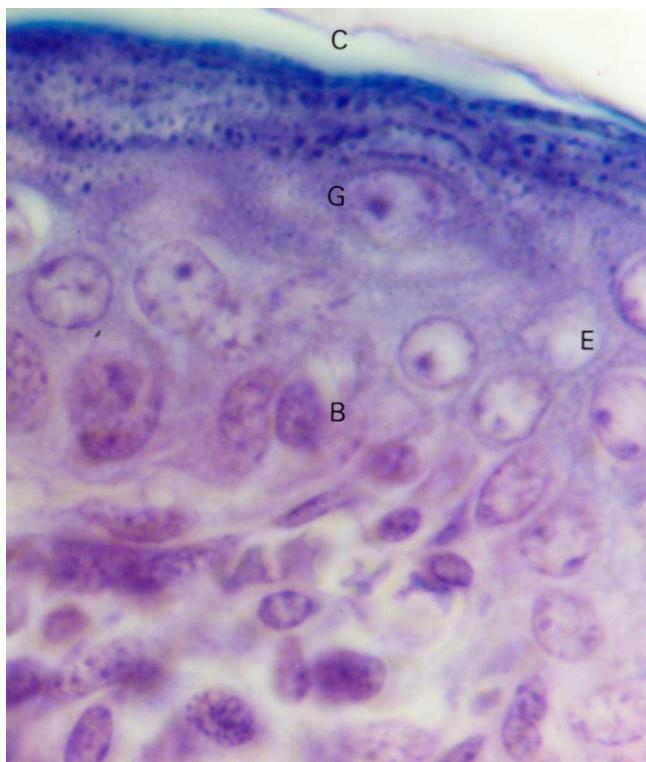


Figura 5.58 - Corte histológico da pele de feto de camundongo a termo, onde são observados os estratos basal (B), espinhoso (E), granuloso (G) e córneo (C), ainda pouco queratinizado.

A transformação do ectoderma de camada única para um epitélio estratificado requer a ativação do fator de transcrição p63, possivelmente em resposta a sinais do mesoderma subjacente. Para as células da epiderme saírem do ciclo celular e sofrerem diferenciação terminal, p63 deve ser desligado pela ação de um microRNA (miR-203).

Pela presença da queratina, essas células da epiderme são chamadas queratinócitos. A queratinização faz com que a epiderme se torne uma barreira impermeável e protetora. Neste momento da gestação, isso é importante porque a urina começa a se acumular no líquido amniótico.

No fim do primeiro trimestre, são encontradas, na epiderme, as células de Langerhans, que são células apresentadoras de抗ígenos; as células de Merkel, que são mecanorreceptores, e os melanócitos, que convertem o aminoácido tirosina em melanina. Esse pigmento é depositado nos queratinócitos, protegendo o material genético da radiação ultravioleta. Os precursores das células de Langerhans são provenientes da medula óssea, e as células de Merkel e os melanoblastos, da crista neural.

A morfologia e a distribuição dos pelos também estão relacionadas com a derme subjacente à epiderme.

FGF- e Wnt-11 da derme estimulam a ativação de outras Wnts no ectoderma e a liberação de noguina que inibe a BMP. No local, o ectoderma forma um placoide, que produz, além de Wnts, Edar, o receptor para a molécula de sinalização ecodispersina. Shh e outros sinais do placoide epidérmico estimulam a agregação das células mesenquimais subjacentes, localizadas na papila dérmica. Essa, por sua vez, induz o crescimento do placoide epidérmico para a derme. A proliferação celular é estimulada pela shh das células epidérmicas e pela expressão subsequente de ciclina D1. A formação do pelo envolve a expressão de genes Hox. Nas áreas sem pelos, a formação do placoide epidérmico é inibida pela BMP e por Dickkopf, que inativa a sinalização de Wnts.

O feto com quatro meses exibe cílios, sobrancelhas, cabelos (Figura 5.42) e finos pelos, o *lanugo* (do latim *lana*, que significa lã fina). Esses pelos retêm o verniz caseoso (ou *vernix caseosa*), uma mistura de sebo e de células descamadas, que protege a pele da exposição ao líquido amniótico. Eles caem pouco antes do nascimento e são substituídos por pelos definitivos, mais grossos, denominados velos (do latim *vellus*, lã grosseira).

Na sexta semana, duas faixas de espessamento do ectoderma estendem-se ao longo das paredes ventrolaterais. São as *linhas mamárias*, que posteriormente se fragmentam nos placoides que se diferenciarão nas glândulas mamárias. Como as outras glândulas da pele, essas glândulas também são formadas pelo ectoderma em resposta às influências indutivas do mesoderma.

Há a expressão de vários Wnts nas células das linhas mamárias. A agregação e a proliferação das células nos placoides mamários ocorrem sob a influência indutiva da neurregulina-3. Sua localização é marcada pela expressão do fator de transcrição Tbx-3.

As células epiteliais do ducto mamário em formação secretam a proteína relacionada ao hormônio da paratireoide, a qual aumenta a sensibilidade das células mesenquimais à BMP-4. Esta última estimula a invaginação do ducto mamário e a expressão do fator de transcrição Msx-2, o qual inibe a formação dos folículos pilosos na região do mamilo.

Mamilos supranumerários podem ocorrer nos locais que correspondem às linhas mamárias.

Enquanto os ductos lactíferos desenvolvem-se nos embriões do sexo feminino, eles regredem naqueles do sexo masculino pelo efeito da testosterona mediado pelos receptores a esse hormônio presentes no mesenquima. A contínua proliferação dos ductos lactíferos e o acúmulo de tecido adiposo subjacente a eles são promovidos pelos níveis crescentes de estrógeno na puberdade. O efeito desse hormônio nos ductos é mediado pelo tecido conjuntivo.

Com a gravidez, a progesterona, a prolactina e o lactogênio placentário estimulam o desenvolvimento dos alvéolos na extremidade dos ductos. A prolactina, produzida pela hipófise, faz com que as células dos alvéolos mamários secretem as proteínas e os lipídios do leite.

Em resposta à sucção, oxitocina é liberada pela hipófise. Ela causa a contração das células mioepiteliais que circundam os alvéolos. O leite é ejetado. Quando a mãe parar de amamentar seu filho, a síntese de prolactina é reduzida, e a produção de leite cessa. As glândulas mamárias retornam ao estado morfológico de não gravidez.

Após a compreensão da organogênese, é apresentado um resumo sobre os derivados dos folhetos embrionários no Quadro 5.5.

Quadro 5.5 - Derivados dos folhetos embrionários.

Ectoderma: revestimento epitelial externo (epiderme e seus anexos - pelos, unhas, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e glândulas mamárias); epitélio da cavidade oral e anal; glândulas salivares parótidas; esmalte dentário; sistema nervoso e órgãos dos sentidos; medula da adrenal; meato auditivo externo, e epitélio da parte terminal da uretra masculina.

Mesoderma: endotélio e mesotélio; tecido conjuntivo (inclusive tecido adiposo, cartilagem, osso, tecido hematopóietico e sangue); tecido muscular.

- mesoderma dos arcos branquiais: crânio; tecido conjuntivo e músculos da cabeça e do pescoço; tecido linfoide do timo e das tonsilas palatinas; dentina;
- mesoderma paraxial (somitos): esqueleto (parte do crânio - osso occipital, coluna vertebral e costelas); tecido conjuntivo e músculos do tronco; músculos dos membros;
- mesoderma intermediário: sistema urinário (rins e ureteres) e sistema reprodutor;

- mesoderma lateral somático: folheto parietal das membranas serosas da pleura, do pericárdio e do peritônio; tecido conjuntivo dos membros, e derme da pele do abdômen;
- mesoderma lateral esplâncnico: folheto visceral das membranas serosas da pleura, do pericárdio e do peritônio; células do sangue; sistema cardiovascular; tecido conjuntivo e músculos das vísceras;
- notocorda: núcleo pulposo das vértebras.

Endoderma: revestimento epitelial interno (do sistema digestório – da faringe ao reto, do sistema respiratório, da bexiga, da uretra e da vagina); anexos do trato digestório (glândulas salivares submandibulares e sublinguais; fígado, vesícula biliar e pâncreas); glândulas do sistema respiratório; tuba auditiva e cavidade timpânica; tonsilas palatinas e células epiteliais reticulares do timo; tireoide e paratireoides.

5 – TERCEIRO AO NONO MÊS

5.1 – Período Fetal

No fim do período embrionário, na oitava semana, o embrião adquire um aspecto humano, então passa a ser denominado, ao iniciar o terceiro mês (na nona semana), de feto.

O desenvolvimento durante o período fetal está relacionado com a diferenciação dos tecidos e órgãos que surgiram durante o período embrionário e com o crescimento do corpo, diminuindo a diferença entre a cabeça e o corpo. No fim do primeiro trimestre, o

comprimento vértice-nádega do feto é igual ao da largura da palma da mão (Figura 5.10). No fim do segundo trimestre, é equivalente à palma da mão.

O crescimento intrauterino é prejudicado por uma nutrição deficiente, pelo uso de álcool, fumo e drogas e pela insuficiência placentária, que acarreta diminuição do fluxo sanguíneo e, consequentemente, de oxigênio para o feto.

A seguir é apresentado um resumo dos eventos que ocorrem no período fetal (Quadro 5.6).

Quadro 5.6 - Eventos do período fetal.

3º mês: crescimento do corpo; ossificação; definição da genitália; produção de urina; o feto começa a se mover, mas a mãe não sente devido ao seu pequeno tamanho.

4º mês: crescimento do corpo; ossificação; nos ovários, há a formação dos folículos primordiais; presença dos cabelos, cílios, lanugo e verniz caseoso; o feto chupa o dedo (Figura 5.58).

