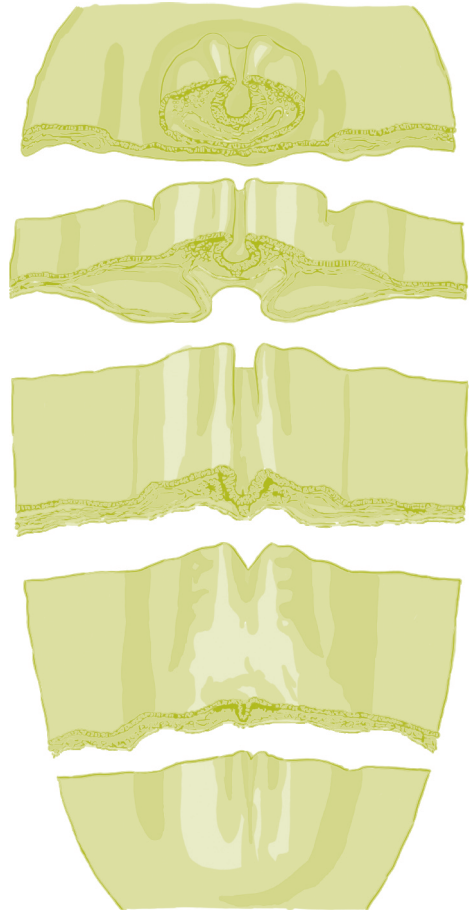


CAPÍTULO 10



Animais considerados como modelos de estudo na Embriologia e Biologia do Desenvolvimento

Como estudamos no capítulo 3, existem diferentes tipos de ovos na escala animal. Isso nos leva a pensar que quando estudamos grupos animais que atualmente são considerados modelos na embriologia comparada, encontraremos também importantes diferenças quanto aos processos de desenvolvimento embrionário.

Neste capítulo, estudaremos particularidades nas fases de segmentação, gastrulação, organogênese e morfogênese do ouriço do mar, do anfioxo e de anfíbios, peixes, aves e mamíferos.

10.1 Desenvolvimento embrionário do ouriço do mar

10.1.1 Segmentação e formação da blástula

O ovo do ouriço do mar é do tipo oligócipo isolécito apresentando clivagem holoblástica radial. Após a fusão dos pró-núcleos ocorre a formação do primeiro fuso mitótico o qual é perpendicular ao eixo animalvegetativo do ovo. Assim, o primeiro sulco da clivagem passa diretamente do pólo animal ao vegetativo, criando duas células filhas do mesmo tamanho. Essa clivagem é conhecida como meridional porque passa pelos dois pólos como um meridiano no globo (Figura 10.1).

O segundo sulco de clivagem se forma em ângulo reto em relação ao sulco da primeira clivagem, mas ambos continuam perpendiculares ao eixo animalvegetativo do ovo. Dessa maneira, as primeiras duas divisões são, ao mesmo tempo, meridional e perpendicular uma em relação à outra (Figura 10.1).

