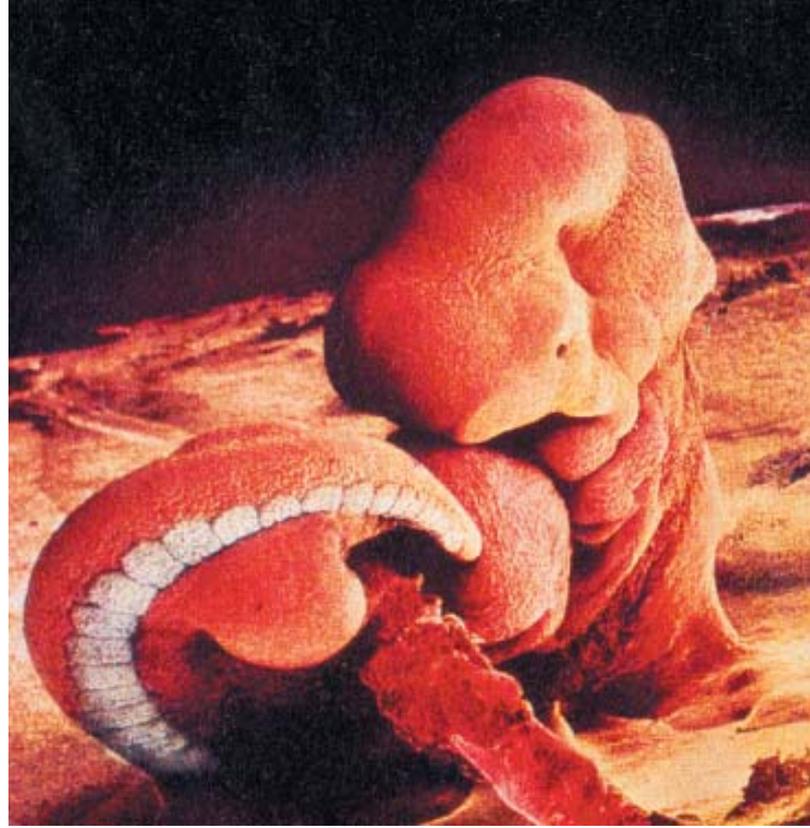


5



EMBRIOLOGIA - BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

RICARDO GHELMAN

Capítulo 5

EMBRIOLOGIA

BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

RICARDO GHELMAN

“Em função do ato da admiração, do maravilhar-se perante os fenômenos, que pessoas começam a filosofar, e maravilhar-se permanece como o princípio do conhecimento”
Aristóteles, primeiro embriologista

“O conceito de um embrião é surpreendente....Para tornar-se um embrião, você tem que construir-se a partir de uma única célula. Você tem que respirar antes de possuir pulmões, digerir antes de possuir intestino, construir ossos enquanto é uma massa e formar ordenadamente uma variedade de neurônios antes de saber como pensar. Uma das diferenças críticas entre você e uma máquina é que uma máquina nunca é chamada a uma função antes de ter sido construída. Cada animal tem que funcionar enquanto constrói a si mesmo.”
Scott F. Gilbert, embriologista e biólogo do desenvolvimento

A **Embriologia**, modernamente, vem sido incorporada a um conceito mais amplo- **Biologia do Desenvolvimento**. Esta ciência se interessa pelo processo, pela transição entre as fases do desenvolvimento biológico, portanto envolve intrinsecamente os referenciais tempo e espaço.

O embrião é a própria metamorfose entre o ser unicelular, ovo fertilizado ou zigoto e o ser complexo multicelular cuja aparência permite o reconhecimento de sua espécie. Em termos mais amplos, o embrião humano é o mediador entre nossos ancestrais, representados pelo genótipo, e o organismo individual, representado pelo fenótipo.

Ao longo do seu desenvolvimento, o embrião humano percorre várias formas corporais que representam os **‘planos corporais básicos’** de várias espécies animais. Os diferentes estágios na **filogenia** (desenvolvimento das espécies) e na **ontogenia** (desenvolvimento individual) são caracterizados pela manifestação de um novo princípio estrutural.

Os gametas possuem o mesmo nível de organização dos protozoários, enquanto o estágio blástula corresponde ao princípio estrutural dos organismos multicelulares, cuja organização esférica contém uma polaridade epitelial, típica das algas (p.ex. *Volvox*). O tipo animal primordial representativo da fase gástrula, caracterizada pelos folhetos ectodérmicos e endodérmicos invaginados, são os celenterados. A formação do mesoderma aparece com os eqinodermas e o ouriço do mar tornou-se um grande modelo para estudo, uma vez que seus gametas

são obtidos com facilidade e em quantidade e seus ovos e embriões são transparentes. O nematódio *Caenorhabditis elegans* possui este mesmo nível de organização e vem se tornando um grande modelo de estudo de mecanismos reguladores da interação celular. A metameria ou segmentação do corpo embrionário é muito bem estudada entre as classes animais que se organizam desta forma, insetos e vertebrados. Os genes envolvidos na segmentação, genes homeóticos, foram primeiramente identificados em *Drosophila* e a seqüência destes genes, expressa em todas as classes de vertebrados, é denominada **homeobox (Hox)**. O desenvolvimento do saco vitelino e seus vasos sangüíneos associados está relacionado à formação do disco embrionário, já presente entre os peixes. Em anfíbios o saco vitelino transforma-se em tubo intestinal e torna-se intraembrionário. A transição bem sucedida das formas animais aquáticas em terrestres foi alcançada com o desenvolvimento da cavidade amniótica nos ovos cleidóicos (contendo os três anexos embrionários: saco vitelino, saco amniótico e corioalantóide) nos répteis, de tal forma que o desenvolvimento pôde permanecer em ambiente aquático. Através do desenvolvimento de uma conexão vascular materno-fetal a partir do anexo corioalantóide, forma-se a placenta entre os mamíferos ditos 'euplacentários', distintos dos mamíferos ovíparos como o ornitorrinco e marsupiais como o gambá. Neste último grupo um desenvolvimento secundário se processa, o dobramento do embrião (Drews, 1995).

Na gestação humana a embriologia se ocupa apenas com o primeiro bimestre, especificamente com as primeiras oito semanas, enquanto a biologia do desenvolvimento não se restringe às etapas embrionárias uma vez que para preservarmos nossa forma fenotípica, eventos aparentemente antagônicos como **mitose e apoptose**, vida e morte celular devem ser coordenados ao longo de toda existência biológica até que a apoptose prevaleça.

Ao nível genético o destino entre a vida e a morte celular depende da expressão de genes como o BCL-2 e apoptina (CPP32), em mamíferos. Enquanto o primeiro gene preserva a integridade celular, o segundo está envolvido com o processo de morte celular programada.

As questões da biologia do desenvolvimento são questões sobre o tornar-se, sobre o vir a ser mais do que sobre o ser. Um geneticista deve perguntar como os genes da miosina são transmitidos entre as gerações, um fisiologista deve perguntar sobre a função da miosina no organismo e o biólogo do desenvolvimento pergunta como eles se tornam ativos apenas em certos momentos no desenvolvimento e apenas em determinadas células.

Segundo Morgan (1920) a genética é a ciência que estuda a transmissão dos traços hereditários, enquanto a embriologia estuda e expressão destes traços. No entanto na última década, a biologia molecular vem aproximando os dois campos e favorecendo a geração da biologia do desenvolvimento como fruto de um diálogo.

A **biologia do desenvolvimento** é uma ciência fascinante, ainda em fase 'embrionária', portanto de rápido crescimento e apenas iniciando seus conhecimentos a respeito das bases moleculares. Ente as ciências biológicas vem assumindo um papel moderno no processo de integração entre diversas disciplinas como biologia molecular, genética, fisiologia, morfologia, imunologia, neurobiologia, oncologia e biologia da evolução, portanto potencialmente relevante no desenvolvimento da ciência nos moldes de uma **transdisciplinaridade**.

I) COMPREENDENDO OS MECANISMOS DA REGULAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO

Um breve histórico

Até o século XVII encontramos quatro disciplinas que se interessam pelos corpos organizados: a filosofia natural, a física, a fisiologia e a história natural. Todas estas disciplinas, de base Aristotélica, possuem como problema central a complexidade dos corpos vivos e animados, o que originará a Biologia, por uma necessidade de separação da Medicina, interessada apenas nas questões terapêuticas.

As concepções a respeito dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento embrionário, historicamente denominado 'geração dos corpos organizados', variam entre as duas hipóteses pilares da embriologia: o **preformacionismo** e a **epigênese**.

O preformacionismo atingiu seu auge no século XVII com a visão de que todos órgãos adultos estariam pré configurados dentro do esperma ou do óvulo. O conceito de desenvolvimento emergiu a partir desta concepção que supunha a 'retirada de envoltórios' (*des envolver*) que envolveriam o embrião. Com o advento do microscópio Hartsoecke, em 1677, publicou em revista científica a descrição do homúnculo presente na porção cefálica do espermatozóide, fortalecendo a teoria do animalculismo (Figura 5.1). Esta teoria se contrapunha a teoria do ovismo, como um duelo entre um grupo 'machista' e um grupo 'feminista', ambos preformacionistas. Estes grupos sugeriam uma infinidade de miniaturas humanóides 'encapsuladas' umas dentro das outras no interior dos gametas de forma quase infinita. Estas teorias encontraram fundamentação científica experimental (microscópio) e filosófica com o princípio de infinidade divisível de René Descartes. No século XVIII o preformacionismo não dispunha, todavia, de boa argumentação para explicar fenômenos como regeneração, variação fenotípica de descendentes e muito menos a geração de 'monstruosidades' a partir de pais 'normais'(teratologia). Um estudo, conduzido por Montpertius no século XVIII, observando as mãos de 8000 habitantes de Berlim em busca da herança de polidactilia, demonstrou que o traço podia ser proveniente de ambos progenitores, prova que refutava as concepções preformacionistas (ovismo e animalculismo).

Uma antiga concepção de bases Aristotélicas ressurgiu como forte hipótese antagônica, a epigênese, propondo que um organismo adulto se desenvolveria a partir de uma forma indiferenciada. Kaspar Friedrich Wolff, embriologista germânico epigeneticista, reconduziu os experimentos clássicos e fundamentais previamente realizados pelo primeiro embriologista, Aristóteles, a observação do desenvolvimento do ovo de galinha. Entretanto Wolff supunha que a continuidade entre as gerações decorresse de uma força essencial, *vis essentialis*, organizadora do desenvolvimento embrionário como uma força magnética.

Enquanto o preformacionismo explicava mais adequadamente a continuidade entre as gerações, a epigênese a suplantava como explicação para os fenômenos de variação da forma dos órgãos.

A partir do esforço conjunto de filósofos como Immanuel Kant e biólogos como Blumenbach, no século XVIII, as duas teorias puderam alcançar um *status* de conciliação que perdura até o nosso século através da idéia de que o desenvolvimento epigenético seria conduzido por instruções preformadas.

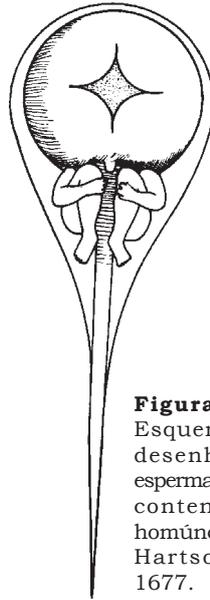


Figura 5.1:
Esquema do
desenho do
espermatozóide
contendo o
homúnculo de
Hartsoecke,
1677.

- O PROCESSO DA MORFOGÊNESE -

As concepções atuais sobre os mecanismos da morfogênese incluem os avanços em biologia molecular e genética.

O desenvolvimento de tecidos e órgãos depende de eventos que envolvem a interação de dois ambientes: extranuclear e intranuclear. Estes 'ambientes' representam as duas grandes áreas da morfogênese, celular e genética.

Área celular da morfogênese:

Compreender as interações celulares é fundamental para explicar fenômenos como diferenciação e migração celular, eventos que envolvem

1. **fatores citoplasmáticos,**
2. **afinidade celular diferencial**
3. **interações a distância via hormonal.**

1. Fatores citoplasmáticos

Segundo Gilbert, o desenvolvimento animal transcorre por dois 'estilos': um estilo em que as células são determinadas pelas células ancestrais, pela sua linhagem, um 'estilo europeu' e pelo 'estilo americano', baseado na determinação do destino celular (diferenciação) por influência direta da vizinhança, estilo característico dos blastômeros na mórula. Abordaremos agora o segundo estilo.

Através dos experimentos conduzidos por Wilhelm Roux (1888) em anfíbios, por Hans Driesch (1892) em ouriço do mar e por Hans Spemann (1918) estabeleceram-se as bases do **desenvolvimento regulativo**, conceito que expressa o papel regulador epitópico, o papel da posição da célula no embrião como determinante de seu destino.

Spemann, ganhador do prêmio Nobel em 1935, demonstrou, em salamandras, que o destino de células neuronais transplantadas na fase de gástrula precoce para a região epidérmica, resultou em células epidérmicas, concluindo que estas células nesta fase apresentam um desenvolvimento

dependente (condicional). Quando o mesmo experimento foi conduzido na fase de gástrula tardia, resultou na manutenção do fenótipo neuronal, demonstrando nesta fase um desenvolvimento celular independente (autônomo). Em função destes experimentos ficou definido o conceito de **indução**, processo através da qual uma região embrionária interage com uma segunda região influenciando o comportamento ou a diferenciação desta segunda região.

Através das pesquisas conduzidas nas décadas de 80 e 90 do século XX, foi definido um complexo processo de orquestração da indução em pelo menos quatro estágios, observada em anfíbios.

O primeiro estágio encontramos na fertilização. Através da fecundação, ocorre uma quebra de simetria radial do ovo não fertilizado, organizado no eixo pólo animal e pólo vegetal. Cinco minutos após a entrada do espermatozóide no citoplasma do ovócito II é observado um movimento citoplasmático que podem ser acompanhado pelos grânulos citoplasmáticos. O movimento se caracteriza por uma rotação de 30 graus do citoplasma cortical, na direção ao ponto de entrada do espermatozóide, em relação ao citoplasma interno. Estes movimentos dependem da interação de microtúbulos orientados pelo centríolo do espermatozóide e de ondas de cálcio, eventos orientados por determinantes morfogenéticos. Ao final da primeira divisão ou clivagem do ovo fertilizado, o embrião se organiza em uma nova ordem de assimetria entre a região de entrada do espermatozóide e uma região de ‘mistura’ de citoplasma animal e vegetal, de tal forma que o citoplasma da região dorsal prospectiva do embrião é distinta da do pólo vegetal prospectivo. Este comportamento ativa os determinantes de dorsalização nas células do pólo vegetal, que compõem um centro de indução primária denominado **centro Nieuwkoop**. No segundo estágio estas células induzem as células do pólo oposto a tornarem-se o **organizador Spemann-Mangold**. Outras células provenientes do pólo vegetal induzem células marginais a diferenciarem-se em mesoderma ventral e lateral. No terceiro estágio o organizador transforma este mesoderma circunvizinho em mesoderma dorsal, que por sua vez induz o ectoderma dorsal a converter-se em tecido neural. No quarto estágio o tecido nervoso induzido se diferencia em prosencéfalo, mesencéfalo, rombencéfalo e medula espinhal a partir do tubo neural, enquanto o ectoderma não induzido torna-se epiderme.

Atualmente a lista de proteínas envolvidas nos processos de indução como **organizadores** vem aumentando e incluem as proteínas citoplasmáticas cordina, nogina, folistatina, *sonic hedgehog*, cerberus e proteínas relacionadas ao nó de Hensen, além das proteínas nucleares *lim 1*, *XANF 1*, *gooseoid* e proteínas relacionadas ao HNF3b.