5º mês: os movimentos do feto são reconhecidos pela mãe; surgimento do tecido adiposo multilocular, especializado na produção de calor, o que ajudará a manter a temperatura corporal do recém-nascido.

6º mês: formação do tecido adiposo unilocular, com consequente ganho de peso; produção de surfactante; eritropoese no baço; reabertura das pálpebras.

7º mês: o sistema nervoso central amadureceu até o estágio no qual ele pode dirigir os movimentos rítmicos da respiração e controlar a temperatura do corpo; eritropoese começa a ocorrer na medula óssea; devido ao formato do útero e ao peso do feto, ele fica de cabeça para baixo; começa a descida dos testículos para o escroto.

8º mês: orientação espontânea à luz.

9º mês: aperta a mão firmemente; perda do lanugo.



Figura 5.59 - Imagem por ultrassonografia de feto com 17 semanas. Cortesia de Denise Schiel Santiago.

O nascimento ocorre 266 dias (38 semanas) após a fertilização. O hipotálamo do feto dá início ao trabalho de parto pela secreção do hormônio liberador de corticotrofina, o qual estimula a hipófise anterior a produzir adrenocorticotrofina. Esse hormônio provoca a secreção de cortisol pelo córtex da adrenal.

O cortisol está envolvido na síntese de estrógenos. O aumento de estrógeno estimula a liberação de oxitocina pela hipófise posterior e a síntese de prostaglandinas pela decídua. Essas substâncias provocam a contratilidade do miométrio.

As contrações uterinas, inicialmente espaçadas, forçam um cone de âmnio, com o córion liso que o envolve, para dentro do canal cervical, o qual responde com uma lenta dilatação. O tampão mucoso que fechava o canal cervical desprende-se. A

membrana amniocoriônica rompe-se, e o líquido amniótico extravasa pela vagina.

As contrações do útero tornam-se mais fortes, e os músculos abdominais também se contraem, ajudando na expulsão do bebê, da placenta e das demais membranas anexas. A placenta é separada no nível da decidua basal, e as contrações uterinas comprimem as artérias, impedindo a perda excessiva de sangue.

6 – QUESTIONÁRIO

- 1) O que é clivagem?
- 2) Por que as denominações mórula e blastocisto?
- 3) Quando e como ocorre a implantação do embrião?

- 4) Como se dá a formação da placenta? Quais são os seus constituintes?
- 5) Quais são as funções da placenta?
- 6) Como surgem os gêmeos?
- 7) Descreva o desenvolvimento do embrião didérmico e dos anexos embrionários (saco amniótico e saco vitelino).
- 8) Como se dá a gastrulação em mamíferos para o surgimento do embrião tridérmico?
- 9) Justifique a afirmação de que o nó primitivo equivale ao lábio dorsal do blastóporo dos anfíbios.
- 10) Explique a formação do sistema nervoso e dos órgãos sensoriais.
- 11) Compare anencefalia e hidrocefalia; espinha bífida oculta, meningocele, meningomielocele e mielosquise. Mencione como se formam e as consequências para o indivíduo.
- 12) O que é aparelho branquial? Quais são os seus constituintes e seus derivados?
- 13) Como se dá a formação da face e por que ocorrem as fendas labial e palatina?
- 14) O que a ingestão de álcool pode provocar durante a gravidez?
- 15) Em qual período da gestação (em semanas) acontece a organogênese. Faça um resumo do desenvolvimento dos sistemas cardiovascular, respiratório, digestório, urinário e reprodutor.
- 16) Quais são as causas do sopro cardíaco?
- 17) Por que recém-nascidos prematuros, com menos de sete meses, têm dificuldade em sobreviver?
- 18) O que são atresia esofágica, estenose esofágica e fistula traqueoesofágica?
- 19) Como se formam os membros? Explique o que são as anomalias amelia, meromelia, polidactilia e sindactilia.
- 20) A partir de que idade usa-se o termo feto? Que mudanças ocorrem nele?

7 – REFERÊNCIAS

- ABOITIZ, F.; MONTIEL, J. Evolução do cérebro e do comportamento. In: LENT, R. *Neurociência da mente e do comportamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.43-60.
- ALBIERI, A.; BEVILACQUA, E. Induction of erythrophagocytic activity in cultured mouse trophoblast cells by phorbol myristate acetate and all-trans-retinal. *Placenta*, v.17, p.507-512, 1996.
- ARMANT, D. R.; DIAZ, D. Embryo-uterine interaction during implantation. In: SEIBEL, M. M. *Infertility: a comprehensive text*. East Norwalk: Apleton & Lange, 1990. p.457-470.
- AUROUX, M.; HAEGEL, P. *Embryologie: travaux pratiques et enseignement dirigé*. Paris: Masson & C^{ie}, 1968, v.3. 146p.
- BANKS, W. I. *Histologia veterinária aplicada*. 2.ed. São Paulo: Manole: 1992. p.579-584.
- BARRADAS, P. C.; CAVALCANTE, L. A.; GOMES, F. C. A.; LIMA, F. R. S.; MOURA-NETO, V.; TRENTIN, A. G. As células da glia. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.265-277.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.167-204.
- BECKER, D. L.; LECLERC-DAVID, C.; WARNER, A. The relationship of gap junctions and compaction in the preimplantation mouse embryo. *Development*, supplement Gastrulation, p.113-118, 1992.
- BROWDER, L. W.; ERICSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. 3.ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1991. p.242-390; 626-721.
- CARLSON, B. M. *Patten's foundations of Embryology*. 5.ed. New York: McGraw-Hill, 1988 apud BROWDER, L. W.; ERICSON, C. A.; JEFFERY, W. R. *Developmental Biology*. 3.ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1991. p.302.
- CARLSON, B. M. *Human Embryology and Developmental Biology*. 5.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014. p.37-472.
- CROSS, J. C.; WERB, Z.; FISHER, S. J. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science*, v.266, p.1508-1518, 1994.

- CRUZ, Y. P. Mammals. In: GILBERT, S. F.; RAUNIO, A. M. *Embryology: constructing the organism*. Sunderland: Sinauer Associates, 1997. p.459-489.
- DANTZER, V.; LEISER, R. Placentation. In: EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. L. *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology*. 6.ed. Iowa: Blackwell, 2006. p.279-297.
- DAVID, G.; HAEGEL, P. *Embryologie: travaux pratiques et enseignement dirigé*. Paris: Masson & Cie, 1968, v.1. 114p.
- DRAKE, R. L.; VOGL, W.; MITCHELL, A. W. M. *Grey's Anatomia para estudantes*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p.786-788.
- FÉLIX, T. M.; GIUGLIANI, C.; FRIEDRICH, C. O uso de ácido fólico e outras vitaminas na prevenção de defeitos congênitos. In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.; SCHÜLER-FACCINI, L. *Manual de teratogênese*. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2001. p.495-500.
- FITZGERALD, M. J. T. *Embriologia humana*. São Paulo: Harper & Row do Brasil, 1980. 197p.
- FLEMING, T. P.; JAIVED, Q.; HAY, M. Epithelial differentiation and intercellular junction formation in the mouse early embryo. *Development*, supplement Gastrulation, p.105-112, 1992.
- FRANÇA, L. R. de; CHIARINI-GARCIA, H. Célula de Sertoli. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.302-324.
- GAGIOTI, S.; COLEPICOLO, P.; BEVILACQUA, E. Post-implantation mouse embryos have the capability to generate and release reactive oxygen species. *Reproduction, Fertility and Development*, v.7, p.1111-1116, 1995.
- GAGIOTI, S.; COLEPICOLO, P.; BEVILACQUA, E. Reactive oxygen species and the phagocytosis process of hemochorial trophoblast. *Ciência e Cultura*, v.48, p.37-42, 1996.
- GARCIA, S. M. L. de; GARCIA, C. F. *Embriologia*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2003. p.245-408.
- GRiffin, J. E.; WILSON, J. D. Disorders of the testes and the male reproductive tract. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. *Williams Textbook of Endocrinology*. 9.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.819-821.
- HEARN, J. P. The embryo-maternal dialogue during early pregnancy in primates. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.76, p.809-819, 1986.
- HOUILLON, C. *Embriologia*. São Paulo: Edgar Blücher, 1972. p.81-101.
- JESSELL, T. M.; SANES, J. R. A indução e padronização do sistema nervoso. In: KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSELL, T. M. *Princípios da Neurociência*. 4.ed. Barueri: Manole, 2003. p.1019-1040.
- KIERSZENBAUM, A. L. *Histologia e Biologia celular: uma introdução à Patologia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.601-605; 617-618; 644-665.
- LARSEN, W. J. *Human Embryology*. 2.ed. New York: Churchill Livingstone, 1997. p.17-488.
- LENT, R. A estrutura do sistema nervoso. In: LENT, R. *Neurociência da mente e do comportamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.19-42.
- LENT, R.; UZIEL, D.; FURTADO, D. A. Neurônios. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.226-247.
- MACHADO, A. B. M. *Neuroanatomia funcional*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1998. p.177-181.
- MARIEB, E. N.; HOEHN, K. *Anatomia e Fisiologia*. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. p.385-438.
- MARQUES, M. J. Células de Schwann. In: CARVALHO, H. F.; COLLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Manole, 2005. p.248-264.
- McGEADY, T. A.; QUINN, P. J.; FITZPATRICK, E. S.; RYAN, M. T. *Veterinary Embryology*. Oxford: Blackwell, 2006. p.78-104.
- MONTANARI, T. *Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 160p.
- MOORE, K. L. *Embriologia básica*. 2.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. p.79; 140-3.
- MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. *Embriologia clínica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. p.36-465.
- MOURA-NETO, V.; LENT, R. Como funciona o sistema nervoso. In: LENT, R. *Neurociência da mente e do comportamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.61-88.
- NETTER, F. H. *Atlas de Anatomia humana*. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. prancha 149.
- OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. *Netter, Bases da Histologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 493p.
- PARDANAUD, L.; DIETERLEN-LIÈVRE, F. Emergence of endothelial and hemopoietic cells in the avian embryo. *Anatomy and Embryology*, v. 187, n.2, p.107-114, 1993.
- PERES, R. M.; SPRITZER, D. T. Álcool, fumo e outras drogas. In: SANSEVERINO, M. T. V.; SPRITZER, D. T.;

SCHÜLER-FACCINI, L. *Manual de teratogênese*. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 2001. p.451-467.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J. FITZPATRICK, D.; KATZ, L. C.; LaMANTIA, A. -S.; McNAMARA, J. O.; WILLIAMS, S. M. *Neurociências*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.471-492.