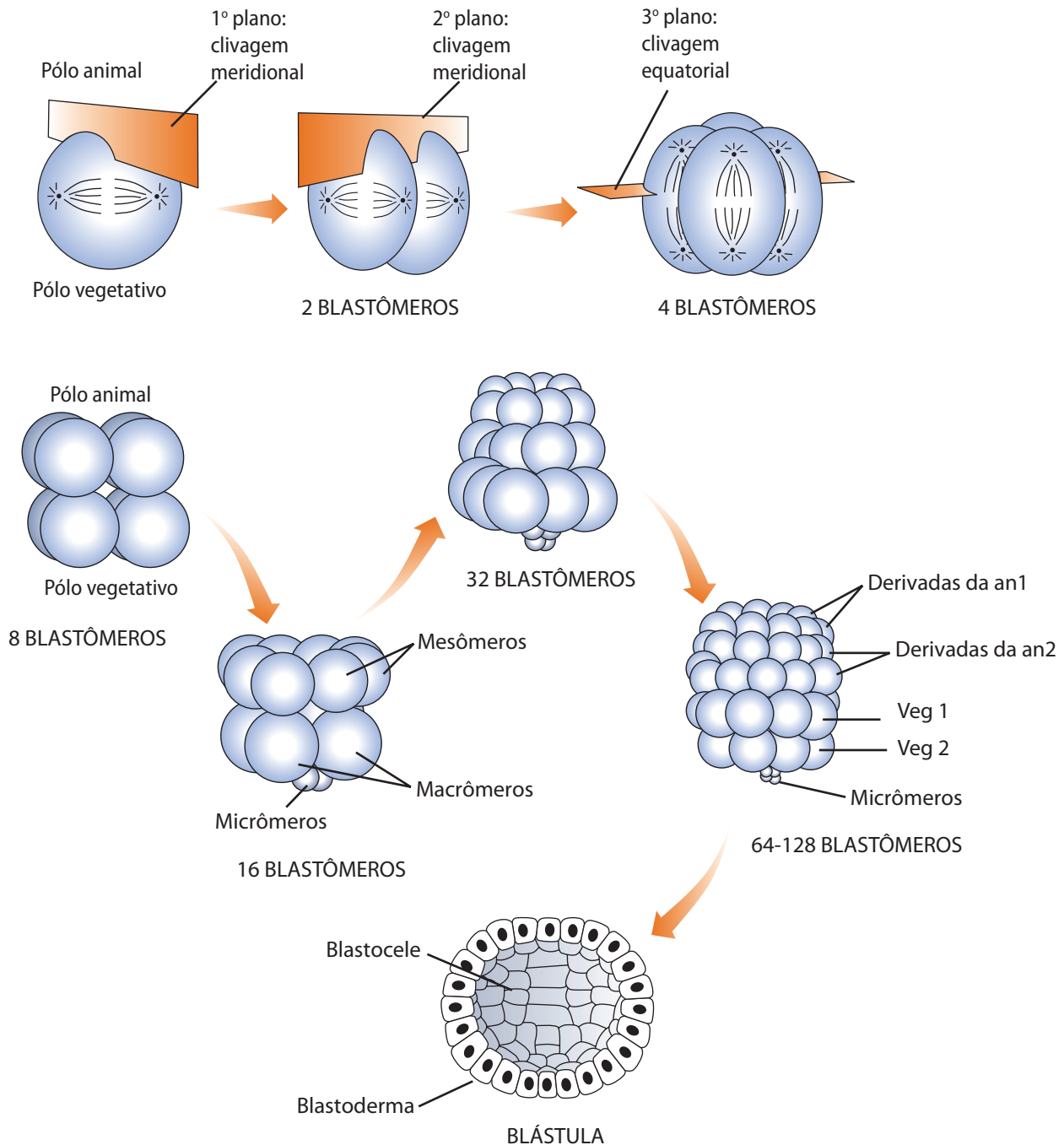


Figura 10.1 - Clivagem holoblástica radial em ouriço do mar (BROWDER et al., 1991).

A terceira divisão é equatorial, sendo que o fuso mitótico agora se encontra em posição paralela ao eixo animalvegetativo. Isso faz com que o sulco de clivagem formado separe os dois pólos um do outro, dividindo o embrião em oito blastômeros iguais. Cada blastômero na metade animal do embrião está agora diretamente

acima do blastômero da metade vegetal, o que caracteriza a organização celular da clivagem radial (Figura 10.1).

Na quarta clivagem, as quatro células da camada animal se dividem meridionalmente e originam oito blastômeros, cada um com o mesmo volume, denominados de mesômeros. Contudo, a camada vegetativa sofre uma clivagem equatorial desigual ou latitudinal, produzindo no pólo vegetal quatro células grandes, denominados de macrômeros, e quatro pequenas, os micrômeros, formando um embrião com um total de 16 células (Figura 10.1).

Na quinta clivagem, os oito mesômeros se dividem para formar duas camadas no hemisfério animal, chamadas de an_1 e an_2 , sendo que uma se organiza exatamente em cima da outra. No hemisfério vegetativo macrômeros se dividem meridionalmente, formando uma camada de oito células, localizada abaixo de an_2 . Os micrômeros também se dividem, produzindo um pequeno grupo de células logo abaixo dos macrômeros. Neste momento o embrião se encontra no estágio de 32 células (Figura 10.1).

A sexta clivagem resulta na formação de um embrião de 64 blastômeros, sendo a clivagem latitudinal para os mesômeros que leva a formação de 16 mesômeros para a camada an_1 de 16 para a an_2 . Também nos macrômeros ocorre clivagem latitudinal que dispõe as células em duas novas camadas: uma superior formada por 8 macrômeros vegetativos 1 (veg1), e a inferior, composta por mais 8 macrômeros vegetativos 2 (veg2). Assim, o embrião de 64 células compreende 5 planos de blastômeros superpostos: animal 1 (an_1), animal 2 (an_2), vegetativo 1 (veg1), vegetativo 2 (veg2) e os micrômeros (Figura 10.1).