2. Afinidade celular diferencial

Existem dois grupos principais de células embrionárias, as **epiteliais**, conectadas entre si como camadas ou tubos, e as células **mesenquimais**, que não se conectam entre si e apresentam-se isoladas. Os eventos morfogenéticos que as envolvem podem ser conduzidos por duas formas: através de **substâncias difusíveis** como fatores de crescimento, hormônios e morfogens e através de **contato de superfícies celulares**. Experimentos conduzidos em 1952, utilizando tripsina afim de promover a dissociação entre as células da pele de um embrião de rato com 15 dias, permitindo seu reagrupamento espontâneo, demonstrou que existe uma “reconstrução” ordenada de células, denominada **agregação**

histotípica. Este comportamento, investigado experimentalmente por Steinberg, levou a hipótese de uma **adesão diferencial** a partir dos tecidos recém diferenciados submetidos a variadas combinações *in vitro*. Através dos dados obtidos em 1983, vários autores sugeriram que as tensões de superfície variáveis entre as células determinam seu comportamento hierárquico em base de um modelo termodinâmico de economia de energia celular e que os achados *in vitro* refletem os fenômenos *in vivo* como regeneração de órgãos e tecidos.

Existem três classes de moléculas da membrana celular ou **adesinas**, envolvidas com os mecanismos de adesão:

- **moléculas de adesão celular (MAC),**
- **moléculas de junção celular (proteínas de junção gap),**
- **moléculas do substrato de adesão, (basicamente na matriz extracelular).**

Através das **adesinas** o código genético unidimensional manifesta-se tridimensionalmente, por processos morfogenéticos.

As **moléculas de adesão celular (MAC)** são proteínas envolvidas em adesão célula-célula, capazes de condensar células do mesênquima, assim como formar membranas epiteliais, comumente mediante estabilização de íons de cálcio. Estas proteínas parecem cruciais para a organização das formas animais e são agrupadas em dois grupos: **cadherinas** ou cálcio-dependentes e **imunoglobulinas da superfamília MAC** ou cálcio-independentes.

As cadherinas se utilizam de um grupo protéico intracelular para sua atuação, as **cateninas**, e correspondem a três tipos de moléculas relacionadas a tecidos diferentes: cadherinas-neurais (tecido nervoso, renal, cardíaco e cristalino), cadherinas-placentárias (tecido epitelial e placentário) e cadherinas-epiteliais (também tecido epitelial e blástula de roedores).

As imunoglobulinas da superfamília MAC são glicoproteínas que desempenham um grande papel no desenvolvimento do sistema nervoso seja participando na conexão dos axônios às células musculares alvo como na fasciculação dos axônios para que migrem como unidade. **Anomalias gênicas** envolvendo estas imunoglobulinas podem ser responsabilizadas pelo espectro de anomalias como **hidrocefalia, comprometimento intelectual e incordenação motora dos membros**. Estes anticorpos podem ser agrupados, segundo seu sítio de ação em moléculas de adesão celular neural (N-MAC) associadas ao tecido nervoso, renal e muscular, Ng-MAC (neurônios e glia), neurofascina (neurônios), MAC-célula (hepatócito), LFA-1 (linfócitos) e CD4, receptor do HIV, associado a indução de linfócitos T.

As **moléculas de junção celular** ou **proteínas de gap junction** permitem rotas de comunicação entre o citoplasma de células adjacentes e criam barreiras de permeabilidade entre células epiteliais. A habilidade de algumas células, como blastômeros precoces, de formar *gap junctions* com determinadas células cria 'compartimentos fisiológicos' no embrião em desenvolvimento. As proteínas constituintes das *gap junctions* são as **conexinas**, reguladas pelas cadherinas.

As **moléculas do substrato de adesão** estão relacionadas a conexão entre as células e a matriz extracelular e correspondem tanto a **substâncias da matriz** como a **receptores de membrana celular**. Estas moléculas estão envolvidas com o movimento de células mesenquimais e neurônios assim como a separação de membranas epiteliais. Segundo a hipótese de **afinidade diferencial do substrato**, estas moléculas 'informam' para onde e quando as células devem migrar de acordo com uma afinidade diferencial entre diferentes matrizes e células,

de forma semelhante à interação antígeno-anticorpo.

A membrana basal representa um tipo de matriz extracelular composta pela lâmina basal, secretada pelas células epiteliais, e pela lâmina reticular, secretada pelas células mesenquimais.

Os principais constituintes da matriz correspondem a uma variada família de glicoproteínas como **colágeno** (tipos I, II, III e IV), **proteoglicans** (ácido hialurônico, sulfato de condroitina, dermatina, queratina e heparina), **fibronectina**, **laminina** e **tenascina** ou citotactina. O colágeno participa da formação da lâmina basal (tipo IV) e das ramificações de túbulos epiteliais em órgãos como pulmão. Os proteoglicans, formados por unidades denominadas glicosaminoglicans (GAGs), conferem aos tecidos flexibilidade (em oposição ao colágeno, responsável pela dureza), servem de suporte ao movimento celular e medeiam conexões entre adjacentes tecidos (ver capítulo “Genética Bioquímica”). Os proteoglicans se ligam aos fatores de crescimento, proteínas tipo hormônio, e os apresentam a receptores de membrana. Fibronectina, laminina e tenascina agrupam-se como moléculas de adesão do substrato, com a função de organizar a estrutura que envolve colágeno, proteoglicans e membranas celulares. Outros atributos destas glicoproteínas incluem a migração de células, remodelamento da matriz e mudanças nas formas das células.

Os receptores de membrana celular capazes de integrar moléculas extracelulares, como fibronectina e laminina, com as intracelulares, como talina e a-actinina, permitem movimentos celulares e são chamados **integrinas**. Outro grupo de receptores, as **glicosiltransferases**, são enzimas envolvidas na síntese de glicoproteínas que possuem adesividade perante a matriz extracelular e também participam do processo de migração celular.

Embora cada grupo de adesinas tenha sido apresentado separadamente, em cada evento morfogênético, diversas moléculas participam do processo.

Caminhando cada vez mais para ‘dentro’ dos fatores envolvidos com a morfogênese, devemos estudar a relação entre a membrana celular e o material genético intracelular.

Esta relação, denominada **rota da transdução do sinal**, decorre de um estímulo proveniente de um **ligante**, molécula difusível via sangue ou via célula vizinha, que ativa um **receptor de membrana** que por sua vez ativa, via fosforilação, um **fator de transcrição**, proteína que pode reprimir ou ativar um grupo de genes. Esta rota envolve diversas ‘avenidas’ e uma das rotas mais expressiva é a que utiliza o receptor de tirosina quinase (RTQ) que se liga a ligantes específicos como fatores de crescimento epidérmico e de fibroblasto. Através da ativação deste receptor, a proteína Ras G é fosforilada e inicia-se uma reação em cascata responsável pela proliferação de células. Uma **mutação** desta rota específica, denominada **rota RTQ-Ras**, leva em humanos a condição da **acondroplasia**. Quando os ligantes ou reguladores difusíveis do desenvolvimento, relacionados a diferenciação celular ou morfogênese em geral, trafegam pelo sangue são denominados **hormônios**.

3. Interação celular à distância: hormônios

Os estudos clássicos sobre o desenvolvimento envolvendo hormônios relacionam-se a metamorfose em anfíbios, anuros (salamandra) e insetos. Nos primeiros dois grupos a principal substância é a tiroxina (T3), hormônio tireoideano. Através de estudos na década de 90, ficou definido que o papel da

tiroxina ocorre ao nível da transcrição, promovendo uma ativação precoce de genes receptores do hormônio tireoideano, receptores tireoideanos (RT) que induzem a uma aceleração na metamorfose. Tardiamente o T3 induz a transcrição de RNA para albumina, globina, queratina e *sonic hedgehog*.

A proteína relacionado ao *sonic hedgehog* cumpre um papel essencial na estruturação dos eixos corporais e crescimento dos membros. Os hormônios desempenham, de forma significativa, uma participação no desenvolvimento do sistema nervoso. Estudos conduzidos em insetos (*Drosophila melanogaster*) demonstraram a presença de dois hormônios principais, o hormônio juvenil, repressor da metamorfose de tecido neuronal, e a hidroxiecdisona, secretada pela glândula endócrina protórax, promotora do desenvolvimento neuronal e da metamorfose. A transcrição de regiões de DNA podem ser visivelmente acompanhadas por meio da formação de *puffs* nos cromossomos de células em cultura. Entre nós, mamíferos, os mais detalhados estudos se referem à ação de hormônios como testosterona, insulina, prolactinas e hidrocortisona sobre os tecidos associados aos caracteres sexuais secundários, como tecido mamário, desde a fase embrionária.

Área genética da morfogênese

Embora possamos enumerar profundas diferenças entre os fenótipos de antigos adversários que se degladiam pela mesma ‘sopa’- o *Homo sapiens* e a *Drosophila melanogaster*, ambos possuem a mesma seqüência genética coordenadora do plano corporal e dos padrões de segmentação: os **genes homeobox**. Na língua grega *homeo* significa semelhante e os genes homeóticos da *Drosophila* possuem a habilidade, mediante mutação, de transformar um segmento corporal a semelhança de outro, fenômeno descrito com relação ao gene *bithorax*. Em face a esta surpreendente descoberta, estudar o processo de segmentação da ‘mosca’ significa uma genuína busca na compreensão do desenvolvimento humano.

Os genes de segmentação agem sobre o blastema sincicial, o zigoto da *Drosophila*, através de um sistema de cascata envolvendo quatro grupos de genes de segmentação: os genes maternos, os genes gap, os genes reguladores do pareamento (“pair-rule genes”) e os genes polaridade- segmentação (Figura 5.2).

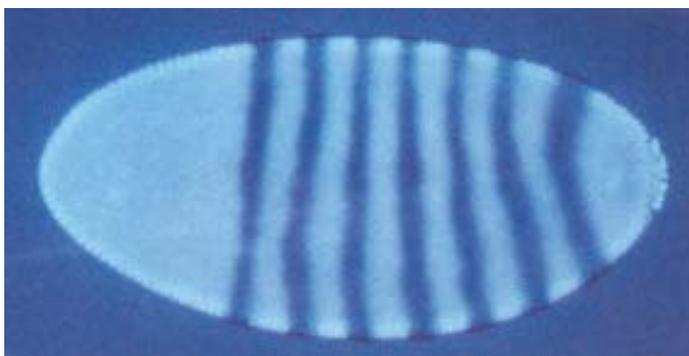


Figura 5.2: Fotomicrografia de embrião de *Drosophila*, evidenciando padrão de segmentação ao longo do eixo antero-posterior através de marcador (proteínas gap), evidenciando os genes reguladores do pareamento como áreas escuras. (de T. Karr, Gilbert, 1997)

Em embriões de aves, presumivelmente também em mamíferos, existe um centro organizador, homólogo ao centro de Nieuwkoop de anfíbios. Esta região, chamada de **zona marginal posterior -ZMP**, possui capacidade de induzir a

formação do eixo do embrião através da formação da linha primitiva. No entanto, o desenvolvimento da linha primitiva e a conseqüente gastrulação depende da expressão do **gene nodal** que se utiliza de organizadores (como *gooseoid* e *lim-1*). Se os **genes *gooseoid*** ou **genes *lim-1*** são **deletados** de embriões de roedores desenvolve-se **anencefalia**.

A especificação do destino exato de cada segmento corporal dos mamíferos assim como do eixo antero- posterior depende dos semelhantes genes homeobox da *Drosophila*.

Enquanto a *Drosophila*. apresenta uma única unidade funcional- complexo genético homeótico (HOM-C), localizado no cromossomo 3, o genoma humano apresenta quatro cópias de HOM-C para cada conjunto haplóide, denominado complexo Hox, diminutivo de homeobox. A expressão dos genes Hox depende do **ácido retinóico** e pode ser observada ao longo do eixo dorsal antero- posterior do embrião no ectoderma superficial, tubo neural, crista neural e mesoderma paraxial (Figura 5.3).

Figura 5.3: Fotografia de embrião de rato de 14 dias, demonstrando regiões ácido retinóico-responsivas (utilizando marcador b-galactosidase): região óptica, mandíbula e regiões interdigitais dos membros. (de J. Rossant)



A administração exógena de **ácido retinóico** em embriões de ratos, em doses teratológicas, leva a **malformações cranio-faciais** podendo ser mimetizada pela expressão do gene *Hoxa-7*. Outras **malformações envolvendo vértebras e costelas** foram observadas em embriões expostos ao ácido retinóico durante a gastrulação. Segundo os estudos de embriologia comparada da coluna vertebral entre aves e mamíferos, pôde ser verificado que cada tipo de gen Hox relaciona-se a um tipo de vértebra. O gen *Hox-5* parece correlacionar-se com a vértebra cervical, o *Hox-6* com a torácica e os *Hox-9* e *Hox-10* com a transição tóraco-lombar.

A partir destes conceitos gerais de morfogênese será mais fácil descrevermos agora o desenvolvimento humano normal e patológico

II) O DESENVOLVIMENTO HUMANO

Um breve histórico

As primeiras publicações a respeito do desenvolvimento embrionário humano datam do começo do século por Keibel e Elze (1908) e Keibel e Mall (1910). Em 1914, iniciando a primeira guerra mundial, Mall, aluno de Keibel, fundou o Departamento de Embriologia do **Instituto Carnegie** em Washington. As descrições das primeiras semanas do desenvolvimento embrionário humano existem a apenas 57 anos, desde que o patologista Hertig e o ginecologista Rock estudaram, entre 1942 e 1956, 210 úteros humanos tendo encontrado 34 sítios de implantação de embriões. Este valioso material foi adequadamente catalogado, mediante preparação histológica, no laboratório do Instituto Carnegie. A coleção de Carnegie incorporou a coleção alemã de Blechschmidt e atualmente todo conhecimento da embriologia humana, não extrapolada de outras espécies animais, provém desta coleção.

Inicialmente Steeter, em 1942, e posteriormente O’Rahilly e Müller, em 1987 classificaram o desenvolvimento embrionário humano em 23 estágios- os estágios de Carnegie.

- PERÍODO EMBRIONÁRIO: SITUANDO NO TEMPO E NO ESPAÇO -

Durante a gestação humana, de 9 meses ou melhor de 40 semanas, o período embrionário ocupa os primeiros 2 meses ou 8 semanas, enquanto os 7 meses restantes, referem-se ao período fetal.

O embrião termina seu desenvolvimento quando adquire características que permitem seu **reconhecimento como ser humano** (Figura 5.4), ou seja, forma arredondada da cabeça, regressão da cauda, olhos em posição frontal e fechados pelas recém formadas pálpebras, pavilhão auricular posicionado na altura dos olhos, membros superiores curvos ao nível dos cotovelos, coxins aparentes nas extremidades distais dos dedos, término da rotação dos membros superiores (abdução) e dos membros inferiores (adução), início da ossificação dos moldes cartilagosos das estruturas esqueléticas dos membros, canalização quase completa da luz do tubo intestinal, cavidade coriônica obliterada pelo crescimento do saco amniótico e definição do sexo gonadal.

O período embrionário pode ser dividido em duas fases:

- **Desenvolvimento precoce**- primeiras três semanas
- **Desenvolvimento embrionário propriamente dito**- quarta a oitava semana

O desenvolvimento precoce, didaticamente, ainda pode ser dividido em três períodos:

‘Primeira semana’: da fertilização ao blastocisto, também denominado período da *migração tubária* (seis dias de duração),

‘Segunda semana’: período da *implantação* do blastocisto, estabelecimento do disco embrionário bilaminar e formação dos quatro anexos embrionários (seis dias),

‘Terceira semana’: estabelecimento do disco embrionário trilaminar através da gastrulação e desenvolvimento inicial dos somitos e neurulação (nove dias).

O desenvolvimento embrionário propriamente dito se inicia com o **dobramento** do embrião na **quarta semana** e segue com a **organogênese**, entre a **quinta e oitava semana**.