ROHEN, J. W.; YOKOCHI, C.; LÜTJEN-DRECOLL, E. *Anatomia humana: Atlas fotográfico de Anatomia sistêmica e regional*. 6.ed. Barueri: Manole, 2007. p.19; 86; 90-91; 103; 110.

SERRANO, L. L. Notas sobre uma membrana extra-embriônica precoce, no embrião de *Phrinops hilari* Duméril e Bibron, 1835 (nota prévia). *Pesquisas*, v.29, p.7-13, 1977.

STEVENS, A.; LOWE, J. *Histologia humana*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2001. p.349-353.

STEVENS, A.; LOWE, J. *Patologia*. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998. 535p.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. *Corpo humano: fundamentos de Anatomia e Fisiologia*. 6.ed. Porto Alegre: Armed, 2006. p.246-276; 289-319.

TUCHMANN-DUPLESSIS, H.; HAEGEL, P. *Embryologie: travaux pratiques et enseignement dirigé*. Paris: Masson & C^e, 1970, v.2. 157p.

UZIEL, D. O desenvolvimento do cérebro e do comportamento. In: LENT, R. *Neurociência da mente e do comportamento*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p.89-109.

WEST, J. R.; GOODLETT, C. R. Teratogenic effects of alcohol on brain development. *Annals of Medicine*, v.22, p.319-325, 1990.

Roteiro de aulas práticas

Capítulo 6

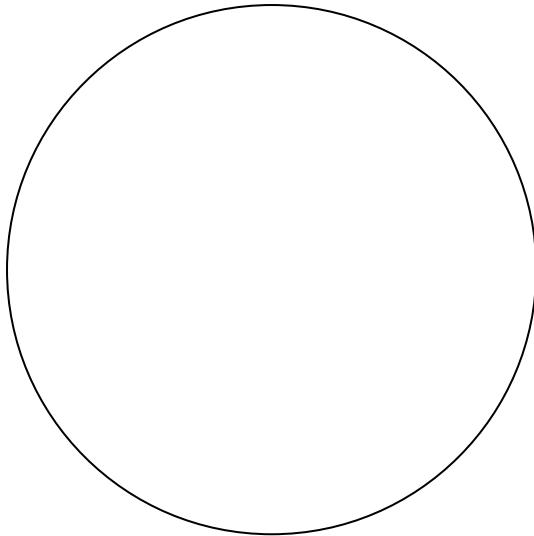
Unidade: Gametogênese Sistema reprodutor masculino

Lâm. ____ - Testículo HE

túbulo seminífero: células de Sertoli, espermatogônias, espermatócitos, espermátides redondas e alongadas; na luz do túbulo: espermatozoides; ao redor dos túbulos: células mioídes peritubulares; tecido intersticial: células de Leydig e vasos sanguíneos

Aum: 400x

Data: _____



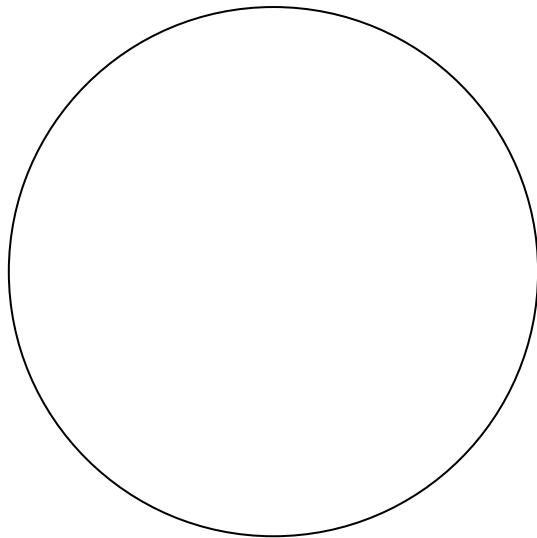
Unidade: Gametogênese Sistema reprodutor masculino

Lâm. ____ - Testículo (semifino) Azul de toluidina

túbulo seminífero: células de Sertoli, espermatogônias, espermatócitos, espermátides redondas e alongadas; ao redor dos túbulos: células mioídes peritubulares; tecido intersticial: células de Leydig e vasos sanguíneos

Aum: 1.000x

Data: _____



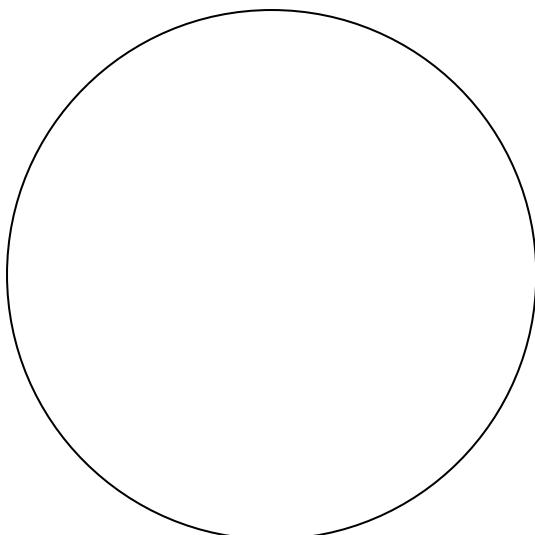
Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Ovário HE

zona cortical com folículos ovarianos e corpo(s) lúteo(s) e
zona medular com vasos sanguíneos e linfáticos

Aum: 100x

Data: _____



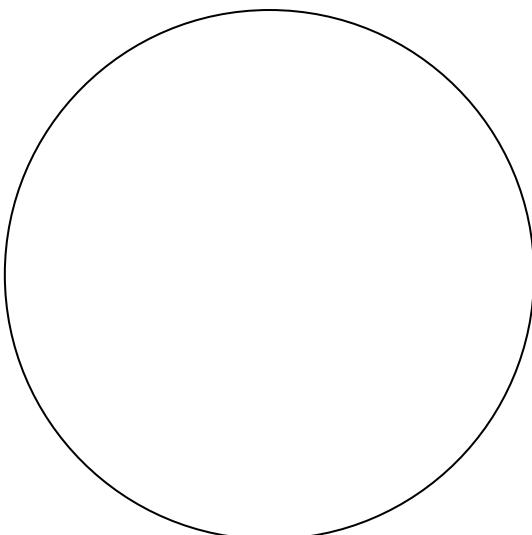
Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Ovário HE

folículos primordiais; folículos em crescimento: unilaminar, multilaminar e antral (apontar o oóцитio primário, a zona pelúcida, a camada granulosa de células foliculares, a teca e o antró); folículos atrésicos, e células intersticiais

Aum: 400x

Data: _____

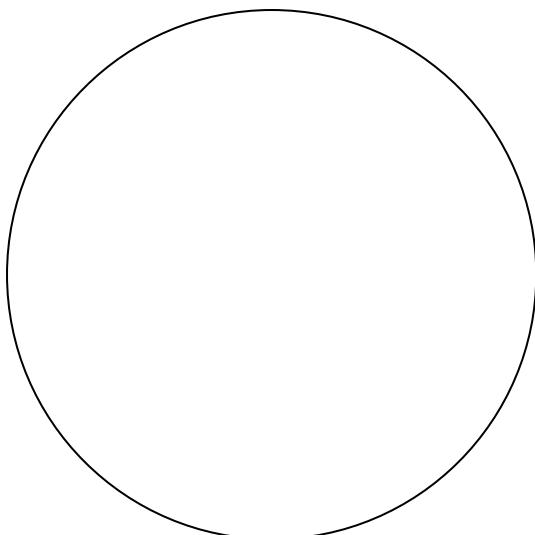


Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Útero HE

endométrio, miométrio e perimetrio (ou túnica serosa)

Aum: 50x Data: _____

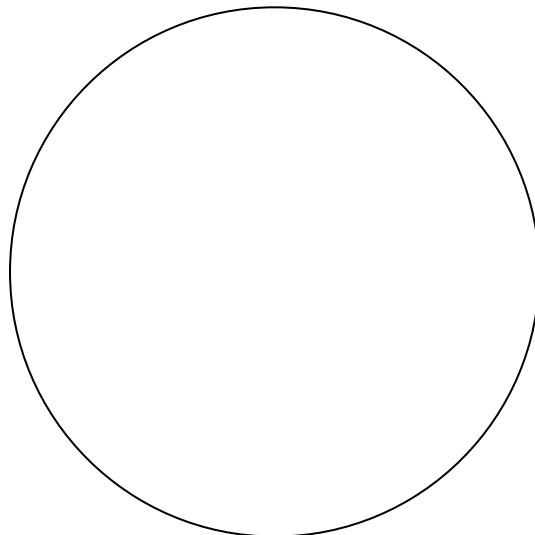


Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Útero HE

fase secretora do ciclo menstrual: endométrio com glândulas uterinas bem desenvolvidas, de trajeto tortuoso