A sétima clivagem é meridional, produzindo uma **blástula** com 128 células (Figura 10.1). As proteínas que são sintetizadas durante a fase de clivagem dependem dos RNAm já presentes no citoplasma e que foram fornecidos pela mãe durante a gametogênese. No **estágio de blástula**, as células do blastoderma formam uma esfera oca circundando a blastocele central (Figura 10.2A). Nessa fase, todas as células são do mesmo tamanho, isso porque os micrômeros clivam com menos frequência. Cada célula da blástula está em contato (face interna) com o fluido proteico da blastocele e com a camada hialina (face externa) dentro do envoltório de fertilização (Figura 10.2C). Durante esse perí-

odo as células estão fortemente aderidas umas as outras. Com a continuidade das divisões, as células do blastoderma formam uma camada mais fina, enquanto que a blastocele se expande. No final dessa fase a blástula consiste de uma única camada de mais ou menos 1000 células e uma cavidade grande e central (Figura 10.2B). As células da blástula desenvolvem cílios em sua superfície externa causando, desse modo, a rotação da blástula dentro do envoltório de fertilização. Neste estágio, o genoma das células que compõem a blástula é ativado e se inicia a expressão de novos genes. Nas células da parte animal do embrião, um destes genes codifica uma protease, a enzima de eclosão, que quando secretada causa a lise da membrana de fertilização. Desse modo a blástula eclode do envoltório e se torna **livrenatante**.

A qualquer momento durante a clivagem do ouriço do-mar, se o embrião for seccionado através de qualquer meridiano produz duas metades iguais, como uma imagem refletida em um espelho. Esse tipo de simetria é característico de uma esfera ou cilindro e é chamada de simetria radial.

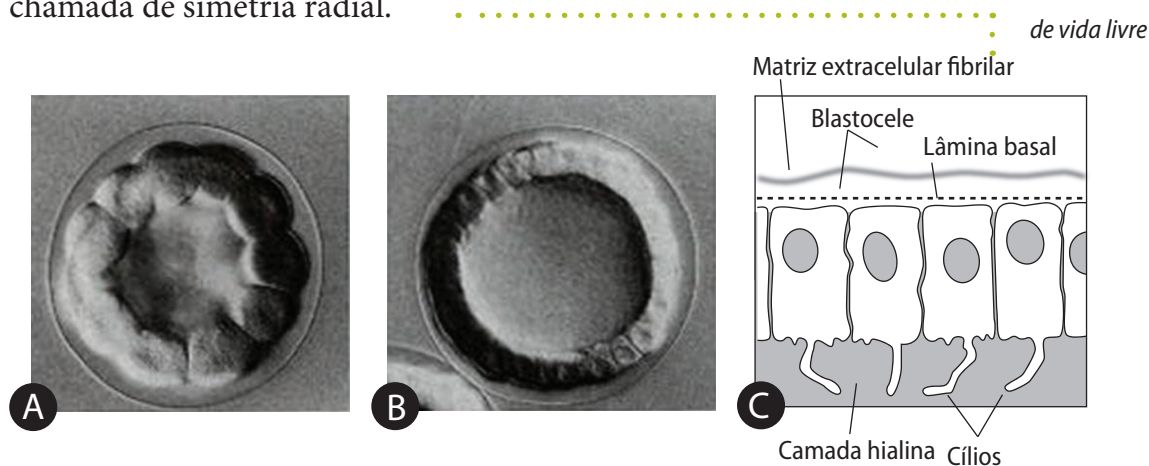


Figura 10.2 - Formação da blástula - celoblástula cêntrica - de ouriço do mar. (A) fotomicrografia de uma blástula em estágio inicial; (B) fotomicrografia de uma blástula em estágio final; (C) Esquema de uma pequena porção do blastoderma da blástula mostrando que cada célula da blástula está em contato com o fluido proteico da blastocele (face interna) e com a camada hialina (face externa) dentro do envoltório de fertilização (GILBERT, 2004).

10.1.2 Gastrulação

Nesta fase, ocorrem movimentos celulares altamente integrados que fazem que as células da blástula, cujas posições foram estabelecidas durante a clivagem, adquiram novas posições e nova vi-

zinhança, formando as camadas germinativas. Na gastrulação de ouriço do mar ocorrem os movimentos de imigração (ou ingresso) e de invaginação (vistos no capítulo 06).