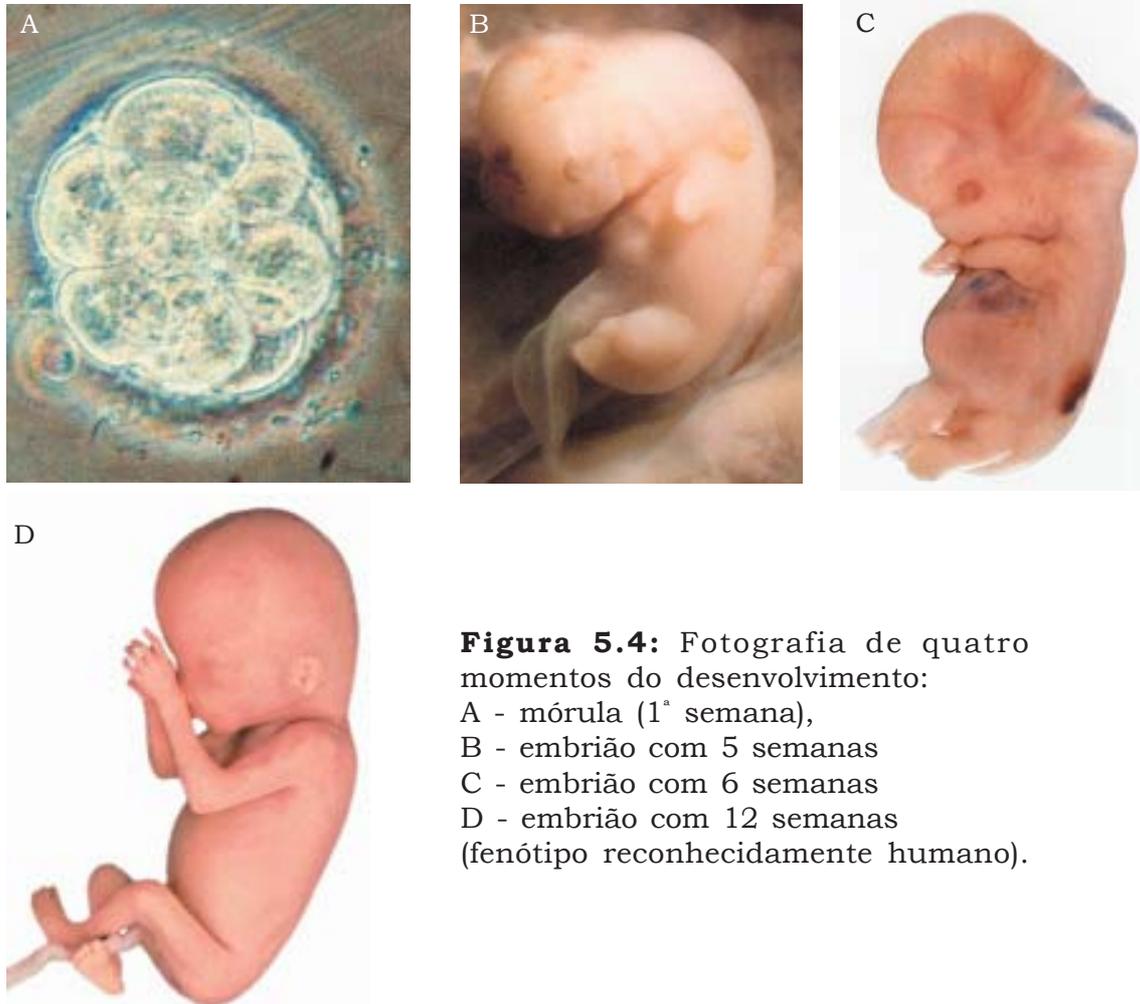


Figura 5.4: Fotografia de quatro momentos do desenvolvimento:

A - mórula (1^a semana),

B - embrião com 5 semanas

C - embrião com 6 semanas

D - embrião com 12 semanas

(fenótipo reconhecidamente humano).

Durante o período embrionário o ser humano passa da condição de um ser unicelular (ovo ou zigoto) medindo 0,1 mm no comprimento para a condição de um ser humano multicelular complexo com coração funcionando desde a terceira semana, sugando o dedo e medindo 3 cm, ou seja, atravessando um crescimento na ordem de 300 vezes. No período fetal, da nona a quadragésima semana, o feto cresce na ordem de 17 vezes atingindo o comprimento final de aproximadamente 50 cm no momento do parto.

- ‘Primeira semana’: Estágios 1,2 e 3 (dias 1 a 5/ 0,1 mm) -

“Cada organismo possui duas histórias- uma filogenética e outra ontogenética. As histórias filogenéticas da ameba e do ser humano podem seguramente ser assumidas como iguais (alguns 3,5 bilhões de anos); entretanto, a história ontogenética do primeiro, ameba, é curta (minutos, horas), do segundo muito longa.”. Estas duas histórias se referem a dois destinos de células: as células somáticas diplóides que realizam uma irreversível diferenciação terminal

(ontogenético) e das **células germinativas primordiais** que, precocemente no desenvolvimento, colocam-se a margem das células somáticas e após meiose formam os gonócitos haplóides (filogenético).

A primeira semana do desenvolvimento humano depende de um ‘encontro’ entre os **gametas** (do grego *gamsz*, **noivos**), frutos da ‘antigüidade’.

Esta antigüidade humana pode ser bem demonstrada em base da conservação do código genético e da antigüidade dos mecanismos de desenvolvimento precoce, como os relacionados aos genes homeobox e ao ácido retinóico, a metameria e a formação de arcos branquiais.

Dois seres humanos sexuados gerarão, através da fecundação, um ser humano fenotipicamente assexuado por praticamente todo período embrionário (exatamente sete semanas) até que as suas gônadas se definam sexualmente e ele se torne fenotipicamente sexuado.

O **período da progênese ou gametogênese**, considerado o primeiro estágio do desenvolvimento humano, se caracteriza pela ‘separação da linhagem germinativa’, migração das aproximadamente 100 células germinativas primordiais, provenientes do endoderma extraembrionário do saco vitelino, para as cristas genitais primitivas. Ocorre, então, subsequente gonadogênese, com diferenciação corticomedular, aumento do número de células germinativas por mitose chegando a mais ou menos 5000, redução do material cromossômico por meiose e maturação estrutural e funcional dos gametas.

Erros na migração das células germinativas primordiais levam ao desenvolvimento dos **teratomas**. Erros no processo da meiose levam as não-disjunções, resultando em **aneuploidias** (trissomias e monossomias)

O ovócito contido no folículo ovariano, 10 horas antes da ovocitação, progride enfim da fase de prófase I para a fase de metáfase II e é liberado do ovário rodeado pela membrana pelúcida (rica em glicocalix) e pelas células foliculares da corona radiata. O folículo ovariano restante resulta no corpo lúteo, local da síntese de estrogênio e progesterona.

Caso ocorra o encontro “kármico” entre o móvel flagelado espermatozóide proveniente da extremidade proximal da tuba uterina e o imóvel gigante ovócito proveniente da outra extremidade (Figura 5.5), pode existir a **fertilização ou fecundação** do ovócito e formação do zigoto (do grego *xngsz*, *par*) através da **singamia**, união dos gametas e **cariogamia**, fusão dos gametas (Figura 5.6).

As imediatas conseqüências da fecundação são o restabelecimento da diploidia (46 cromossomos) e a determinação do sexo genético, em função da presença de cromossoma X ou Y no pró-núcleo masculino. Este encontro possui local e hora marcada, ou seja, na região ampular da tuba e nas primeiras 24 hs de vida do ovócito II.

A fecundação depende de uma série de eventos como **capacitação** do espermatozóide, reações bioquímicas de maturação que dependem da sua permanência no trato reprodutivo feminino por algum tempo e **quimiotaxia** entre ovócito e espermatozóide para, enfim, alcançar a **reação acrossômica**. A reação acrossômica significa um processo de fusão da membrana acrossômica externa com a membrana plasmática do ovócito, mediante liberação de enzimas como acrossina, proteinase ácida, arilaminidase, colagenase e esterase, necessárias para a penetração na membrana pelúcida.

A cariogamia depende de uma série de modificações da membrana citoplasmática, desencadeadas pela reação acrossômica.

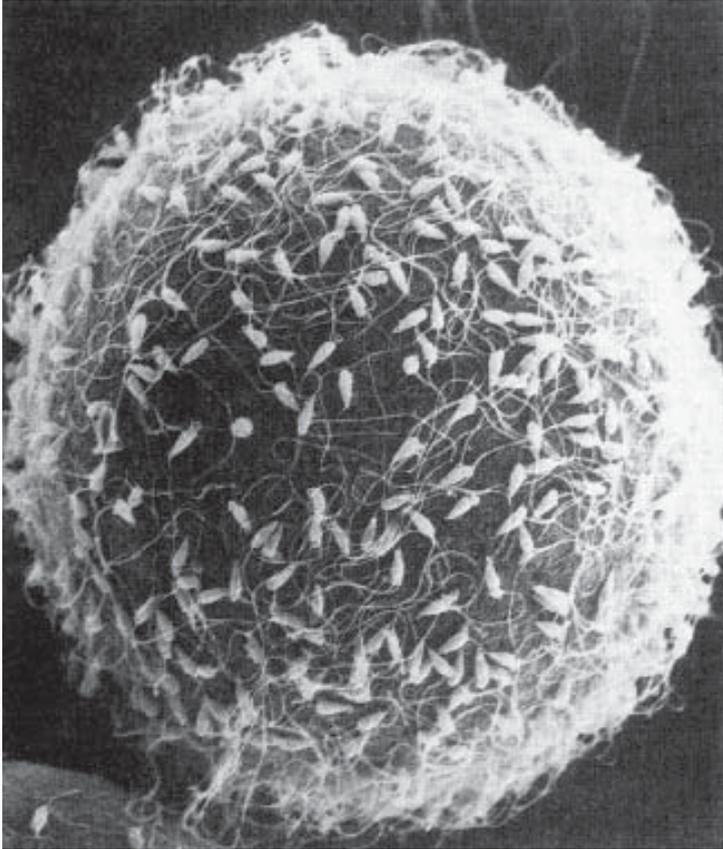


Figura 5.5: Fotomicrografia eletrônica de varredura de um ovo de ouriço do mar recoberto de espermatozoides. (C. Glabe *et al*, 1993)

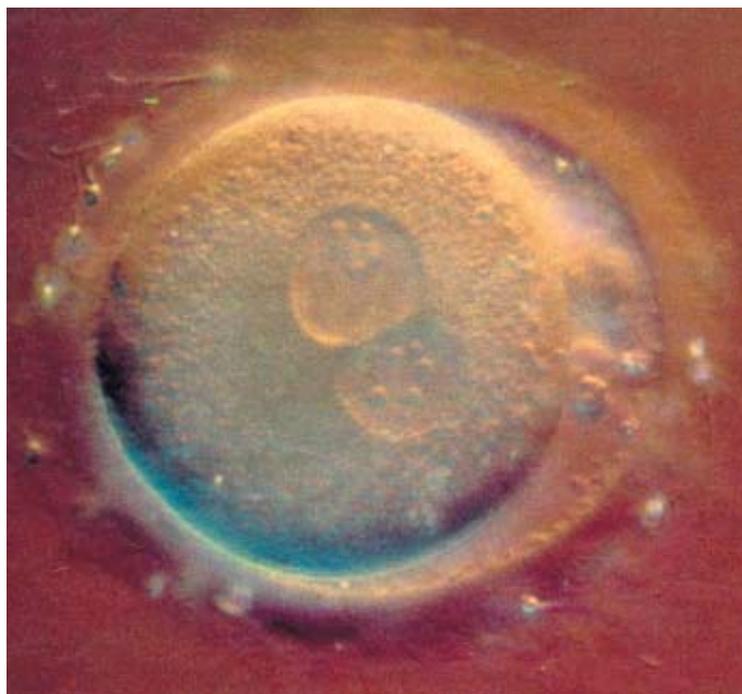


Figura 5.6: Fotografia de um ovo ou zigoto apresentando os dois pró-núcleos em processo de singamía. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)

A cabeça e a cauda do espermatozóide penetram no interior do ovócito II, que logo em seguida finaliza sua divisão meiótica eliminando o segundo corpúsculo polar. O núcleo do recém formado óvulo, torna-se o pró-núcleo feminino., enquanto a cabeça do espermatozóide converte-se em pró-núcleo masculino, enquanto a cauda é digerida. Após perderem suas últimas vestes nupciais, as membranas nucleares, os cromossomos maternos e paternos misturam-se no crossing over durante a metáfase da primeira divisão mitótica do zigoto. O único material genético feminino, herdado sem participação paterna, corresponde ao material intramitocondrial do ovócito (em seguida do óvulo e depois do zigoto), enquanto o RNA mitocondrial paterno, presente na peça intermediária do espermatozóide, parece não contribuir na herança genética.

Logo após a singamia, a membrana citoplasmática do ovócito sofre rápida despolarização prevenindo a entrada de outros espermatozóides, processo denominado bloqueio rápido da polispermia. O bloqueio lento depende, inicialmente, da propagação de uma onda de cálcio a partir do cone de fecundação. O cálcio induz a reação da zona, uma reação a liberação de enzimas contidas nos grânulos corticais intracitoplasmáticos que por sua vez hidrolisam as moléculas receptoras de esperma da zona pelúcida. Assim estrutura-se um “casamento monogâmico”.

O processo de fertilização conduz a uma ativação do metabolismo oxidativo do ovo ou zigoto, necessária ao processo de **clivagem ou segmentação** (Figura 5.7).

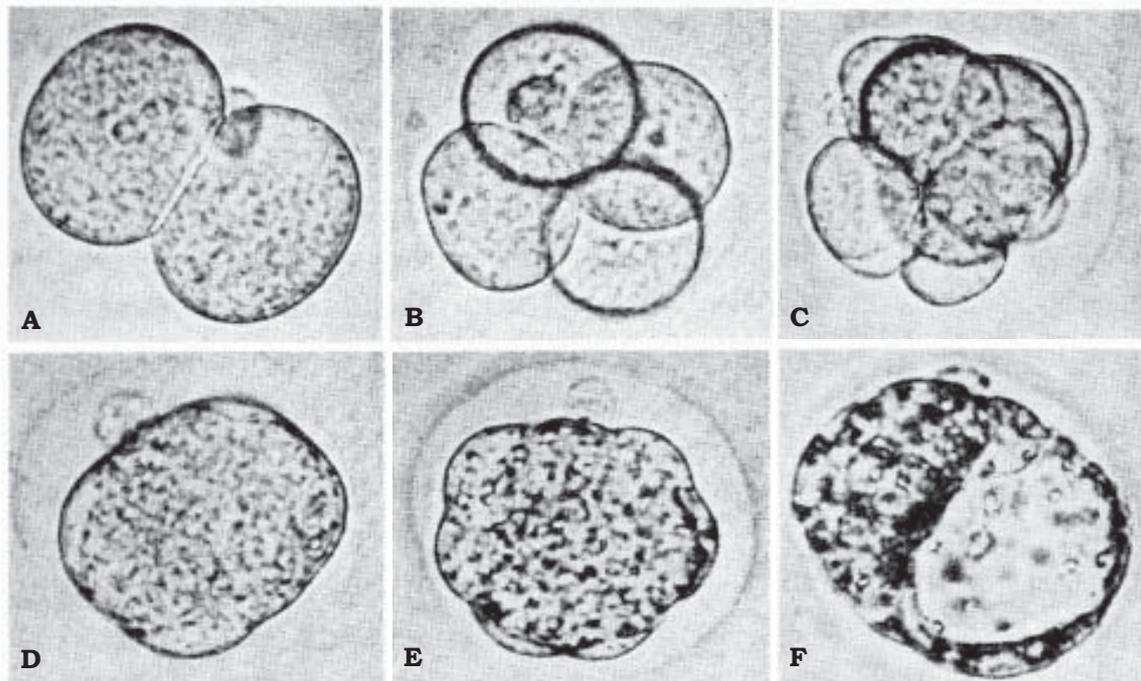


Figura 5.7: Fotomicrografia de luz demonstrando o processo de clivagem de um embrião de rato. (A) estágio de 2 células, (B) 4 células, (C) 8 células, (D) 8 células compactas, (E) mórula e (F) blastocisto. (de Mulnard, 1967)

Durante os primeiros 6 dias o zigoto, envolto pela zona pelúcida, sofre divisões binárias ao longo de seus eixos meridional e equatorial, formando os **blastômeros** (Figura 5.8) e migra em direção ao útero por ação de peristalse tubária. Nesta fase a zona pelúcida mantém a agregação entre os blastômeros, impede a aderência à tuba uterina (impedindo a gestação tubária), protege os blastômeros de agentes físicos, químicos e biológicos, permite a nutrição a partir de secreções tubárias e previne a gemiparidade univitelina.