Aum: 100x Data: _____

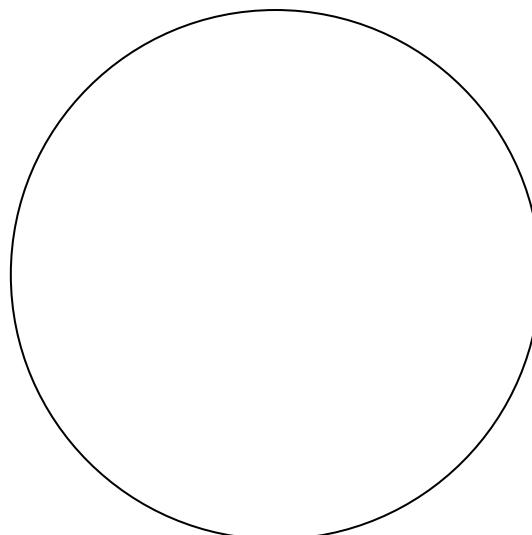


Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Útero HE

fase proliferativa do ciclo menstrual: endométrio constituído por epitélio simples colunar ciliado (e com células secretoras) e tecido conjuntivo frouxo; glândulas tubulares ramificadas pouco desenvolvidas, de trajeto reto

Aum: 100x Data: _____

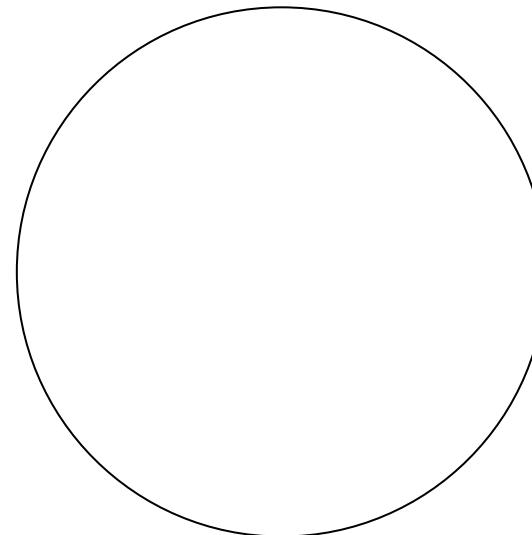


Unidade: Gametogênese
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Útero HE

fase menstrual do ciclo menstrual: parte superior do endométrio rompida pela descamação

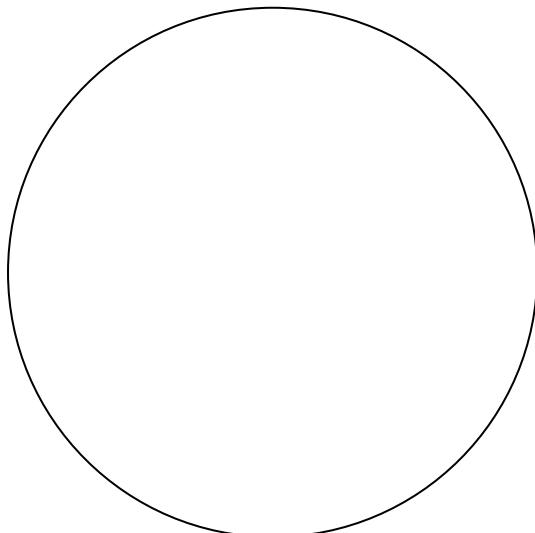
Aum: 100x Data: _____



Unidade: Gametogênese
Ciclo estral

Lâm. ____ - Esfregaço vaginal de roedor Shorr/H
proestro: células nucleadas e anucleadas

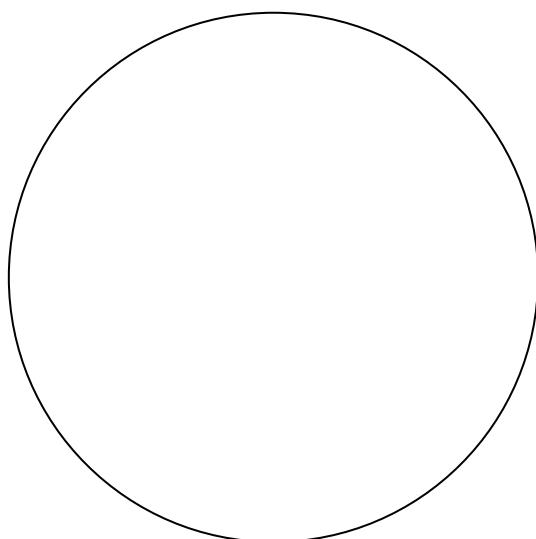
Aum: 400x Data: _____



Unidade: Gametogênese
Ciclo estral

Lâm. ____ - Esfregaço vaginal de roedor Shorr/H
estro: células anucleadas

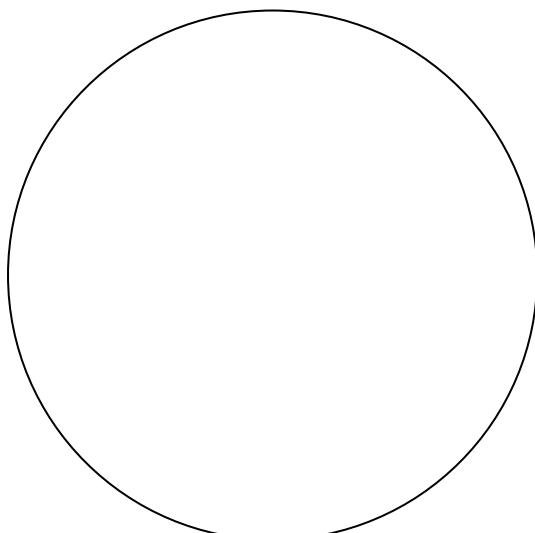
Aum: 400x Data: _____



Unidade: Gametogênese
Ciclo estral

Lâm. ____ - Esfregaço vaginal de roedor Shorr/H
metaestro: células nucleadas e anucleadas e leucócitos

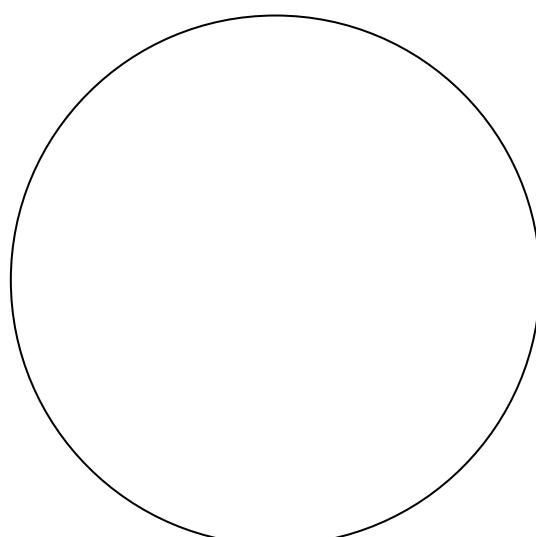
Aum: 400x Data: _____



Unidade: Gametogênese
Ciclo estral

Lâm. ____ - Esfregaço vaginal de roedor Shorr/H
diestro: células nucleadas e anucleadas, leucócitos e muco

Aum: 400x Data: _____



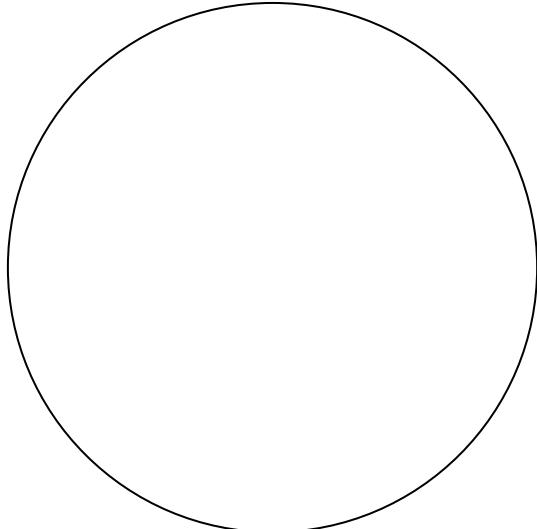
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Epidídimos HE

cabeça: ducto de epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios, miofibroblastos e tecido conjuntivo frouxo

Aum: 400x

Data: _____



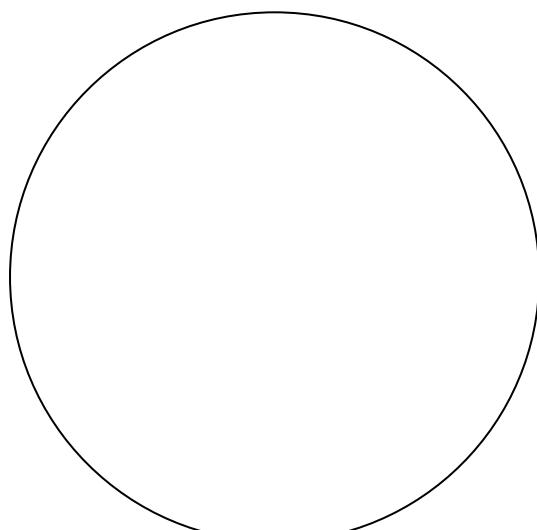
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Canal deferente HE

epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios; tecido conjuntivo subjacente; camada de músculo liso bastante desenvolvida (subcamadas interna e externa longitudinais e subcamada média circular); adventícia; espermatozoides na luz

Aum: 100x

Data: _____



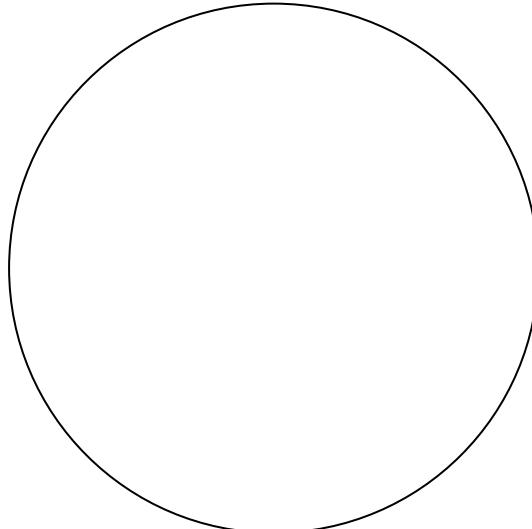
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Epidídimos HE

cauda: ducto de epitélio pseudoestratificado colunar com estereocílios, músculo liso e espermatozoides na luz