O início da gastrulação é observado quando o pólo vegetativo da blástula se espessa e achata, formando a **placa vegetativa** (Figura 10.3A). Esta região achatada possui na sua porção central os descendentes dos micrômeros e, lateralmente a estes, os descendentes dos macrômeros. No centro dessa placa vegetativa, um aglomerado de pequenas células sofre mudança na forma e migra para o interior da blastocele (Figura 10.3B-F; 10.4A). Isto possivelmente porque ocorreu uma redução ou perda na adesão entre as células, permitindo a sua migração individual e de forma ativa para o interior da blastocele. Essas células são chamadas de **mesênquima primário** e são derivadas dos micrômeros.

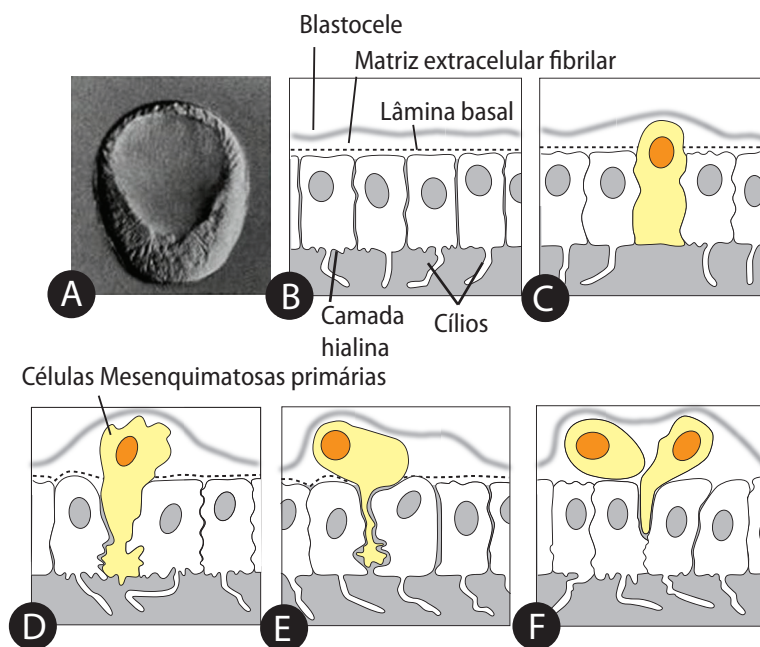


Figura 10.3 - Início da gastrulação em ouriço do mar. (A) fotomicrografia de uma blástula mostrando a placa vegetativa; (B a F) Esquemas mostrando o ingresso do centro da placa vegetativa (derivadas dos micrômeros) para o interior da blastocele, dando origem ao mesênquima primário (GILBERT, 2004).

Após a ingressão, as células do mesênquima primário movem-se pela ação dos filopódios por toda a porção interna do blastoderma, mas assumem uma posição definitiva na região ventrolateral da blastocele, onde parece haver maior aderência (Figura 10.4B). Nesta região, as células do mesênquima primário se fundem em

cordões sinciciais, os quais formarão o eixo das espículas de carbonato de cálcio do esqueleto da larva (endoesqueleto) (Figura 10.4C). Este processo é seguido por uma progressiva invaginação das células remanescentes da placa vegetativa (os descendentes dos macrômeros vegetativos - veg2) para formar o intestino primitivo, também chamado de arquêntero, e as células do mesênquima secundário (Figura 10.4B, C).