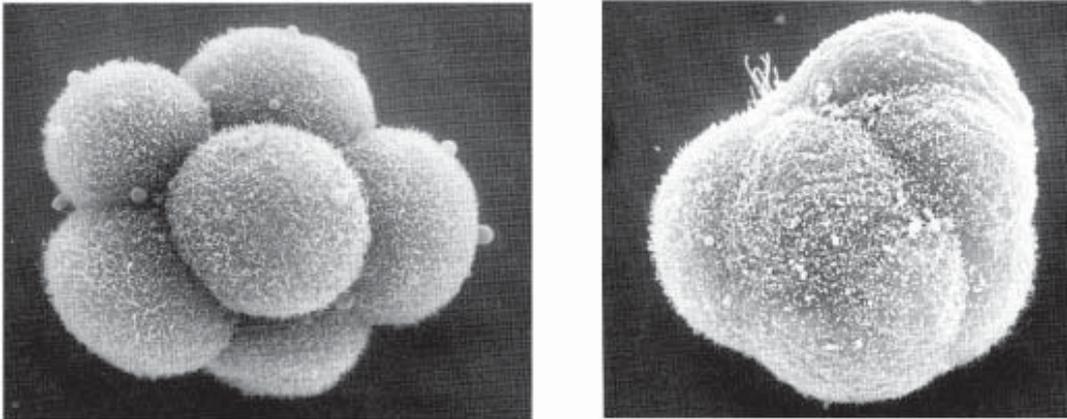


Figura 5.8: Fotomicrografias eletrônicas de varredura evidenciando blastômeros de embrião de rato. (C. Ziomek).

Estudos morfológicos e de autoradiografia demonstram precoces diferenças entre os blastômeros com relação a atividade de transcrição (síntese de RNA), definindo blastômeros ativos e inativos. Segundo estudos experimentais, utilizando transplante de pró-núcleos, verificou-se que o pró-núcleo masculino isoladamente conduz ao desenvolvimento normal de estruturas extraembrionárias e anormal de estruturas embrionárias, enquanto o material feminino promove o contrário. Estes estudos levaram ao conceito de **imprinting parental**, podendo ser paterno ou materno. Exemplo extremo do *imprinting* paterno é a condição da **mola hidatiforme**, condição de desenvolvimento a partir de dois pró-núcleos masculinos na ausência do pró-núcleo feminino. Neste caso existe agenesia ou atrofia do embrião associado a hipertrofia e hiperplasia das vilosidades coriônicas.

Quando o zigoto atinge por volta de 32 blastômeros, através de suas divisões binárias, assume uma forma semelhante a fruta amora, designado **mórula**, cujo maior diâmetro de 0,1 a 0,2 mm não ultrapassa a dimensão do zigoto. As divisões não são necessariamente sincrônicas de tal forma que podem ser visualizados embriões humanos com números variados e ímpares de blastômeros.

O embrião, no estágio 2 de Carnegie- de dois blastômeros até mórula, permite ser manipulado experimentalmente e técnicas de cultura e transplante de embriões tem sido realizadas em seres humanos. A partir do estágio de oito células os blastômeros formam junções gap adquirindo características epiteliais, fundamentais para o desenvolvimento da **compactação** de blastômeros no pólo chamado embrionário (ou animal). Através da grande polarização da mórula em **pólos embrionário e abembrionário** (ou pólo vegetal), forma-se o

blastocisto precoce (Figura 5.9), estrutura contendo de um lado células compactadas, o embrioblasto e de outro lado a **blastocèle**, coleção líquida proveniente de secreções, rodeada pelo trofoblasto (trofos, do grego TROFEIN, nutrição). A definição do destino dos blastômeros, em termos de constituir o embrioblasto ou o trofoblasto parece depender de **campos epimórficos**, ou seja, unidades morfológicamente reativas do organismo em desenvolvimento até levar a estrutura final. Neste caso particular propõe-se a **hipótese dentro-fora**, a partir de experimentos demonstrando que os blastômeros localizados internamente compõem o embrioblasto ou **massa celular interna** e os externos, o trofoblasto ou **massa celular externa**, os externos.

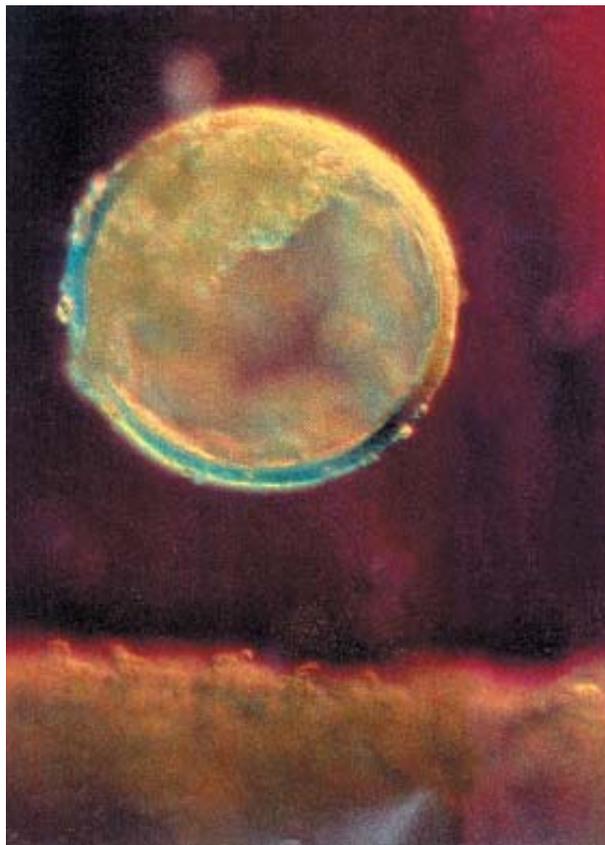


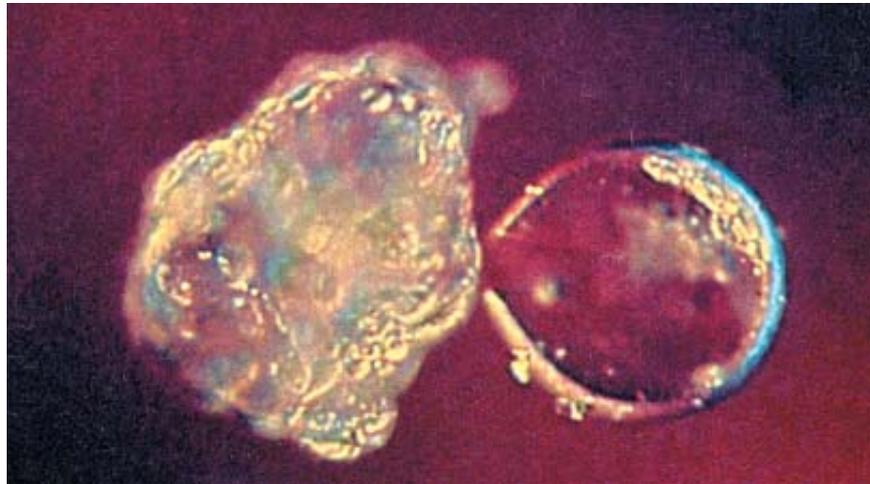
Figura 5.9: Fotografia de um blastocisto humano precoce livre. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)

A formação de irmãos **gêmeos monozigóticos** ou idênticos, representando aproximadamente 30% dos tipos de gemiparidade, depende comumente da divisão completa do embrioblasto em dois; caso a divisão não for completa obtém-se a condição de gêmeos siameses (em homenagem aos gêmeos xifópagos do antigo Reino do Sião). Caso um dos gêmeos xifópagos não se desenvolva, o outro gêmeo, aparentemente de gestação única pode desenvolver **situs inversus**. A condição de *situs inversus* pode ser experimentalmente induzida através da exposição, em embriões de ratos na terceira semana, de um agonista adrenérgico (methoxamina). Este estudo demonstrou que a simetria da linha mediana ou simetria direito/esquerda não depende apenas dos genes homeobox, mas também de receptores a-adrenérgicos, do ácido retinóico e seus receptores, assim como da ação do alelo normal do gene *iv* e do alelo normal do gene da síndrome de Kartagener.

Característico dos vertebrados superiores é a ausência de uma rígida determinação precoce do eixo corporal, como verifica-se nos vertebrados inferiores, até a formação do embrioblasto na primeira semana, cuja face voltada para a blastocele definirá a superfície ventral enquanto a face contrária voltada para o trofoblasto definirá a superfície dorsal. O eixo longitudinal, definindo região cranial e caudal só aparecerá na segunda semana e a simetria bilateral, na terceira semana.

O blastocisto precoce penetra na cavidade uterina e **eclode da membrana pelúcida** (Figura 5.10), amadurecendo em **blastocisto tardio**, apto a **implantação** ou **nidação** no endométrio uterino, caso esteja em plena fase secretora. A blastocele, formada pela secreção das células trofoblásticas, vem a ser denominada **cavidade do blastocisto** e com a eclosão da membrana pelúcida toda estrutura do blastocisto se expande a 0,25 mm de diâmetro, com penetração de fluidos na sua cavidade.

Figura 5.10: Fotografia do processo de eclosão do blastocisto em relação a membrana pelúcida. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)



- 'Segunda semana': Estágios 4 e 5 (dias 5 a 12/ 0,1 a 0,2 mm) -

A segunda semana se caracteriza pelo desenvolvimento do trofoblasto, pelo desenvolvimento dos quatro anexos que irão servir como nutrição, proteção, continente para que o embrião, o conteúdo, se desenvolva na terceira semana. Enquanto na primeira semana formou-se o embrião "unilaminar", o embrioblasto, na segunda se forma o embrião "bilaminar" e o conceito (embrião e anexos).

O estágio 4 de Carnegie se caracteriza pelo contato e aderência do blastocisto com a mucosa endometrial no quinto ou sexto dia após a fecundação. Esta aderência depende da ação conjunta do fator de crescimento epidérmico, do fator de ativação plaquetária, da fibronectina e de outras glicoproteínas. O estágio 5 corresponde a implantação e formação do disco bilaminar.

Implantação (entre os dias 6 e 9)

No ponto de contato entre o blastocisto e a mucosa uterina, as células trofoblásticas do pólo embrionário sofrem uma diferenciação em **sinciciotrofoblasto** que penetra no epitélio endometrial. Esta diferenciação se caracteriza pela formação de uma massa de células gigantes multinucleadas invasoras, com poliploidia, a partir de um processo de

cariocinese não acompanhada de citocinese. Não é difícil imaginar uma transformação maligna, e de fato encontramos nos **coriocarcinomas** tumores malignos provenientes do trofoblasto e assim como a mola hidatiforme correspondem a um *imprinting* paterno (dois pró-núcleos paternos).

O sinciciotrofoblasto, de comportamento agressivo sobre a mucosa uterina, emite microvilosidades com capacidade proteolítica e fagocítica em direção aos vasos maternos provocando microhemorragias e estabelecendo o início da circulação materno-fetal. A síntese de **gonadotrofina coriônica** por parte do sinciciotrofoblasto, inibe a regressão do corpo lúteo e o converte em corpo gravídico, fundamental para a manutenção da gestação.

Enquanto penetra no epitélio uterino, o blastocisto colapsa e o trofoblasto que não entra em contato com a mucosa uterina forma uma camada interna de morfologia tipo epitelial baixa preservando as membranas citoplasmáticas, o **citotrofoblasto**. Como apenas as células do citotrofoblasto se dividem, o sincício cresce por adição de células provenientes do citotrofoblasto. O sinciciotrofoblasto, de início compacto, se espalha para dentro da mucosa criando cavidades interligadas, preenchido por sangue materno, e passa a ser designado **trofoblasto lacunar**- assim estabelece-se a **circulação uteroplacentária**. No nono dia o blastocisto está quase totalmente implantado na parede posterior do útero.

A formação do disco bilaminar e dos anexos embrionários

Durante a implantação o embrioblasto começa a se diferenciar em duas camadas. No oitavo dia as duas camadas estão bem distintas: uma camada externa de células colunares adjacentes ao citotrofoblasto, o **ectoderma** primário, e uma camada interna de células cubóides voltadas para a cavidade do blastocisto, o **endoderma** primário. Dados sugerem que a determinação da origem destas células ainda no embrioblasto, depende de condições epitópicas, ou seja, de localização. Logo que formadas, as duas camadas se delimitam por uma membrana basal extracelular.

Um líquido começa a ser coletado entre as células ectodérmicas formando a primeira cavidade da segunda semana, a **cavidade amniótica**. Esta cavidade começa a ser revestida internamente pelos amnioblastos, criando a membrana amniótica e preenchida pelo líquido amniótico. Esta cavidade, de início tão tímida, irá ao final do período embrionário envolver todo embrião e será chamada 'bolsa das águas'.

Simultaneamente, as células do endoderma migram para preencher a cavidade do blastocisto, previamente revestidas de citotrofoblasto, formando o endoderma extraembrionário (**membrana exocelômica** ou **membrana de Heuser**) e a cavidade por ela preenchida agora denomina-se **saco vitelino primário (cavidade exocelômica)**.

Em seguida, após o 12º dia, o **retículo extraembrionário**, um material acelular, começa a ser secretado entre a membrana exocelômica e o citotrofoblasto.

Entre os dias 12 e 13 o retículo extraembrionário começa a ser preenchido por **mesoderma extraembrionário**, células de origem controversa, enquanto se forma a **cavidade coriônica** a partir do coalescimento de vacúolos (vacuolizaçãzo) do retículo. O mesoderma extraembrionário reveste as duas superfícies da cavidade coriônica, uma voltada para o endoderma extraembrionário e outra voltada para o citotrofoblasto.

O embrião, “achatado” entre as cavidades amniótica e vitelina, fica suspenso por um pedículo de mesoderma extraembrionário, denominado pedículo conectivo.

O **saco vitelino definitivo** ou secundário é formado, no 12º dia, por uma segunda onda de migração celular proveniente do endoderma primitivo, que promove um “estrangulamento” do saco vitelino primário, dividindo-o, no pólo embrionário, em saco vitelino definitivo revestido pelas células da segunda onda e, na extremidade abembrionária, em vesículas exocelômicas, produto da degeneração do saco vitelino primário (Figuras 5.11 e 5.12).

O saco vitelino definitivo desempenha um enorme papel no desenvolvimento, sendo a maior estrutura embrionária até a quarta semana. O mesoderma extraembrionário que o recobre externamente corresponde ao primeiro sítio de **hematopoiese** e o seu endoderma, como já mencionado, é fonte das células germinativas primordiais. A persistência do saco vitelino após o nascimento leva a condição patológica chamada **divertículo de Meckel**.

O alantóide (do grego ALANTOIS, forma de linguiça) corresponde a uma evaginação da futura região caudal do saco vitelino, cuja função e forma são bem desenvolvidas em aves, répteis e mamíferos mas não em seres humanos. O papel principal deste anexo é a excreção.