Aum: 400x

Data: _____



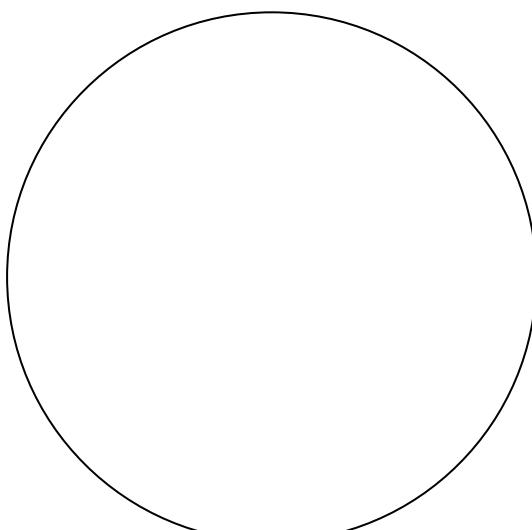
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Vesícula seminal HE

mucosa pregueada de epitélio secretor e tecido conjuntivo subjacente; músculo liso, e adventícia

Aum: 400x

Data: _____



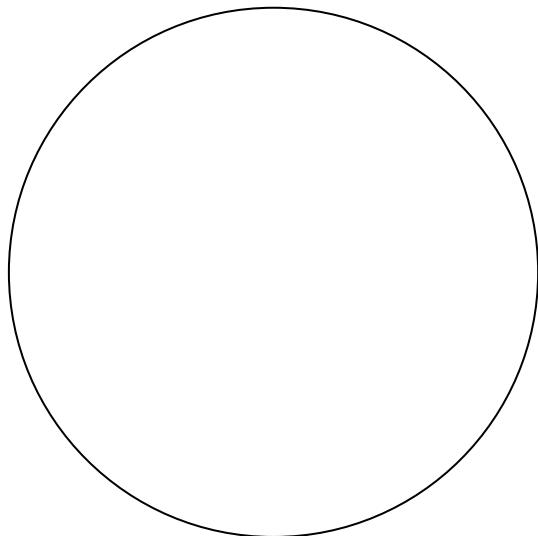
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Próstata HE

uretra de epitélio de transição; glândulas tubuloalveolares compostas, cujos ductos desembocam na uretra

Aum: 50x

Data: _____



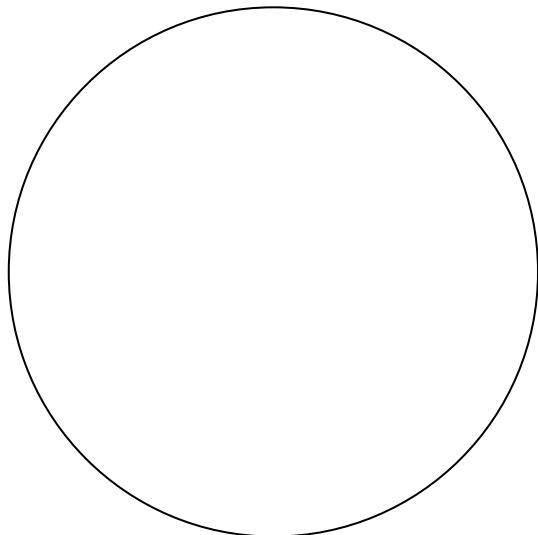
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Pênis HE

corte transversal do corpo do pênis: pele com epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e tecido conjuntivo frouxo; túnica albugínea de tecido conjuntivo denso; dois corpos cavernosos e um corpo esponjoso de tecido erétil; uretra (no interior do corpo esponjoso) de epitélio pseudoestratificado colunar ou estratificado colunar

Aum: 50x

Data: _____



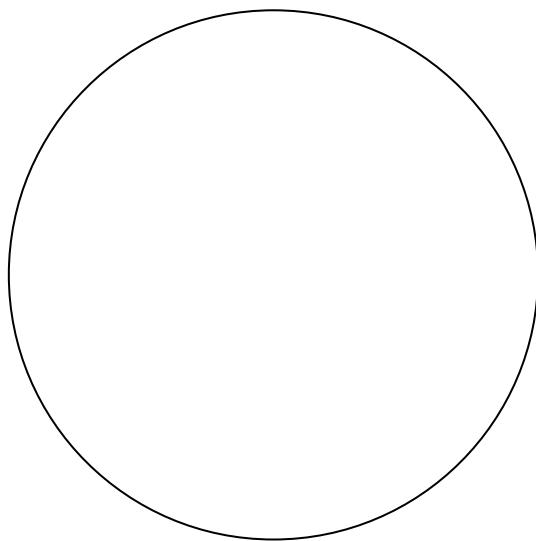
**Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor masculino**

Lâm. ____ - Pênis HE

corte transversal do corpo do pênis: pele com epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e tecido conjuntivo frouxo; túnica albugínea de tecido conjuntivo denso; dois corpos cavernosos e um corpo esponjoso de tecido erétil; uretra (no interior do corpo esponjoso) de epitélio pseudoestratificado colunar ou estratificado colunar

Aum: 50x

Data: _____



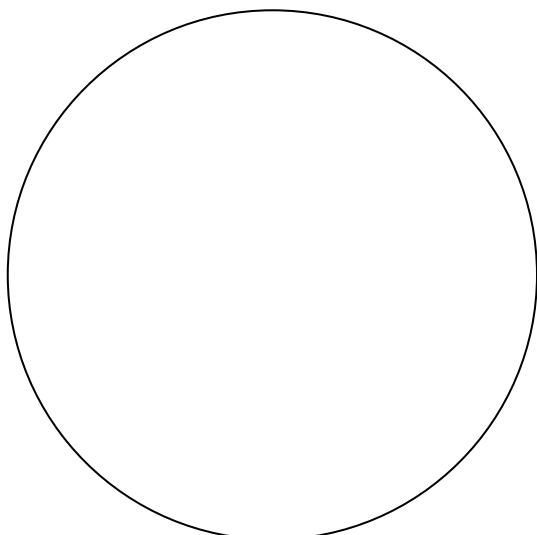
Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Vagina HE

epitélio estratificado pavimentoso, cujas células acumulam glicogênio

Aum: 400x

Data: _____



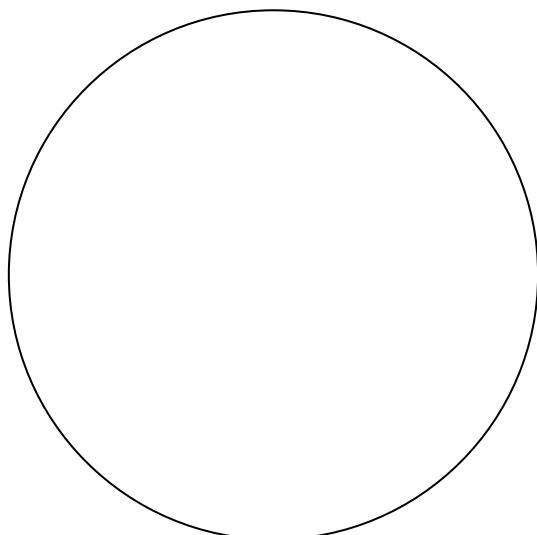
Unidade: Transporte dos gametas
Sistema reprodutor feminino

Lâm. ____ - Tuba uterina HE

mucosa de epitélio simples colunar ciliado, com células secretoras e tecido conjuntivo frouxo; camada muscular, e serosa

Aum: 100x

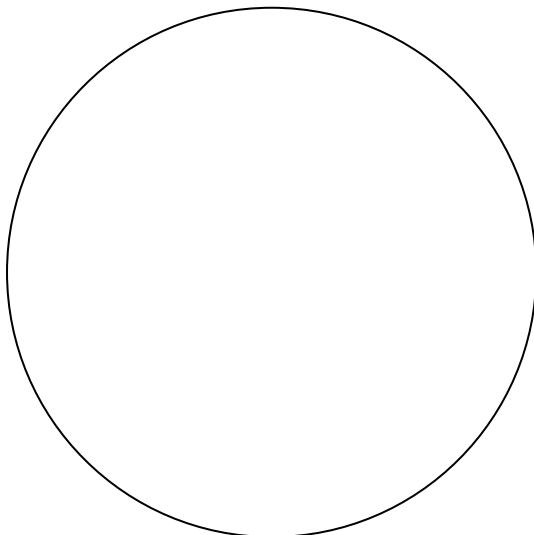
Data: _____



Unidade: Desenvolvimento comparado**Variabilidade dos gametas**

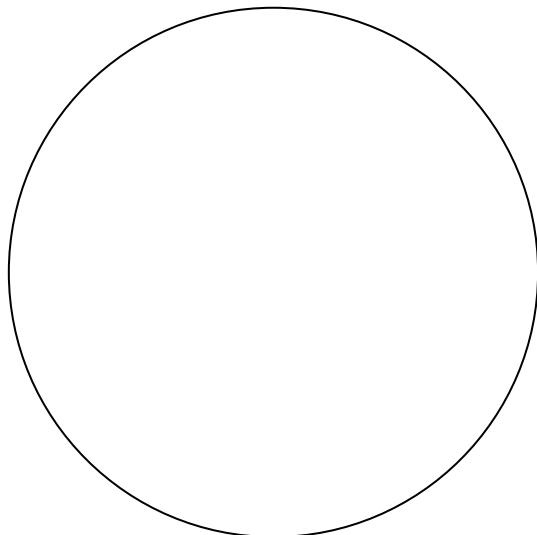
Lâm. ____ - Esfregaço seminal humano Giemsa
espermatozoide: cabeça (núcleo e acrosoma) e cauda
(peças intermediária, principal e terminal)