Tamanho Original

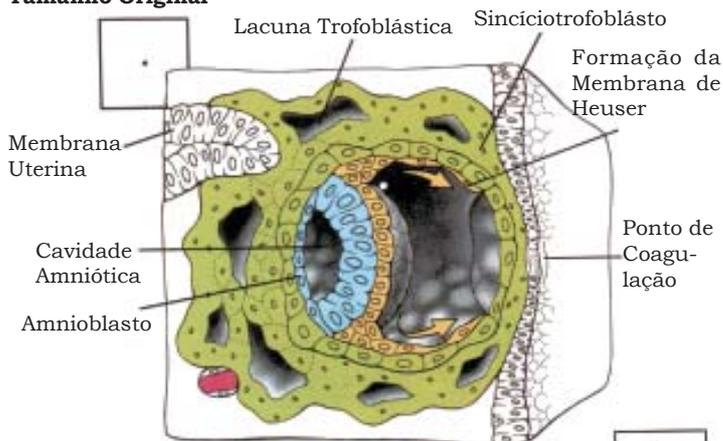
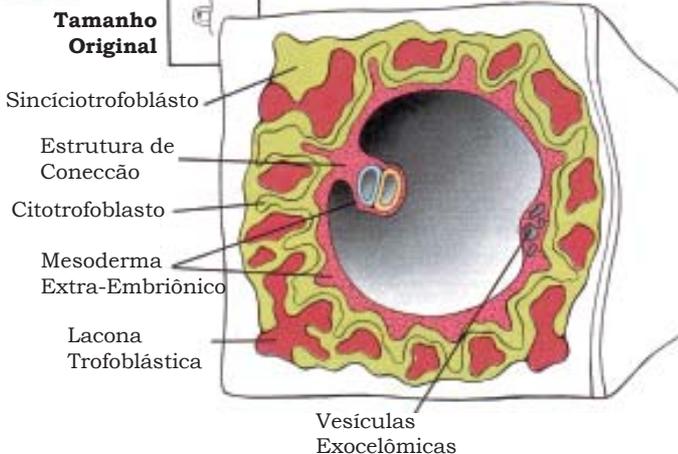


Figura 5.11 (esq.): Desenho do embrião de nove dias, implantado no endométrio. Notar blastocele de um lado sendo preenchida pelo endoderma extraembrionário e do outro lado, ectoderma primitivo formando a cavidade amniótica através da diferenciação em amnioblastos. Note as lacunas trofoblásticas surgindo no sinciciotrofoblasto.

Figura 5.12 (dir.): Desenho do final da segunda semana demonstrando disco embrionário com saco vitelino ventral e amniótico dorsal, suspensos na cavidade coriônica pelo pedículo conectivo. Notar, no pólo oposto, a presença das vesículas exocelômicas mergulhadas no mesoderma extraembrionário e os constituintes trofoblasto (cito, sincicio e lacunas).



O **sistema circulatório uteroplacentário** começa a se desenvolver a partir da **placenta**, uma estrutura composta por componentes embrionários

e maternos, promovendo uma troca de metabólitos e gases. O componente embrionário da placenta corresponde a parede da cavidade coriônica, o mesoderma extraembrionário e o trofoblasto, e do lado materno pelo endométrio. O exato estabelecimento das trocas depende dos seguintes eventos:

1. formação do trofoblasto lacunar (dia 9) e formação de sinusóides preenchidos por sangue materno (dia 11),
2. citotrofoblasto prolifera em projeções digitiformes, revestidas de sincício, para dentro das lacunas de trofoblasto, chamadas **vilosidades primárias** (dia 13),
3. vilosidades adquirem cerne de mesoderma extraembrionário, agora **vilosidades secundárias** (dia 16),
4. diferenciação de vasos sangüíneos no mesoderma das vilosidades, agora **terciárias** (dia 21) e
5. conexão dos vasos das vilosidades com os vasos formados no córion, conectando pedículo e embrião.

Assim as trocas materno- fetais devem ultrapassar quatro barreiras: endotélio capilar das vilosidades, tecido conjuntivo frouxo mesodérmico da vilosidade, citotrofoblasto e sinciciotrofoblasto. O estabelecimento da circulação uteroplacentária, portanto, avança da segunda para a terceira semana.

- ‘Terceira semana’: Estágios 6, 7, 8 e 9 (dias 13 a 21/ 0,2 a 2,5 mm) -

Uma vez que a periferia do embrião foi construída- o ‘continente dos quatro anexos’, o conteúdo, o próprio embrião, um espaço plano oval quase virtual entre duas esferas (a cavidade amniótica sobre a sua superfície dorsal e a cavidade vitelina sob seu ventre), pode se desenvolver.

O embrião bilaminar da segunda semana será o embrião trilaminar, definitivo, na terceira semana.

Tudo começa com a linha primitiva (estágio 6).

No dia 15 um discreto sulco aparece na linha mediana, na extremidade caudal da região dorsal do embrião. Na sua extremidade cranial, forma-se uma **fosseta primitiva**, rodeada por uma elevação de células, o **nó primitivo** ou **nó de Hensen**, rico em ácido retinóico. Este conjunto é designado **linha primitiva**. A topografia da linha primitiva revela a organização do embrião nos eixos da tridimensionalidade: eixo dorso- ventral, eixo crânio- caudal e eixo direito- esquerdo (Figura 5.13).

Gastrulação

A gastrulação significa o processo de estabelecimento dos três folhetos embrionários, ou seja, a geração do disco embrionário trilaminar. No 16º dia, células do ectoderma primitivo migram ventralmente **para dentro da linha primitiva**, invadem e substituem o endoderma primitivo por uma segunda geração tecidual, o endoderma definitivo. Em seguida uma nova onda de migração a partir da mesma região ectodérmica se deposita entre as duas camadas (ecto/ endo), compondo o **mesoderma intraembrionário** (Figura 5.14). Segundo uma hipótese, os mesodermas intra e extraembrionário possuiriam a mesma região de origem, apenas em momentos diferentes. O embrião possui agora os três

clássicos folhetos definitivos: ectoderma, endoderma e mesoderma, todos derivados do ectoderma primitivo.

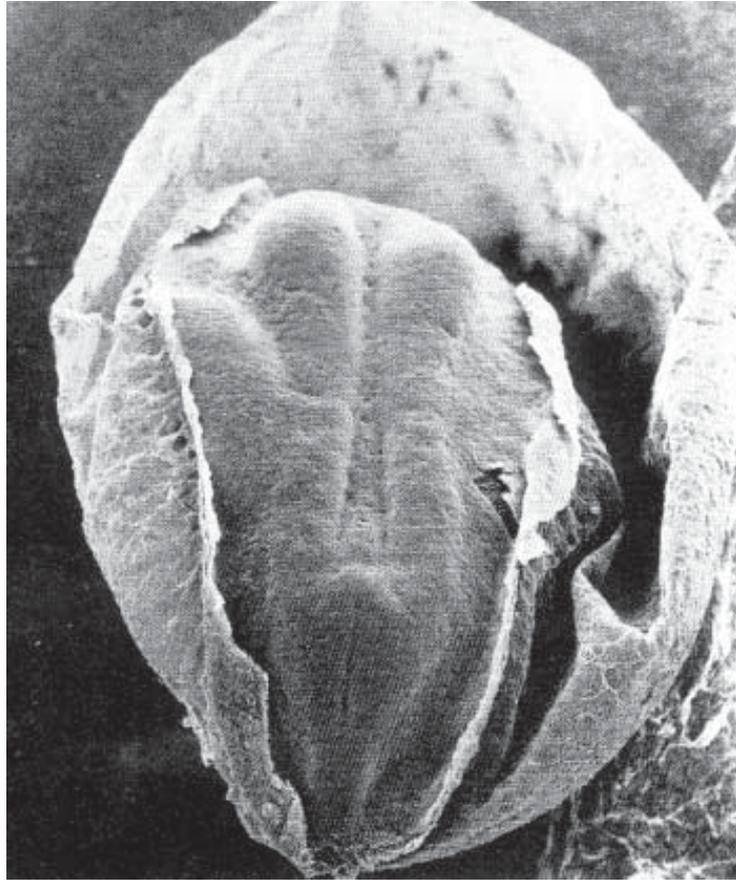


Figura 5.13: Micrografia eletrônica de varredura da face dorsal ectodérmica de um embrião primata de 19 dias, demonstrando a linha primitiva caudal às pregas e ao sulco neural. (de Tamarin A., 1983. J. Anat.,137:765)

Segundo Larsen os estudos destes complexos eventos de migração e diferenciação celular dependem de técnicas de marcação celular e estudos de linhagem celular (descendentes clonais). Foi demonstrado que específicas áreas do ectoderma primitivo pré-gastrulação já possuem um destino traçado por marcadores, formando um **mapa de destino (fate map)**.

As células do mesoderma recém formadas adotam uma ordenada posição como camada intermediária, criando de início duas estruturas a partir da fosseta primitiva, na linha mediana: **a placa précordal** e o **processo notocordal. (estágio 7)**

A placa précordal corresponde a uma massa de células mesodérmicas que se localiza cranialmente ao processo notocordal, uma estrutura cilíndrica e oca, cranial a fosseta primitiva. O processo notocordal, mantendo-se unido a fosseta primitiva (que adiciona células a sua extremidade caudal), cresce em direção cranial enquanto a linha primitiva regride em dimensões tanto absoluta como relativa. Enquanto no 16 °dia a linha primitiva corresponde a 50% do comprimento embrionário, no 22° dia a apenas 10 a 20%, desaparecendo no 26° dia. Todavia, no 20°dia, a linha primitiva produz uma massa de mesoderma na região caudal da linha mediana, a **eminência caudal**, responsável pela formação das estruturas mesodérmicas caudais do corpo, assim como pela porção mais caudal do tubo neural (abaixo de S2).

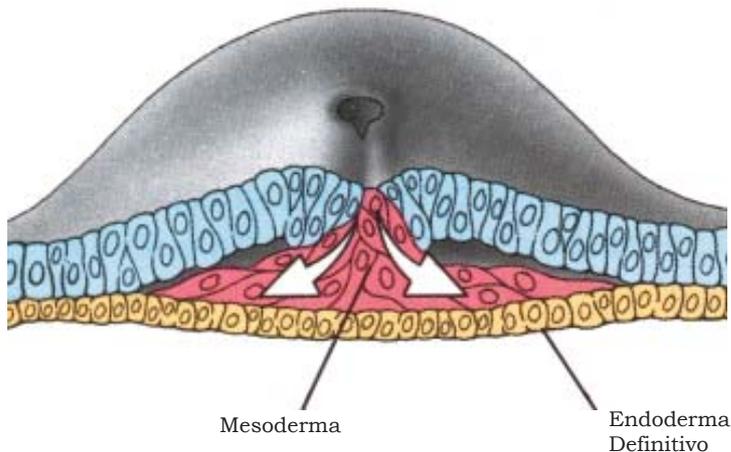


Figura 5.14: Desenho de um corte transversal ao nível da linha primitiva, demonstrando o processo de gastrulação.

A fosseta primitiva cresce, por invaginação, no processo notocordal criando um canal com fundo cego, o **canal notocordal**. Com a fusão do processo notocordal com o endoderma subjacente e subsequente desintegração da região epitelial fundida, as células do processo notocordal migram para o teto do saco vitelino formando a **placa notocordal**. O canal, então, que estabelece uma ligação entre a cavidade amniótica ectodérmica e o saco vitelino endodérmico denomina-se **canal neuroentérico** ou **canal axial**. **(estágio 8)**

O processo notocordal converte-se, entre os dias 16 e 22, em um cilindro maciço denominada **notocorda** (Figura 5.15).

A presença da notocorda durante alguma fase do desenvolvimento, é de tamanha **importância para toda a evolução** que divide todos os animais em dois grupos, os que a possuem- **vertebrados**, e os que a não possuem- **invertebrados**.

A única estrutura corporal definitiva, originária da notocorda, é o **núcleo pulposo** do disco intervertebral. Evidências apontam, entretanto, que na primeira infância as células originais do núcleo são substituídas pelo tecido conjuntivo circundante.

Em apenas duas regiões do disco embrionário o ectoderma e o endoderma se aderem de tal maneira que impedem a participação do mesoderma- a **membrana bucofaríngea**, cranial a placa pré-cordal, e a **membrana cloacal**, caudal a linha primitiva. A membrana bucofaríngea se degenera na quarta semana para formar a cavidade oral, enquanto a membrana cloacal se desintegra apenas na sétima semana para originar a abertura anal e urogenital.

A migração das células do mesoderma, lateralmente ao eixo da notocorda (mesoderma axial), definirá três regiões de cada lado ao longo do eixo longitudinal do embrião:

- 1) um par de condensações cilíndricas justas laterais à notocorda, o **mesoderma paraxial**,
- 2) um par cilíndrico, lateral ao primeiro, o **mesoderma intermediário** e
- 3) uma camada plana que preenche o embrião restante, o **mesoderma lateral** (Figura 5.15).

O mesoderma paraxial dará origem ao esqueleto axial, musculatura estriada esquelética do tronco e extremidades e parte da derme da pele. O

mesoderma intermediário originará a maior parte do aparelho urogenital, por isso também é chamado **mesoderma urogenital**. O mesoderma lateral logo se divide em duas camadas (somática e esplâncnica) ao redor de uma cavidade central denominada **celoma intraembrionário**. O mesoderma somático se une ao ectoderma (formando a somatopleura) e o mesoderma esplâncnico ao endoderma (formando a esplancnopleura). A somatopleura participa isoladamente da composição do tecido conjuntivo (incluindo derme e musculatura) da parede ventral, além das costelas, do esterno e dos membros, enquanto a esplancnopleura participa da formação musculatura lisa, do córtex adrenal, do coração e do tecido conjuntivo dos sistemas digestório e respiratório.

Embora o **estágio 9** de Carnegie se caracteriza pelo início da formação dos somitos (primeiros três), o período somítico pleno (90% dos somitos) se concentra na quarta semana.

Início da Neurulação

O mesoderma axial, representado pela placa précordal e pela notocorda, liberam substâncias organizadoras que induzem a diferenciação do ectoderma superficial em **placa neural**, um epitélio neural ou **neurectoderma**, precursor do sistema nervoso central. A extremidade cranial da placa neural formará o encéfalo, e mesmo na terceira semana, constrições desta região definem os primórdios das três vesículas encefálicas: **prosencéfalo**, **mesencéfalo** e **rombencéfalo**. A porção caudal da placa neural originará a medula espinhal (Figura 5.13).

A circulação sanguínea

O crescimento e o desenvolvimento embrionário se processam de maneira tão impressionantemente rápida, durante a terceira semana, que o suprimento nutricional proveniente do saco vitelino e por meio de difusão não suportam mais o processo. Surge, então, a necessidade da estruturação de um **sistema cardio- circulatório e sangüíneo**.

Enquanto a morfogênese do coração e dos grandes vasos provém , no 19° dia, do mesoderma intraembrionário, o sangue e os pequenos vasos se desenvolvem, no 17° dia, do mesoderma extraembrionário, por isso o último será apresentado primeiro.

A formação dos vasos sangüíneos e do sangue se inicia por agregação de células do mesoderma extraembrionário do, envoltivo do **saco vitelino**, chamadas **ilhotas sangüíneas**. As células periféricas das ilhotas se diferenciam em **células endoteliais** (formadoras de vasos) e as células centrais, em **hemoblastos** (formadoras de sangue). As ilhotas se interconectam criando uma rede vascular que invade o saco vitelino, o pedículo conectivo e as vilosidades coriônicas e que se agrupa em vasos maiores (**canais vasculares primitivos**).

Após dois dias (19° dia) a **vasculogênese** se processa dentro do embrião, no mesoderma esplâncnico, sem a hematopoiese associada. As células deste mesoderma intraembrionário, os **angioblastos**, se unem para formar os **angiocistos** que por sua vez se reúnem para originar os **cordões angioblásticos**. Os cordões angioblásticos formam redes de **plexos angioblásticos** que se desenvolvem em três direções: vasculogênese contínua, angiogênese (neoformação vascular) e troca de células mesodérmicas das paredes vasculares.

A **hematopoiese**, iniciada no saco vitelino e alantóide, geralmente é assumida, na fase fetal, pelo fígado e baço e apenas no sétimo mês da gestação passa a ser assumida pela medula óssea. A vasculogênese, mediante indução do endoderma, pode ser realizada por todos os tipos de mesoderma intraembrionário, exceto o da placa pré-cordal e o da crista neural. Este sistema vascular, em sentido centrípeto, se encontrará com o sistema cardio-vascular, de sentido centrífugo, para que o plano circulatório primitivo se estabeleça.