Aum: 1.000x Data: _____

**Unidade: Desenvolvimento comparado****Variabilidade dos gametas**

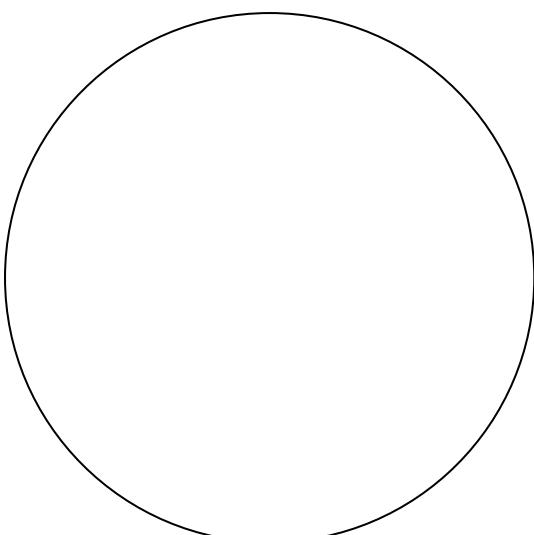
Lâm. ____ - Esfregaço do macerado da cauda do
epidídimos de roedor Eosina 1%
espermatozoide: cabeça e cauda

Aum: 1.000x Data: _____

**Unidade: Desenvolvimento comparado****Variabilidade dos gametas**

Lâm. ____ - Espermatozoide de carrapato PAS/H

Aum: 1.000x Data: _____



Unidade: Desenvolvimento comparado

Desenvolvimento dos equinodermos

Utilizando massa de modelar, reproduza o desenvolvimento do ouriço-do-mar: o ovo, embriões até a sexta clivagem, a blástula, a gástrula e a larva *pluteus*.

Escolha três cores para representar o ovo: uma para o polo animal e duas para o polo vegetal, para distinguir as regiões que derivam os micrômeros e os macrômeros. Mantenha as mesmas cores para os estágios subsequentes do desenvolvimento.

Lembre que, durante a clivagem, não há aumento do embrião, assim ele deve corresponder ao tamanho do ovo.

Unidade: Desenvolvimento comparado

Desenvolvimento dos protocordados

Com massa de modelar, represente o desenvolvimento do anfioxo: o ovo, embriões de duas a 16 células, a blástula, a gástrula e a nêurula.

Como o polo animal é mais transparente, use branco para representá-lo e uma cor escura para o polo vegetal. Pela equivalência do crescente mesodérmico ao crescente amarelo, utilize essa cor para marcá-lo. Identifique também o crescente que deriva a notocorda, o qual é cinza-claro.

Os destinos dessas regiões do ovo nos estágios embrionários devem ser ilustrados com as cores respectivas.

Unidade: Desenvolvimento comparado

Desenvolvimento dos anfíbios

Em moldes de massa de modelar, execute o desenvolvimento da rã nos seguintes estágios: o ovo após a fertilização, embriões de duas a 16 células, a blástula, a gástrula e as nêurulas inicial e tardia.

Faça o ovo em três cores: uma cor clara para o polo vegetal; uma cor escura para o polo animal (que é marrom-acinzentado ou preto por causa da melanina) e para o crescente sob o equador, em um lado da célula, mostrando a descida do pigmento, e uma cor intermediária para o crescente cinzento, localizado supraequatorialmente do lado oposto.

A blástula deve ser representada em corte para exibir a blastocele restrita ao polo animal.

Na gástrula, mostre a epibolia das células do polo animal e a involução das células do crescente cinzento para a blastocele, obliterando-a. A nova cavidade é o arquêntero, cujo teto inicialmente é de células do crescente cinzento e o assoalho é de células do polo vegetal.

As nêurulas também devem ser feitas em corte. Em um estágio inicial, a notocorda induz o ectoderma suprajacente a se diferenciar na placa neural. Em um estágio mais avançado, a placa neural fecha-se em tubo neural, que derivará o sistema nervoso. Há epibolia do ectoderma também sobre essa região, e esse folheto embrionário originará o epitélio de revestimento. As extremidades do endoderma encontram-se no teto do arquêntero, revestindo todo ele e formando o epitélio do tubo digestório. O mesoderma ao lado do tubo neural e da notocorda é o paraxial e segmenta-se em somitos, responsável pela musculatura do tronco e dos membros e pelo esqueleto axial. O mesoderma vizinho é o intermediário, onde surge o sistema urogenital. O restante do mesoderma interposto entre o ectoderma e o endoderma é o lateral e deriva o tecido conjuntivo (inclusive os ossos dos membros e o sangue) e o tecido muscular das vísceras. A delaminação do mesoderma lateral resulta no celoma, futura cavidade corporal.

Unidade: Desenvolvimento comparado

Desenvolvimento das aves

Ovos de galinha ou de codorna devem ser incubados por 48h, em estufa a 37,5°C.

Com uma pequena tesoura de ponta, cortar uma parte da casca, iniciando de preferência pela extremidade larga do ovo, onde há a câmara de ar.

Colocar o ovo aberto em um recipiente (por exemplo, em uma cápsula de porcelana ou em uma pequena tigela) com água à temperatura ambiente ou aquecida a 37°C, o que manterá por mais tempo seus batimentos cardíacos, permitindo acompanhar a circulação sanguínea.

Recortar em torno do embrião, separando-o da gema, e coletá-lo sobre a face convergente de uma placa de Petri.

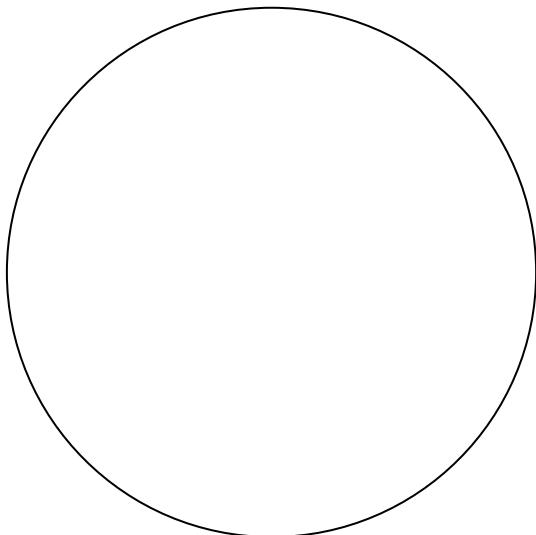
As bordas da área peltícida podem ser recobertas por uma moldura de papel filtro.

Observe o embrião em lupa. No caso do embrião de codorna, pode ser usado o microscópio.

Unidade: Desenvolvimento humano

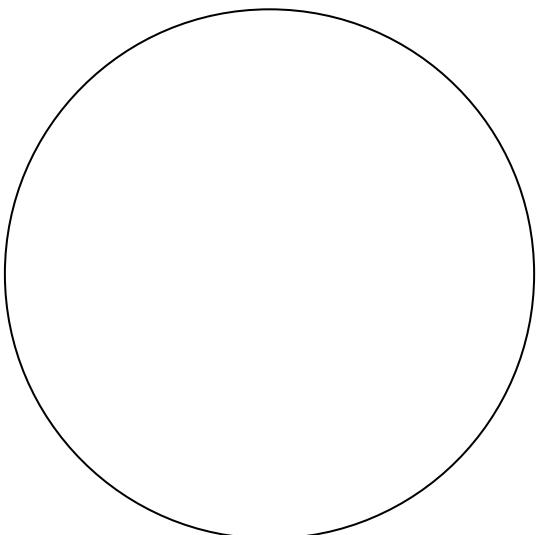
Lâm. ____ - Embrião de galinha com 28h
estabelecimento dos folhetos embrionários e neurulação:
apontar o ectoderma, o mesoderma, o endoderma, a
notocorda e a placa neural fechando-se no tubo neural

Aum: 100x Data: _____

**Unidade: Desenvolvimento humano**

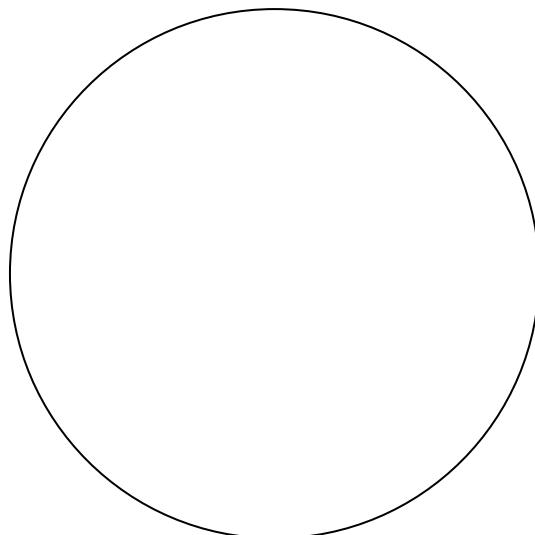
Lâm. ____ - Embrião de galinha com 48h
in toto: tubo neural expandido na porção cranial em
vesículas encefálicas (prosencéfalo, mesencéfalo e
rombencéfalo), vesículas ópticas, restante do tubo neural,
que será medula espinhal, somitos e formação do coração