A **cardiogênese** corresponde a uma vasculogênese (induzida pelo endoderma do intestino anterior) que se processa no mesoderma esplâncnico na **área cardiogênica** (em forma de arco de ferradura, cranial e lateral à membrana bucofaríngea e à placa neural). Nesta região forma-se o **primórdium cardíaco**, em realidade sinônimo dos **tubos endocárdicos laterais**. Ainda na **região cefálica**, os tubos endocárdicos se conectam, através de sua extremidade cranial, com os **arcos aórticos**-tratos de saída do coração primitivo. Três pares de veias se conectam com a extremidade caudal, de entrada, dos tubos endocárdicos: as **veias vitelinas** (do saco vitelino), as **veias umbilicais** (sangue oxigenado da placenta) e as **veias cardinais comuns** (drenagem da cabeça e parede corporal).

O dobramento céfalo-caudal e latero-lateral do embrião, na quarta semana, conduz os tubos endocárdicos à região torácica onde se fundem, na linha mediana, para formar o **tubo cardíaco primário**.

As células miocárdicas, em diferenciação, iniciam uma contractilidade no 21º dia de vida do embrião, permitindo o início do **batimento cardíaco, primeiro órgão a funcionar** ainda em plena formação.

A subsequente cardiogênese envolve complexos processos de diferenciação, remodelagem, dobramento, septação e rotação entre a quinta e a oitava semanas. Durante este período ontogenético de organogênese, o ser humano adquire, transitoriamente, fenótipos cardíacos semelhantes aos de peixes (tubos endocárdicos fundidos, dilatados e não dobrados), de répteis (coração dobrado, porém não totalmente septados) até alcançar o fenótipo mamífero (dobrado e septado com quatro câmaras). No entanto a maturidade cardíaca, dependente da perfeita separação entre a circulação pulmonar e sistêmica, só se processa exatamente no momento do parto.

As **anomalias congênitas relacionadas a terceira semana** incluem gastrulação anormal.

Em recente artigo, O'Rahilly e Müller (1989), discutem a origem da ciclopia e da sirenomelia em termos de eventos do *plano mediano*. **Sirenomelia** é uma anormalidade da formação mesodérmica na **eminência caudal**. Até o fechamento do tubo neural, a eminência caudal participa do mesoderma que forma a notocorda, os somitos, os brotos dos membros inferiores, o períneo, os vasos sanguíneos e a placa neural. A interferência nos eventos morfogenéticos na eminência caudal pode levar às seguintes malformações: malformação das vértebras coccígeas, cordomas (restos de notocorda), teratoma coccígeo e apêndice caudal, anomalias anoretais (anus imperfurado e atresia retal, associado a Síndrome Duhamel de displasia caudal), defeitos sacrais familiares (geralmente envolvendo teratomas benignos), agenesia sacral associada a ciclopia e cebocefalia, agenesia renal uni ou bilateral, displasia mesodérmica axial (envolvendo complexo de Goldenhar e "regressão caudal"), malformações vertebrais e, finalmente, a sirenomelia (membros de sereia). A sirenomelia, defeito da linha mediana no estágio 11 de Carnegie,

curso com monopodium, simpodium ou rudimentos dos membros inferiores, ausência de tecidos como estruturas sacrococcígeas, perineo, bexiga, intestino posterior, associado a agenesia renal e anomalias vertebrais.

As associações entre malformações caudais e anomalias craniais, podem ser elucidadas à luz da origem embrionária das estruturas envolvidas. A associação **VATERL**, incluindo defeitos **Vertebrais**, atresia **Anal**, fistula **Traqueo-Esofágica**, defeitos **Renais** e anomalias de membros (**Limbs**), está relacionada a defeitos de formação do mesoderma.

Uma vez apresentado o **período embrionário precoce**, responsável pela **organização tríplice do ser humano**, o destino de cada um dos três folhetos será descrito na **quarta semana**, quando o embrião se curva para o saco vitelino, por isso também chamado de período do **dobramento** do embrião.

- **'Quarta semana': Estágios 10, 11, 12 e 13 (dias 22 a 32 / 2,5 a 6 mm) -**

Uma vez estabelecidos os três planos corporais do embrião, observa-se adicionalmente um plano de segmentação, orientados pelos genes Hox, manifesto na anatomia humana definitiva através das vértebras, costelas, dermatômos e nervos espinhais.

Um gradiente diferencial de crescimento entre o ectoderma, mais pronunciado em relação ao endoderma, criará a condição de dobramento (cranio-caudal e latero-lateral) da face dorsal sobre a face ventral do embrião.

O dobramento embrionário converte o disco germinativo trilaminar em uma estrutura consistindo de três tubos concêntricos: um tubo externo de ectoderma, um tubo intermediário de mesoderma e um tubo central de endoderma.

Endoderma

O tubo endodérmico, denominado **intestino primitivo** ou *arquerteron*, dará origem ao revestimento do trato digestório e de outros derivados do tubo intestinal. Isto significa que o intestino primitivo corresponde a um porção do saco vitelino que foi incorporada (in, para dentro, do corpo) ao embrião, portanto a luz do trato digestório e dos seus derivados são realmente exteriores

Seguindo uma **regularidade morfogenética**, o intestino primitivo se dividirá em **três regiões**: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior, com suprimentos arteriais diferenciados. O intestino anterior se diferencia em três regiões: faringe, esôfago e intestino anterior abdominal (do diafragma a porção média do duodeno), suprido pela artéria celiaca. O intestino médio, da segunda metade do duodeno até dois terços proximais do cólon transverso, é vascularizado pela artéria mesentérica superior e o intestino posterior, do cólon transverso ao canal anorectal, é servido pela mesentérica inferior. As dilatações, estreitamentos, rotações e brotamentos do intestino primitivo irão, no período da organogênese, desenvolver todo aparelho digestório incluindo seus anexos, como pâncreas, fígado, vesícula biliar e **pulmão** (Figura 5.19).

Mesoderma

O mesoderma paraxial se segmenta em **somitômeros**, que formarão os **somitômeros** (Figura 5.15).

Em sentido cranio-caudal, no 18º dia, o mesoderma se condensa em pequenos corpos indistintos, os somitômeros (etmologicamente, unidade de pequenos corpos). Os somitômeros, exceto os 7 mais craniais, se diferenciam em

pequenos corpos cubóides, os somitos (pequeno corpo). Os somitos se desenvolvem, inicialmente, na futura região da base do crânio no dia 20, e continuam cranio-caudalmente até o dia 30. Formam-se 42 a 43 somitos, dos quais os 5 a 7 mais caudais se degeneram, totalizando 37 somitos. Os 7 somitômeros criarão estruturas da cabeça e pescoço, enquanto os 37 somitos se responsabilizarão pela seguinte distribuição: 4 occipitais, 8 cervicais, 12 torácicos, 5 lombares, 5 sacrais e 3 coccígeos.

Os somitos se diferenciam em três direções: **esclerótomo**, **miótomo** e **dermátomo**. O esclerótomo, proveniente da região medial dos somitos, migra medialmente envolvendo o tubo neural e a notocorda. Através de estímulo indutivo da notocorda, os esclerôtomos formam os corpos vertebrais. O estímulo do tubo neural induz a formação, por parte dos esclerôtomos, dos arcos vertebrais. Como os esclerôtomos se separam em metade cranial e caudal, e a região caudal de uma unidade se recombina com a região cranial do seguinte para formar o rudimento de uma hemivértebra, podemos afirmar que os esclerôtomos são segmentares, enquanto as vértebras são intersegmentares. As células que permanecem por detrás da área de separação do esclerótomo, irão formar o *annulus fibrosus* do disco intervertebral.

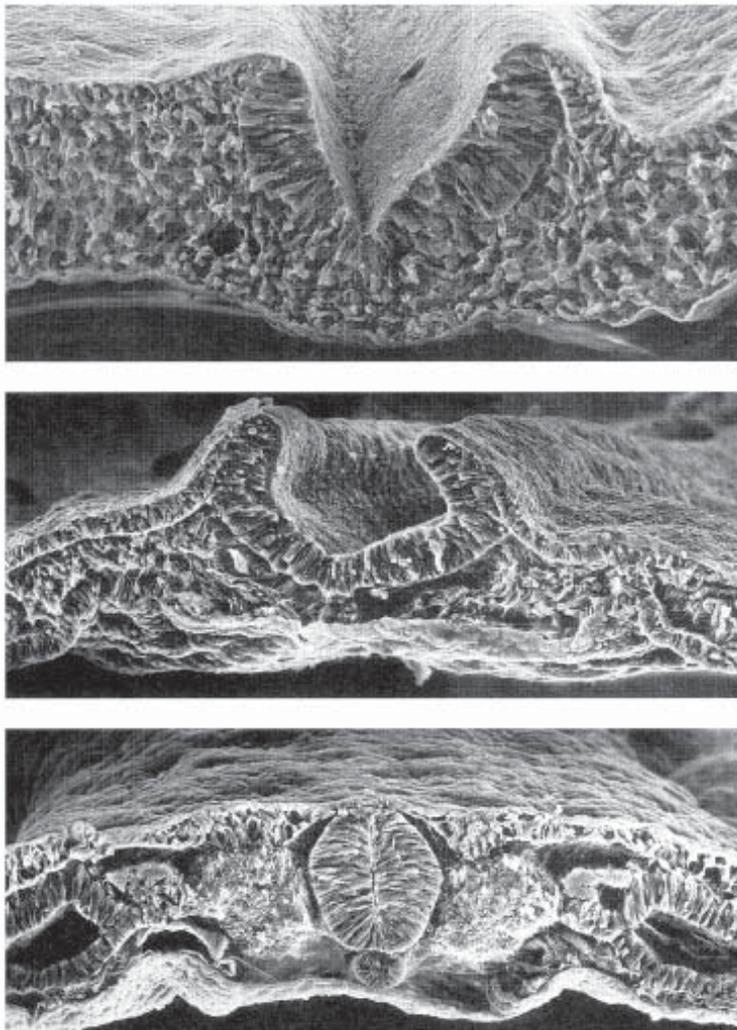


Figura 5.15: Fotomicrografia eletrônica de varredura do processo de fechamento do tubo neural em embrião de galinha (corte transversal). (A) sulco neural ladeado pelas pregas neurais. (B) processo de aposição das pregas neurais. (C) notocorda ventral, mesoderma paraxial, intermediário e lateral bem evidentes de cada lado do tubo neural fechado. (fotografia de K. W. Tosney)

A dismorfogênese envolvendo a falha de indução por parte da notocorda, leva a malformações do corpo vertebral, como **hemivértebras** e conseqüente **escoliose**, enquanto que na falha produzida pelo tubo neural, desenvolvem-se alterações no arco vertebral, como **espinha bífida**.

Um par de mesênquima (mesoderma) condensado se desenvolve de cada lado do arco vertebral- **o processo costal**. O processo costal, na região torácica, forma as costelas, nas regiões não torácica formam os processos transversos, que se fundem no sacro formando a região alar do sacro.

Os miótomos, porção profunda da unidade restante dermatomiótomo, se dividem em dois segmentos: **epímero**, dorsal e **hipômero**, ventral. Os epímeros formam a musculatura profunda do dorso, já os hipômeros diferenciam-se na musculatura da parede ventrolateral do tronco. Os dermatômos originam a derme da pele do tronco e da região posterior do pescoço. A derme da cabeça provém da crista neural e a derme dos membros da somatopleura, fonte também dos tendões e tecido conjuntivo da parede corporal.

O mesoderma intermediário ou urogenital (Figura 5.16) inicia sua segmentação na quarta semana (dia 24) e, através de uma sucessão cranio-caudal, forma três segmentos: **pronéfron**, **mesonéfron** e **metanéfron**, ou **rim definitivo** (dia 28). À medida que um segmento renal mais caudal, o **nefrótomo**, se diferencia, os nefrôtomos craniais se degeneram, criando uma condição semelhante às pegadas na areia à beira do mar, enquanto novas pegadas se formam, as antigas desaparecem apagadas pelas ondas do mar. A formação do rim definitivo depende da interação indutiva entre o broto ureteral e o blastema metanéfrico, condensação de mesênquima. Os **ductos pronéfricos** ou **paramesonéfricos** darão origem ao trato reprodutor feminino, enquanto os **ductos mesonéfricos** ao trato reprodutor masculino, em função da presença ou ausência de testosterona. Em função desta interdependência no desenvolvimento, entre sistema urinário e sistema genital, eles constituem a unidade urogenital.

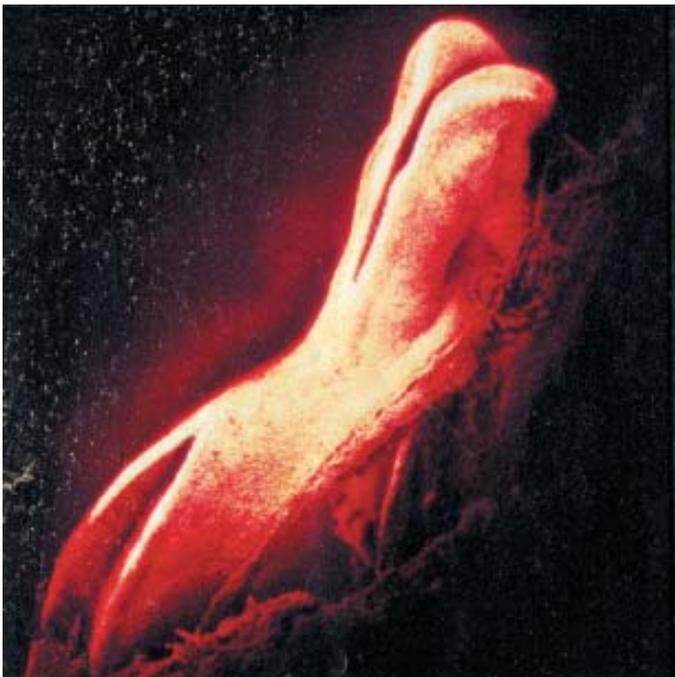


Figura 5.16: Fotografia de embrião humano de três semanas com neuroporos cranial e ventral abertos. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)

A produção de líquido amniótico, de início proveniente de difusão através da própria membrana amniótica, passa a ser assumida pelo rim a partir da 16ª semana. Caso o feto não elimine urina, seja por **agenesia renal bilateral** ou por **uropatia obstrutiva**, surgirá a condição de **oligohidramnio** (redução da quantidade de líquido amniótico). Os casos de excesso (**polihidramnio**) decorrem da ausência de deglutição de líquido em função de obstrução do trato digestivo (p. ex. atresia esofágica) ou ausência do reflexo de deglutição (p. ex. anencefalia).

Com o dobramento do embrião, o celoma intraembrionário, entre a esplancnopleura e a somatopleura, se converte em cavidades fechadas. O celoma intraembrionário, assim, originará as membranas serosas de revestimento das três grandes cavidades corporais- **pericárdio, pleura, peritônio** (além da cavidade vaginal no escroto masculino). A somatopleura originará a **serosa parietal** e a esplancnopleura a **serosa visceral**.

Os órgãos viscerais são classificados em **intraperitoneais, retroperitoneais** ou **secundariamente retroperitoneais**, segundo sua relação com a parede corporal. Os intraperitoneais são aqueles órgãos suspensos no celoma pelo mesentério, uma dupla membrana serosa (estômago, intestino delgado e cólon transversal). Os retroperitoneais apesar de desenvolvidos na parede corporal, não são presos pelo mesentério (esôfago torácico, reto, vesícula urinária e rins). Os órgãos secundariamente retroperitoneais são aqueles inicialmente suspensos por mesentério, mas secundariamente aderidos à parede corporal (duodeno, pâncreas e cólons ascendente e descendente). Através do mesoderma lateral, unido ao mesoderma extraembrionário, forma-se o pedículo corporal, precursor do **cordão umbilical**, local onde o celoma intraembrionário se comunica com o extraembrionário até que a parede ventral se feche totalmente.