Aum: 10x Data: _____

**Unidade: Desenvolvimento humano**

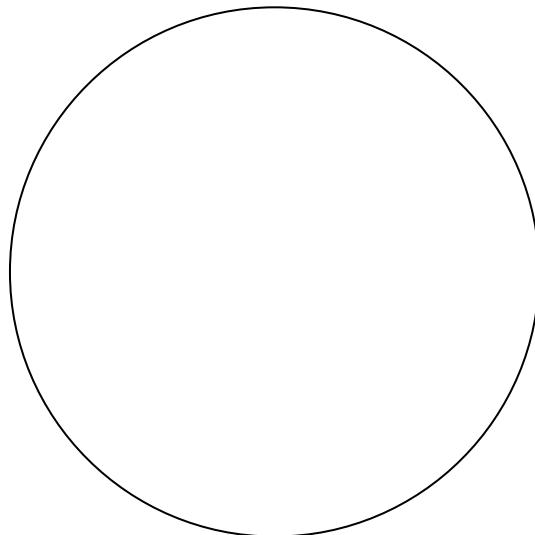
Lâm. ____ - Embrião de galinha com 48h
diferenciação do mesoderma: apontar o saco amniótico, se
presente; o ectoderma; o mesoderma diferenciado em
paraxial, intermediário e lateral somático e esplâncnico; o
endoderma; a notocorda, e o tubo neural

Aum: 100x Data: _____

**Unidade: Desenvolvimento humano**

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 48h/72h
corte longitudinal ou oblíquo, mostrando a segmentação do
mesoderma paraxial em somitos: apontar o tubo neural, os
somitos ao lado, o ectoderma de revestimento e o saco
amniótico, se presente

Aum: 100x Data: _____



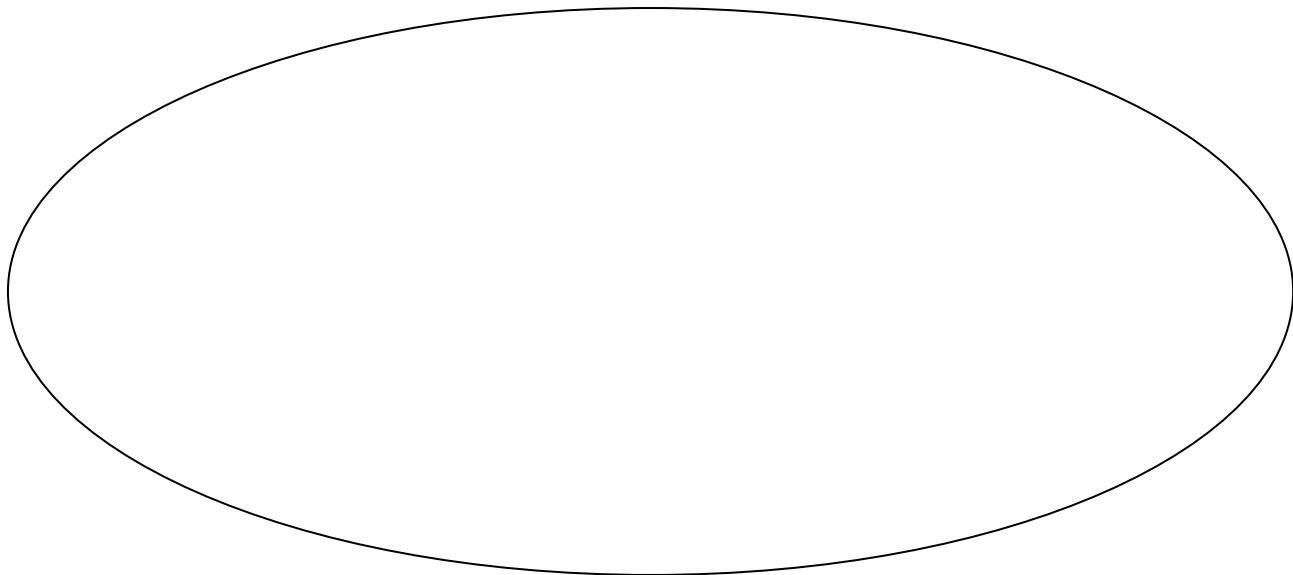
Unidade: Desenvolvimento humano

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 72h

diferenciação do mesoderma paraxial em somitos: apontar o saco amniótico e os seus componentes – ectoderma extraembrionário e mesoderma lateral somático extraembrionário; o ectoderma; o mesoderma paraxial diferenciado em somitos e segmentado em dermomiótomo e esclerotomo; o mesoderma intermediário com túbulos nefrogênicos; o mesoderma lateral somático e esplâncnico; o endoderma; a notocorda, e o tubo neural

Aum: 100x

Data: _____

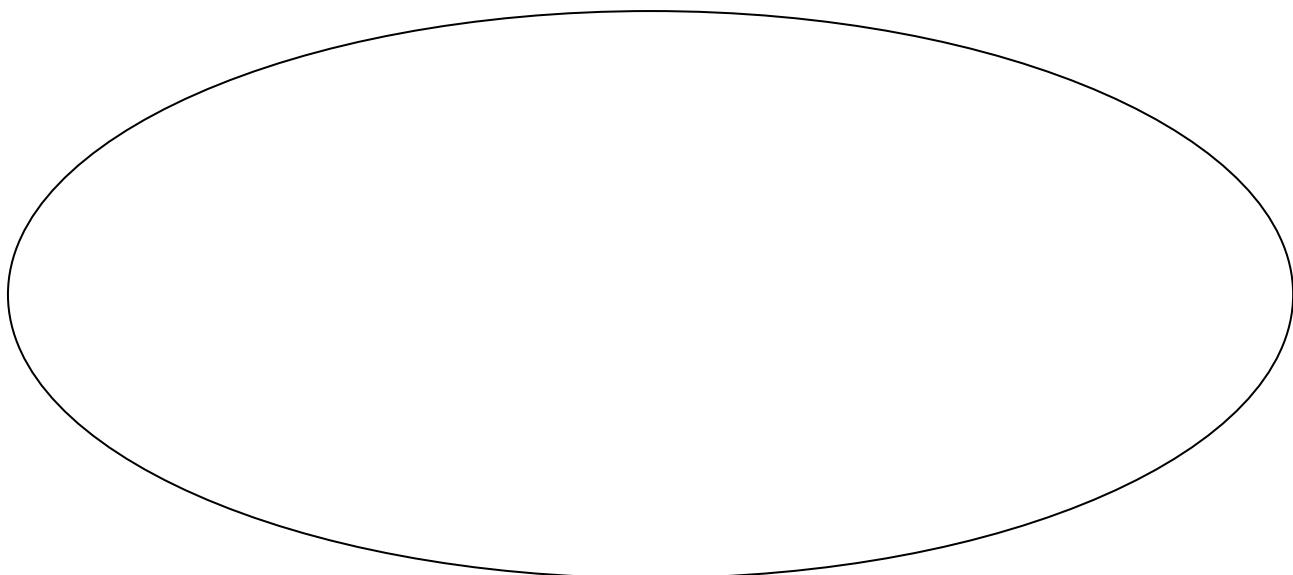
**Unidade: Desenvolvimento humano**

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 72/96h

aparelho branquial: apontar os arcos branquiais, os sulcos branquiais, as bolsas faríngeas e a faringe primitiva

Aum: 100x

Data: _____



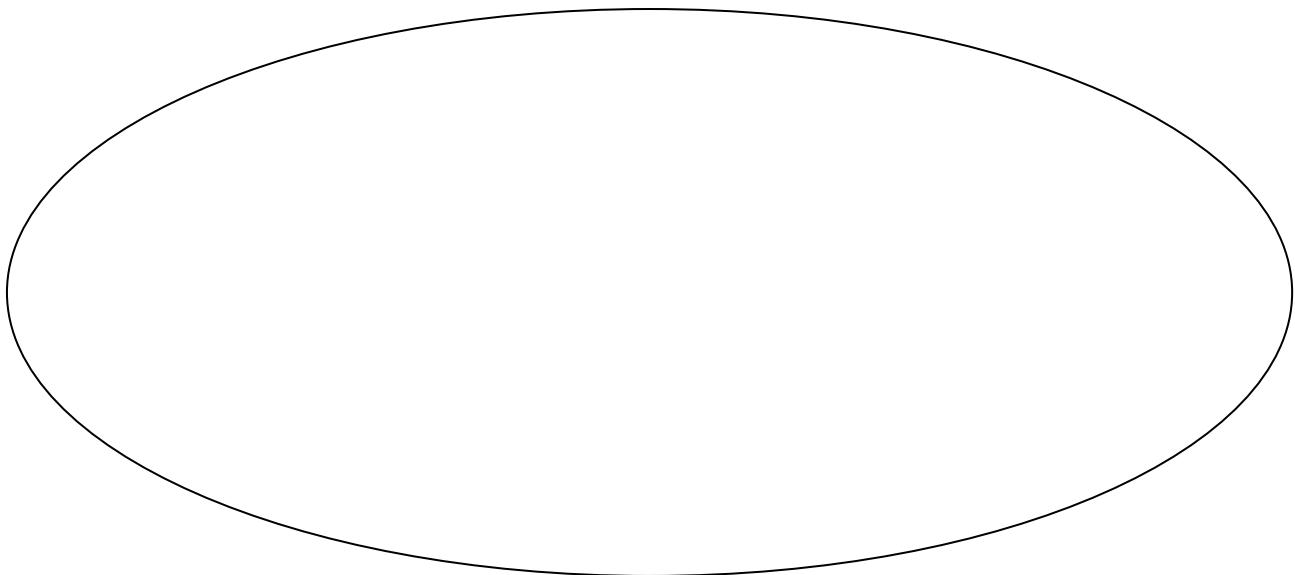
Unidade: Desenvolvimento humano

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 48h/72h

formação da hipófise: apontar o diencéfalo, o infundíbulo, que derivará a neuro-hipófise, e a bolsa de Rathke, proveniente da faringe, que é responsável pela adeno-hipófise

Aum: 100x

Data: _____

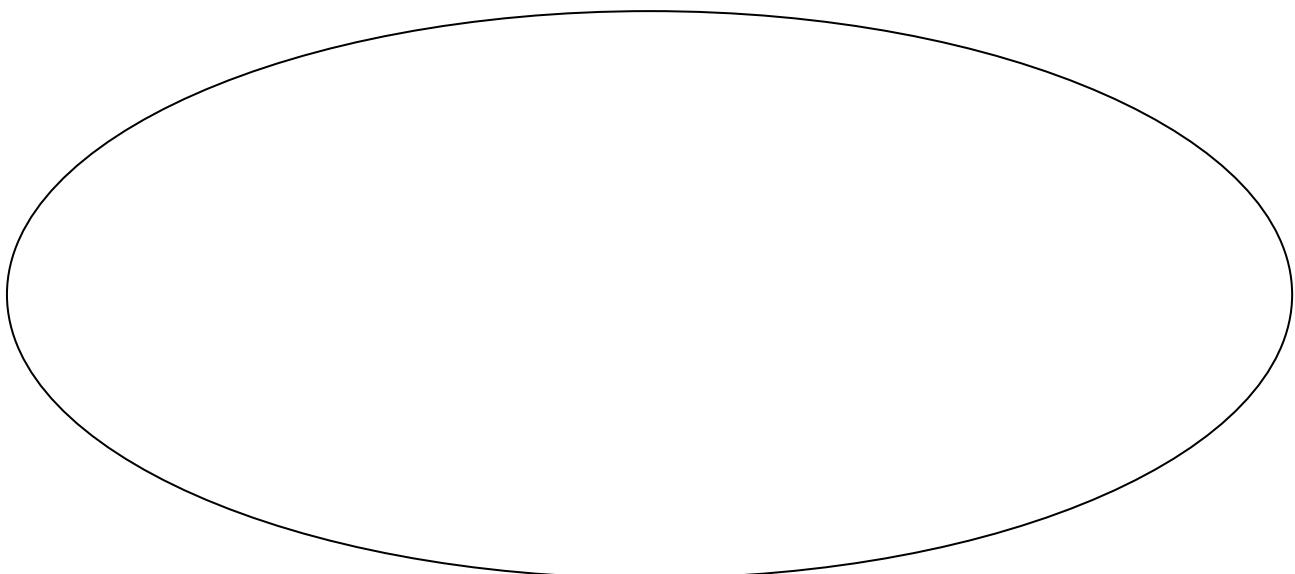
**Unidade: Desenvolvimento humano**

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 72/96h

formação dos olhos: apontar o diencéfalo; as vesículas ópticas invaginadas em cálices ópticos para formar a camada pigmentada e sensorial da retina; as vesículas do cristalino, e o ectoderma de revestimento que derivará a córnea

Aum: 100x

Data: _____

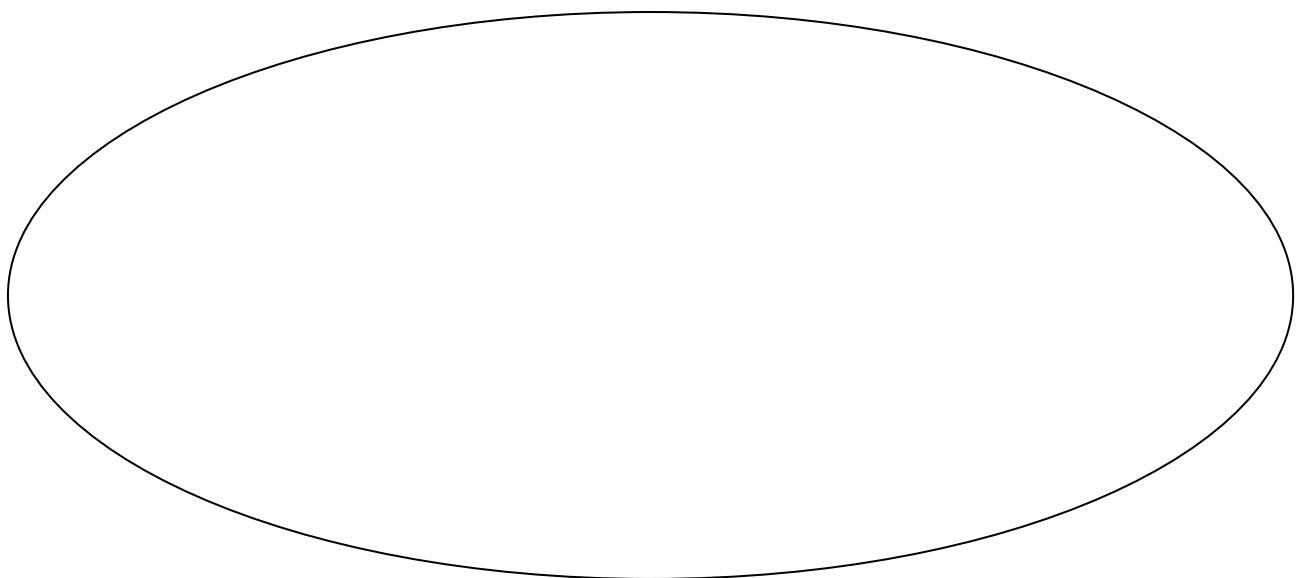


Unidade: Desenvolvimento humano

Lâm. ____ - Embrião de galinha com 72h

organogênese: apontar as vesículas cardíacas, o tubo laringotraqueal e o intestino primitivo

Aum: 100x Data: _____

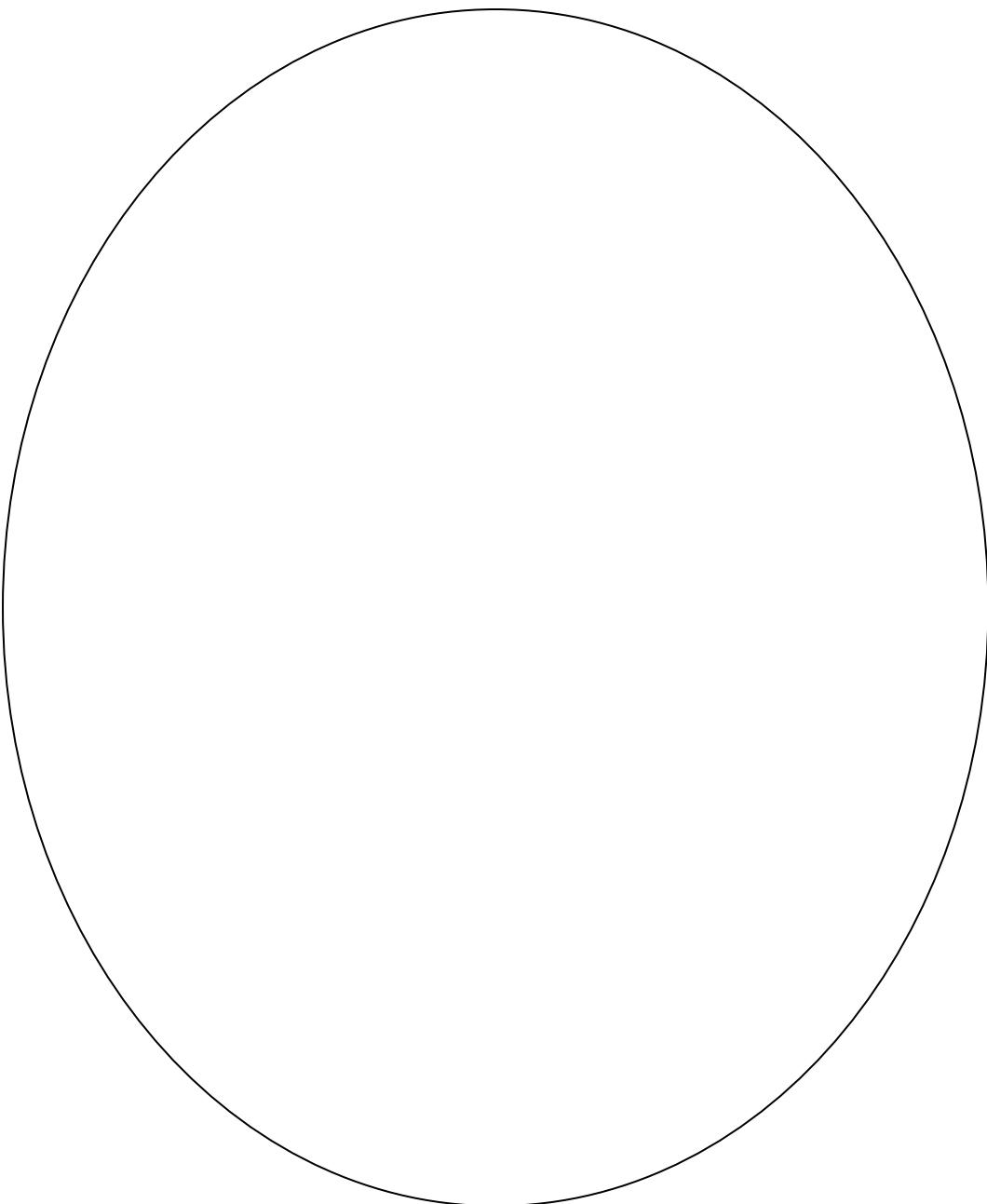


Unidade: Desenvolvimento humano

Lâm. ____ - Feto de camundongo com 18 dias

epiderme, folículos pilosos, vibrissas, encéfalo, olhos, orelha interna, cavidade oral, língua ou alvéolos dentários (conforme o plano de corte), timo, glândulas salivares, vértebras ou costelas (conforme o plano de corte) e membros (ossificação endocondral), coração, pulmões, diafragma, fígado (hematopoese – megacariócitos), estômago, alças intestinais, pâncreas, rim e gônadas (sexo masculino – testículos com cordões seminíferos)

Aum: 10x Data: _____



Unidade: Desenvolvimento humano

Lâm._____ - Feto humano (nove semanas)

apontar os órgãos e as estruturas presentes

Aum: 10x

Data: _____