Ectoderma

Neurulação: A **placa neural**, formada na terceira semana, após um alongamento e estreitamento em sentido cranial, sofre um dobramento bilateral longitudinal, criando as **pregas neurais** ladeando um **sulco neural mediano**. Iniciando no 22º dia, a aposição e fusão das superfícies apicais das pregas neurais, conduz à invaginação que separa o **ectoderma superficial** dorsal do **neurectoderma** ventral em formação. A invaginação acontece, de início, em apenas uma região central do sulco neural denominada **goteira neural**, localizada na altura dos primeiros cinco somitos (região occipito- cervical), e progride tanto em sentido cranial como em sentido caudal. Algumas células se desprendem do ectoderma, durante a sua profunda migração, para formar a **crista neural** em topografia intermediária. As células do ectoderma que continuam a migração, a partir da goteira neural, formarão um tubo cilíndrico denominado **tubo neural**, base estrutural de todo sistema nervoso central. O processo gradativo de fechamento do tubo neural, como dois *zipers* em duas direções opostas, a partir da goteira neural, cria a situação provisória de abertura do canal central do tubo neural (**canal neural**) nas extremidades. A abertura cranial, chamado **neuroporo cranial**, fecha-se no 24º dia, enquanto o **neuroporo caudal**, ao nível de S2, dois dias após. O canal neural dará origem ao canal central da medula espinhal e aos ventrículos encefálicos (Figuras 5.15, 5.16 e 5.17).

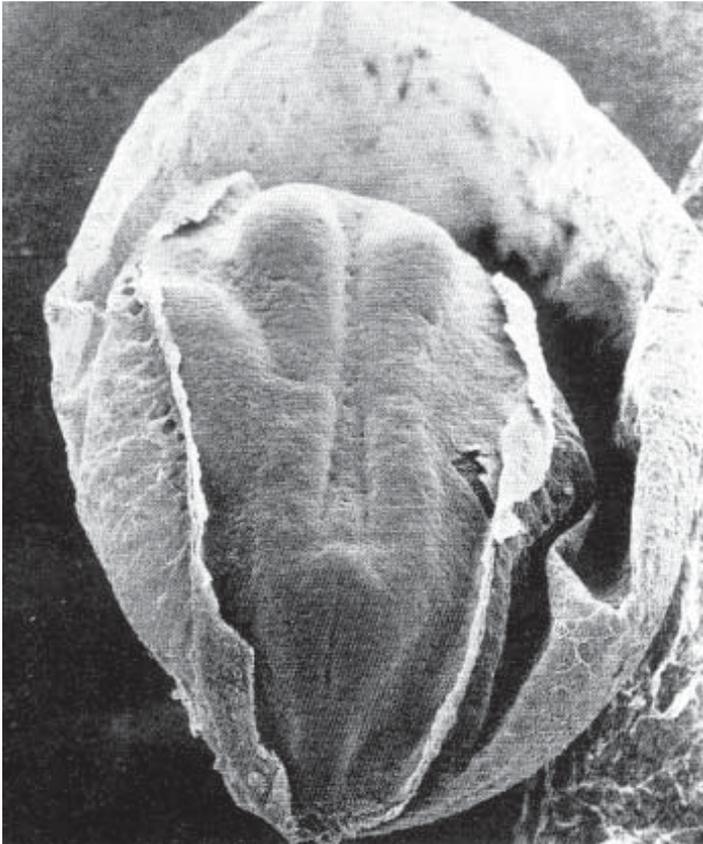


Figura 5.17: Desenho do processo de fechamento do tubo neural, entre os dias 21 e 25, simultaneamente a ‘incorporação’ do saco vitelino e ‘descida’ do coração.

Este processo designado neurulação, que ocorre ao longo de apenas 4 dias, representa a recapitulação de um gigantesco processo evolutivo de migração de neurônios a partir da “pele” (em anelídeos), passando por uma fase intermediária em moluscos, até alcançar o *status* de sistema nervoso central nos vertebrados. Analogamente a invaginação da placa neural, no desenvolvimento filogenético, parece durar milhões de anos.

Na região precursora do encéfalo, correspondente a 75% do comprimento da placa neural no final da quarta semana, inicia-se um processo de segmentação. A primeira série de segmentações no tubo neural cefálico cria os três supracitados segmentos ou vesículas cerebrais (**proscéfalo**, **mesencéfalo** e **rombencéfalo**). Precocemente, o proscéfalo dobra-se ventralmente em relação ao rombencéfalo ao longo da flexura cranial, local da formação do mesencéfalo. Apenas no segundo mês novas flexuras se adicionarão no tubo neural cefálico. Uma segunda série de segmentações se processa, no 21º dia, formando segmentos designados **neurômeros**. Vem sido descritos treze neurômeros, dois no proscéfalo, dois no mesencéfalo (m1 em2) e nove no rombencéfalo. O primeiro neurômero do rombencéfalo é chamado **segmento do istmo** e os oito restantes de **rombômeros**, estruturas transitórias porém fundamentais para a organização dos nervos cranianos, mediante ação do ácido retinóico sob coordenação dos genes Hox.

Apenas entre a quinta e oitava semana uma terceira onda de segmentação divide o proscéfalo, em **telencéfalo** e **diencefalo**, e o rombencéfalo em **metencéfalo** e **mielencéfalo**, convertendo o encéfalo de três vesículas primárias em encéfalo de cinco vesículas secundárias. Na quinta semana o diencefalo começa a ser segmentado nas três regiões definitivas- **epitálamo**, **tálamo** e

hipotálamo. O canal neural se expande em cavidades denominadas **ventrículos primitivos**. A cavidade do rombencéfalo resulta no **quarto ventrículo**, a cavidade do mesencéfalo no **aqueduto cerebral** (de *Sylvius*), a cavidade do diencéfalo em **terceiro ventrículo** e a cavidade do telencéfalo nos **ventrículos laterais**. Após o fechamento do neuroporo caudal, os ventrículos e o canal da medula são preenchidos pelo líquido cérebro-espinal (Figura 5.18).

A separação das células da **crista neural** a partir das pregas neurais, durante a neurulação, inicia-se no prosencéfalo e mesencéfalo (22º dia) e migra no sentido craniocaudal até o fechamento do neuroporo caudal.

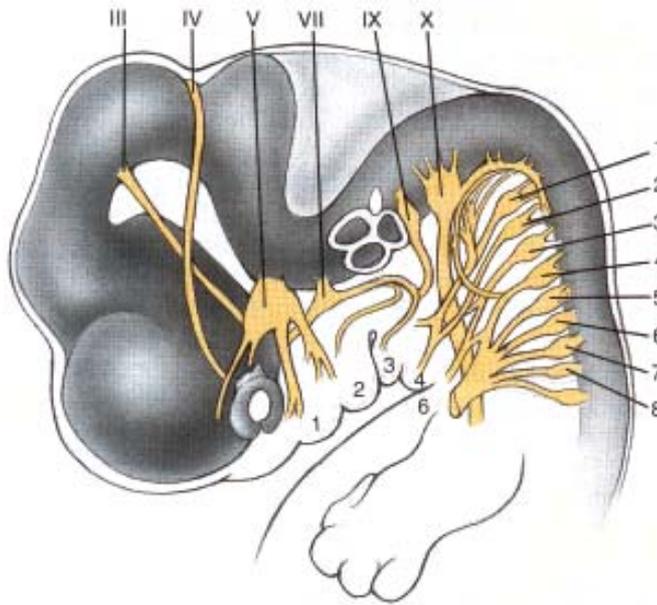


Figura 5.18: Desenho do tubo neural na 6ª semana, enfocando encéfalo de cinco vesículas e nervos cranianos e espinhais.

Os principais derivados da crista neural se concentram na cabeça e são considerados uma diferenciação do neurectoderma denominada **mesectoderma**. Os derivados não neuronais incluem os melanócitos da epiderme, células endócrinas e paraendócrinas (como medula adrenal, células parafoliculares tireoidianas e células neurosecretoras cardiopulmonares), o tecido esquelético da cabeça (como parte da cartilagem da orelha e do esfenóide, maxila e pálato), o tecido conjuntivo da cabeça (como derme e tecido adiposo, papila dental-odontoblastos, parte da córnea, estroma da tireóide, do timo e das glândulas salivares e lacrimais e parte do trato de saída do coração), o tecido muscular da cabeça (músculos ciliares e musculatura dermal e vascular da boca) e as leptomeninges da região occipital e espinhal. Os derivados neuronais correspondem às células de Schwann dos nervos periféricos, aos gânglios sensitivos espinhais e cranianos (V, VII, VIII, IX e X pares) e aos gânglios do sistema nervoso autônomo (gânglios parassimpáticos entéricos, pélvicos, dos pares cranianos III, VII, IX e X e gânglios simpáticos paravertebrais).

Outro evento fundamental iniciado na quarta semana é o desenvolvimento da **árvore respiratória** (Figura 5.19), no 22º dia, com o brotamento do **divertículo respiratório** ou **broto pulmonar** a partir do **intestino anterior**. Entre os dias 26 e 28 o broto pulmonar se bifurca nos

brotos brônquicos primários, rudimentos dos dois pulmões. Na quinta semana os primórdios dos lobos se formam através dos **brotos brônquicos secundários**. Após esta fase embrionária quando se estabelecem os segmentos broncopulmonares (até sexta semana), uma fase pseudoglandular resulta na formação dos bronquíolos terminais (sexta a décima sexta semana), seguida por uma fase canalicular formando bronquíolos respiratórios (até vigésima oitava semana) e finalizando com as fases sacular e alveolar com formação de alvéolos (até trigésima sexta semana e após este momento, respectivamente).

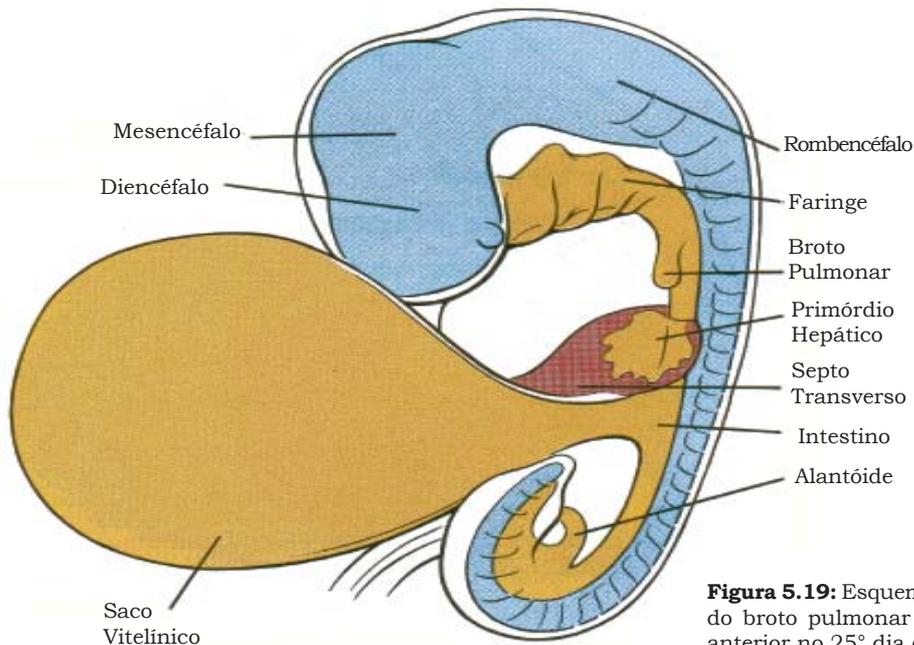


Figura 5.19: Esquema do desenvolvimento do broto pulmonar a partir do intestino anterior no 25º dia de vida.

Ainda durante a quarta semana surgem os **arcos faríngeos**, participantes da formação da face do embrião, de início com os primórdios dos olhos (o sulco e em seguida a **vesícula óptica**) em posição lateral, enquanto os primórdios das orelhas (**vesícula ótica**) ocupam posição cervical. Com o desenvolvimento em direção a oitava semana, os olhos vão migrando medialmente, enquanto as orelhas vão “subindo” até alcançar a altura dos olhos. Antes que a quarta semana termine, os brotos dos membros surgem em sentido craniocaudal (Figura 5.20).

Todo período restante, da organogênese, desenvolverá cada órgão ou sistema para atingir um certo grau de maturidade na oitava semana, que no entanto nunca é totalmente atingido na vida natal (Figuras 5.21 e 5.22).

Se em algum momento da vida pós natal, um grupo de células começa a adotar um comportamento fenotípico embrionário, através de um processo de **desdiferenciação celular**, estaremos diante do **câncer**, de uma **neoplasia** cujo grau de malignidade ou anaplasia é diretamente proporcional ao grau de indiferenciação celular.

As malformações principais envolvendo o processo de neurulação correspondem ao **fechamento parcial do tubo neural** ou **disrafismo espinhal**. Este processo de disrupção pode envolver tanto a diferenciação do SNC como

a indução dos arcos vertebrais, levando a diversas anomalias. Estas malformações geralmente se localizam nas extremidades cranial ou caudal do tubo neural, região dos neuroporos e muitas vezes estão associadas a abertura do canal vertebral chamada **espinha bífida**. Se esta condição não estiver associada a defeitos de diferenciação nervosa nem a herniação do conteúdo meníngeo- nervoso, é denominada **espinha bífida oculta**, geralmente acompanhada de uma alteração dérmica (tufo de cabelo, nevus pigmentoso ou angioma) na altura do defeito (comumente lombosacral). Em alguns casos de espinha bífida, pode haver uma protrusão de um conteúdo do canal vertebral em uma estrutura saculiforme (**cele**). Caso o conteúdo seja duramater e aracnóide, denomina-se **meningocele**, se além das meninges conter tecido neural, chama-se **mielomeningocele**. A mielomeningocele localizada na região cefálica envolvendo cérebro denomina-se **meningoencefalocele**, e caso ainda inclua o sistema ventricular vem a ser chamada de **meningohidroencefalocele**. Se simplesmente o fluxo de líquido no sistema nervoso central é interrompido desenvolve-se a condição da **hidrocefalia**. Os mais severos defeitos decorrem da associação de fechamento parcial do tubo neural com falha na diferenciação nervosa. Caso o defeito envolva todo tubo neural chama-se **cranioraquisquisis total**, porém pode envolver apenas o tubo neural cranial (**cranioraquisquisis** ou **anencefalia**), ou o tubo neural espinal (**raquisquisis** ou **mielosquisis**).

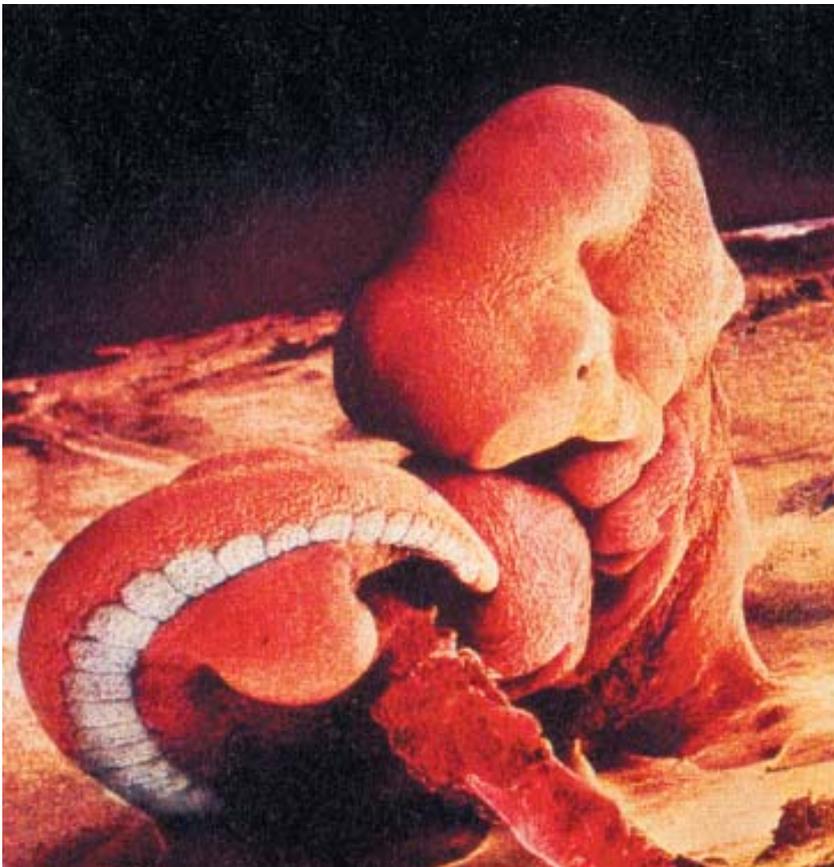


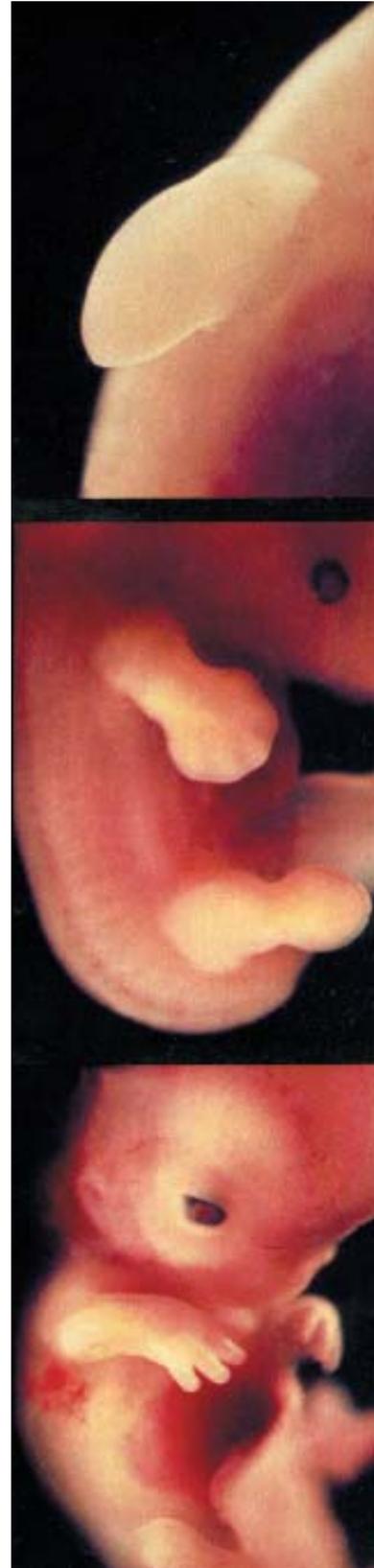
Figura 5.20: Fotografia de embrião na 4ª semana demonstrando rabo evidente, sulco óptico ainda lateralizado e coração na região torácica. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)



Figura 5.21: Fotografia de embrião de 6 semanas evidenciando os brotos dos membros e a sua relação com o saco amniótico. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)



Figura 5.22: Fotografias de embriões, da 4ª a 17ª semana, enfocando o desenvolvimento das mãos. (foto de Lennart Nilsson Bonnier Lakta, 1990)



As patologias associadas a crista neural são agrupadas como neurocristopatias e podem ser de três tipos:

- 1) defeito na migração ou morfogênese da crista neural (como **Doença de Hirschsprung ou cólon agangliônico, fenda labial ou palatina, Síndrome de DiGeorge, Síndrome de Waardenburg e Associação CHARGE**),
- 2) tumores ou defeitos de proliferação (como **feocromocitoma, neuroblastoma, neurofibromatose e carcinoma medular da tireóide**) e
- 3) outros defeitos como **albinismo**.

As malformações congênitas vem ocupando um papel de destaque entre as causas de mortalidade infantil, uma vez que a prematuridade, o retardo de crescimento intrauterino e as infecções tem sido controladas. Em recém-nascidos a termo, as malformações congênitas tem sido consideradas a causa em quase 50% dos casos. Segundo a classificação pelas causas, as malformações são ordenadas em quatro grupos: causas **gênicas** (7,5%), causas **cromossômicas** (6%), causas **ambientais** (6%) e causas **multifatoriais** (20%). Desta forma, aproximadamente 60% das malformações, são de causa desconhecida. Esta classificação, além de limitada, não auxilia o clínico no aconselhamento genético da família do paciente quanto ao prognóstico dos possíveis riscos de recorrência. Neste sentido Jones (1988) propôs uma classificação morfogenética, buscando caracterizar fatores **intrínsecos** (determinação genômica do blastema embrionário) e **extrínsecos** (distúrbios do movimento morfogenético ocorrendo em fases específicas do desenvolvimento embrionário). Se fatores extrínsecos, como um vírus, alteram um evento morfogenético, o risco de recorrência será muito baixo. Dois grandes tipos de defeitos, geralmente extrínsecos, são as **deformações** e as **disrupções**. As deformações são causadas por forças mecânicas ou pela ausência delas, que alteram o curso do desenvolvimento normal. Por exemplo a falta de movimento fetal levando a amnioplasia. As disrupções são causadas por forças destrutivas que interferem ou interrompem a morfogênese normal. Podem incluir todos teratógenos como químicos, drogas, infecções ou doenças maternas. Por outro lado as malformações são causadas por fatores intrínsecos. Podem ser simples (defeito de fechamento do tubo neural) ou em conjunção com outros defeitos. A **seqüência malformativa** ocorre quando uma malformação simples inicia uma cadeia de defeitos subsequentes (p.ex. holoprosencefalia levando a ausência do septo nasal e premaxila com fenda palatina). Uma **síndrome** representa um padrão reconhecível de malformações sem onexo causal entre os defeitos. A **displasia** resulta da morfogênese anormal afetando apenas tecidos de um tipo (como displasia ectodérmica afetando cabelo, dentes, pele, etc.).

A **teratologia** (literalmente estudo das “monstruosidades”), ramo da embriologia experimental que estuda as causas das malformações, define bem que a severidade de uma malformação depende menos de um tipo de teratógeno do que do momento e duração da exposição.

Em função desta observação foi definido o conceito de **‘fase sensível’** ou **‘fase suscetível’** de um órgão como a **janela de tempo** durante o desenvolvimento em que fatores exógenos podem causar **malformações organotípicas**. Distúrbios no período fetal, embora não afetem a morfogênese, podem afetar a

diferenciação celular do cérebro, rim, trato digestório e genitália externa podendo levar, por exemplo, a microcefalia, hidrocefalia e retardo mental. Em função desta dependência temporal, os cuidados na prevenção, como consumo adequado de **vitamina B12** e principalmente (associada ao fechamento do tubo neural) (*ver capítulo “Ácido Fólico na Prevenção dos Defeitos de Fechamento de Tubo Neural”*), devem se concentrar no primeiro trimestre da gestação humana

Muitos teratogênicos atuam, por ação direta, como indutores de genes reguladores (cadeias de transdução embrionária), seja por excesso ou por falta. Graves malformações decorrem por conta deste mecanismo de ação como na deficiência de **vitamina A**, por falha de indução mediada pelo ácido retinóico.

Muitos hormônios, como hormônio tireoidiano e esteróides sexuais, são indutores do desenvolvimento embrionário e podem conduzir a mal formações pelo mesmo processo.

Fato muito preocupante, bem relatado no livro *O futuro roubado*, é a ação de agrotóxicos como PCBs, DDT e dioxina, substâncias com características hormônios- like, como indutores de esterilidade em populações animais e humanas.

Segundo Al Gore, Vice- Presidente dos Estados Unidos em 22 de janeiro de 1996, no prefácio deste livro, declara: “Estamos apenas começando a compreender as conseqüências da contaminação provocada pelo uso indiscriminado de agrotóxicos e outros agentes. (...) Hoje, relatos nas principais revistas médicas apontam acusadoramente para os efeitos das alterações hormonais provocadas por agentes químicos sobre nossa fertilidade – e sobre os nossos filhos.”

Como admirador da **transdisciplinaridade** e dos frutos invisíveis das associações neuronais que se estabelecem desde a fase embrionária até o fim da vida (daquela linhagem celular que não se divide por meiose), gostaria de apresentar-lhes, a título de encerramento de algo infundável, um paralelo entre **mitologia e embriologia**, através de dois mitos.

Um Mito Indú

A mitologia indú, se referindo ao princípio do universo, relata que o universo estava envolto em sono imperceptível. O Deus de Tudo, existente em si mesmo, desejoso de trazer outras criaturas de seu próprio corpo, criou a água e colocou nela a sua semente.

Formou assim o Ovo Dourado, HIRANYAGARBHA, germe da Luz Cósmica, Agni (fogo). Nasce então BRAHMA, ancestral de todos os mundos, que divide o Ovo em duas metades- uma metade superior, esfera celeste e uma metade inferior, esfera terrestre, criando a atmosfera entre as duas. Na metade terrestre surge a terra, flutuando nas águas que logo adquire os quatro pontos cardeais.

Podemos perceber uma conexão entre este relato mítico da gênese e a embriogênese da primeira e segunda semana. A semente sobre a água sugere um processo de fecundação gerando o “Ovo”, que por sua vez sofre um processo de polarização, a semelhança da polarização em embrioblasto e trofoblasto, em duas esferas. A “terra, flutuando nas águas” entre as duas esferas, num segundo momento, nos lembra o disco embrionário ente o saco vitelino (de coloração ‘dourada’ pelo vitelo) e o saco amniótico. “A terra...logo adquire quatro pontos

cardeais”, a semelhança do embrião na segunda semana que estrutura quatro anexos embrionários (saco vitelino, âmnio, alantóide e córion).

Um Mito do Velho Testamento- Mito de Seth

Este mito se refere a morte de Adão, o primeiro homem.

Seth, seu filho mais novo, desesperado com a visão de seu pai deitado sobre um tronco, pronto a expirar seu último sopro de vida, resolve voltar ao Paraíso em busca de ajuda. Se defronta com um grande Anjo resguardando a porta do Paraíso, mas Seth o convence a visitar o Jardim do Éden. Na entrada do Jardim um segundo grande Anjo, empunhando uma espada de fogo, aborda Seth que, exprimindo sua genuína vontade, é permitido de penetrar mas com a seguinte condição- de apanhar apenas três sementes da árvore que encontrar e sair em seguida do Paraíso. Seth adentrou o centro do Jardim e lá observou, atônito, a Árvore da Vida entrelaçada e fundida com a Árvore do Conhecimento (ou Árvore da Morte). Imediatamente obteve as três sementes da Árvore e se dirigiu a seu pai. Logo que introduziu as três sementes na boca de Adão, uma grande Árvore flamejante cresceu de sua boca, enquanto ele lentamente falecia.

Uma vez que estamos tentando estabelecer uma relação entre duas áreas bem distintas, a mitologia e a biologia, devemos tentar procurar, com uma certa exatidão, as conexões. O sentido deste mito deve ser procurado na busca das três “sementes” e das três “Árvores” dentro do corpo humano. As três sementes, geradoras da vida e da morte, parecem corresponder aos três folhetos - ectoderma, endoderma e mesoderma, a organização tríplice embrionária. O que seriam, então, as três Árvores? As árvores são estruturas, geralmente cilíndricas, que emitem ramos e brotos a partir de seu tronco central. Segundo esta interpretação, a “Árvore da Vida” corresponderia àquela estrutura proveniente do pólo vegetal (ou abembrionário) do embrião, relacionada a nutrição (da vida) no desenvolvimento pós natal- O TRATO DIGESTÓRIO, incluindo os anexos ao tubo digestivo. Segundo alguns mitólogos, a “Árvore da Vida” seria representada pela Figueira, cujo fruto, o figo, relaciona-se etimologicamente ao anexo fígado.

A “Árvore do Conhecimento” deve, então, corresponder a uma outra estrutura cilíndrica que não deve nutrir, nem se responsabilizar pela manutenção da vida, mas pelo contrário deve viver em um estado de quase morte e se relacionar diretamente com o processo do conhecimento- O SISTEMA NERVOSO CENTRAL, cujos ramos seriam os nervos cranianos e espinhais. Qual seria, enfim, a terceira Árvore, fruto das anteriores entrelaçadas e fundamental tanto para a manutenção da vida como para a manutenção da consciência desperta? A ÁRVORE RESPIRATÓRIA, cuja função permite a manutenção da tênue vida dos neurônios, muito sensíveis a hipóxia, e brota diretamente do intestino anterior (porção da “Árvore da Vida”). Interessante notar que, segundo o poeta Carlos Drummond de Andrade: “...toda a vida está contida entre o primeiro choro e o último suspiro...”, ou seja, o nascimento e a morte se processam pelo pulmão (Figuras 5.23 e 5.24).

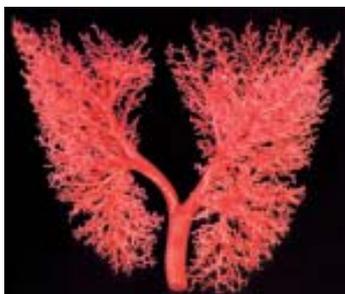


Figura 5.23: Árvore respiratória fetal (invertida). A técnica de corrosão evidencia apenas o espaço ocupado pelo lúmen do trato respiratório.



Figura 5.24: Pintura etrusca retratando o homem entre as duas Árvores do Paraíso, data desconhecida (Museu do Louvre).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLSOPP, T.E. . *et al*, The proto-oncogene *bcl-2* can selectively rescue neurotrophic factor-dependent neurons from apoptosis. *Cell*, 73: 295-307, 1993.
2. BELLAIRS, R., The primitive streak. *Anat. Embryol.*, 174: 1, 1986.
3. BYSKOV, A.G., Differentiation of the mammalian embrionic gonad. *Physiol Ver*, 1986.
4. CAMPBELL, L.R. *et al*, Neural tube defects: a review of human and animal studies on the etiology of neural tube defects. *Teratology*, 34: 171, 1986.
5. CARLSON, B.M., *Human Embryology and Developmental Biology*, St. Louis, Mosby, 1994.
6. CHEVALIER, J. & Gheerbrant, A., *Dicionário de Símbolos*, Rio de Janeiro, José Olímpio, 1993.
7. DREWS, U., *Color atlas of embryology*, Stuttgart, Thieme Medical Publications, 1995.
8. ENGLAND, M.A., *Life before birth*, London, Mosby-Wolfe, 1996.
9. EDDY, E.M. *et al*, Origin and migration of primordial germ cells in mammals. *Gamete Res*, 4: 33, 1981.
10. GILBERT, S. F., *Developmental Biology*, Sunderland, Sinauer Associates, 1997.
11. GILBERT, S.F. A conceptual History of Modern Embryology. *Plenum*, New York, p.31-41, 1991.
12. GARDNER, R. L., Investigatio of cell lineage and differentiation in the extraembryonic endoderm of the mouse embryo. *J Embryol Exp Morphol*, 68: 175, 1982.
13. GOLDENBERG, R.L. *et al*, Letal congenital anomalies as a cause of birth-weight-specific neonatal mortality. *J.A.M.A.*, 250: 513-18, 1983.
14. GRACKEN, M.B., Incidence and aetiology of Hydatidiforme mole, an epidemiological review. *Br. J. Obstet Gynecol*, 4: 1123.

15. JACOBSON, A. & Tam, P.P.I., Somitomeres: mesodermal segments of vertebrate embryos. *Development*, 104: 209, 1988.
16. JONES, K.L., *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1988.
17. KALLEN, B. & Winberg, J. Caudal mesoderm pattern of anomalies: from renal agenesis to sirenomelia. *Teratol*, 9: 99, 1974.
18. KALTER, H. & Warkang, J., Congenital malformations: Etiological factors and their role in prevention. *New England Journal of Medicine*, 308: 424-31, 1983.
19. LARSEN, J.W., *Human Embryology*, New York, Churchill Livingstone, 1993.
20. O'RAHILLY, R. & Muller, F., Bidirectional closure of the rostral neuropore. *Am. J. Anat.*, 184: 259, 1989.
21. STROME, S., The germ of the issue. *Nature*, 358: 368-9., 1992.
22. TARKOVSKY, A.K., Developmental of blastomeres of mouse eggs isolated at the 4- and 8-cell stage, *J Embryol Exp Morphol*, 18: 155, 1967.
23. Theo Colborn *et al*, *O futuro roubado*, Porto Alegre, L&PM, 1997.
24. VOGLER, H. Human blastogenesis. Formation of the extraembryonic cavities. *Bibl. Anat.*, 30:1, 1987.