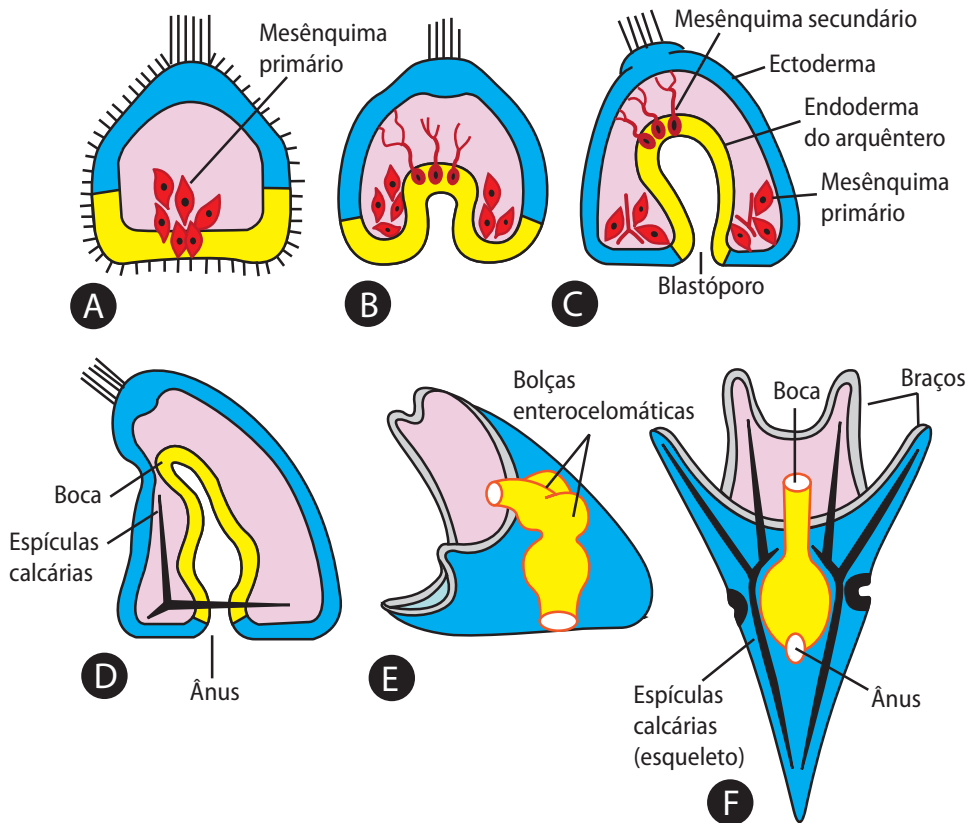


Figura 10.4 - Gastrulação de ouriço do mar e formação de estágios larvais. (A, B e C) Esquemas mostrando a gastrulação; (D a E) Esquemas mostrando a organogênese na larva no estágio de prisma; (F) Esquema mostrando a organogênese da larva pluteus (MULLER, 1996).

A formação do arquêntero pode ser descrita em dois estágios distintos:

- Primeiro estágio: a placa vegetal se dobra (invagina) para o interior e se estende até a metade da blastocela, formando um cilindro curto e largo (Figura 10.5A-B). Este processo é seguido por uma pausa para, em um segundo momento, continuar a extensão do arquêntero. A região invaginada forma o arquêntero (intesti-

Esta mudança leva a célula a ser chamada de “célula garrafa”

no primitivo), sendo o blastóporo a respectiva abertura no pólo vegetativo. Para que ocorra essa invaginação, as células da placa vegetativa **mudam a forma**, devido a um estreitamento em sua base pela contração de microfilamentos presentes no citoesqueleto. Quais são as forças que podem atuar para levar a invaginação dessas células? As células da placa vegetal (e somente essas células) secretam uma substância chamada de glucosaminoglicana de sulfato de condroitina, em uma região localizada diretamente abaixo delas, denominada de lâmina interna da camada hialina. Como essa molécula é higroscópica, isto é absorvente de água, ocorre um aumento do volume (inchamento) da lâmina interna que leva ao envergamento da camada hialina (Figura 10.5B).

b) Segundo estágio: durante essa fase, o arquêntero sofre um alongamento, podendo algumas vezes triplicar seu comprimento. No processo de alongamento, o arquêntero largo e curto é transformado em um tubo longo e delgado, não sendo formadas novas células. Para produzir esse alongamento, as células do arquêntero migram umas sobre as outras e se achatam levando, assim, a uma reorganização celular (Figura 10.5C-D).

Essa última fase é iniciada pela tensão propiciada pelas células do mesênquima secundário, as quais estão localizadas na extremidade mais profunda do arquêntero (Figura 10.4B,C). Essas células estendem filopódios através do fluido da blastocele e fazem o contacto com a superfície interna do blastoderma. Os filopódios se ligam às células do blastoderma e, em seguida, se contraem, arrastando o arquêntero para cima. As células mesenquimais secundárias têm, então, um papel essencial em alongar o arquêntero até alcançar as células do blastoderma do pólo animal. Existe um local específico na parede da blastocele (formada pelo blastoderma) onde os filopódios das células do mesênquima secundário permanecem ligados. Após o alongamento do arquêntero e seu contato com determinadas células do blastoderma, as células do mesênquima secundário se desprendem do fundo do arquêntero e dispersam no interior da blastocele, onde proliferam para formar os órgãos mesodérmicos. Também, no fundo do arquêntero se forma uma vesícula que se divide em duas partes, as quais se destacam do arquêntero. Estas vesículas que são denominadas de

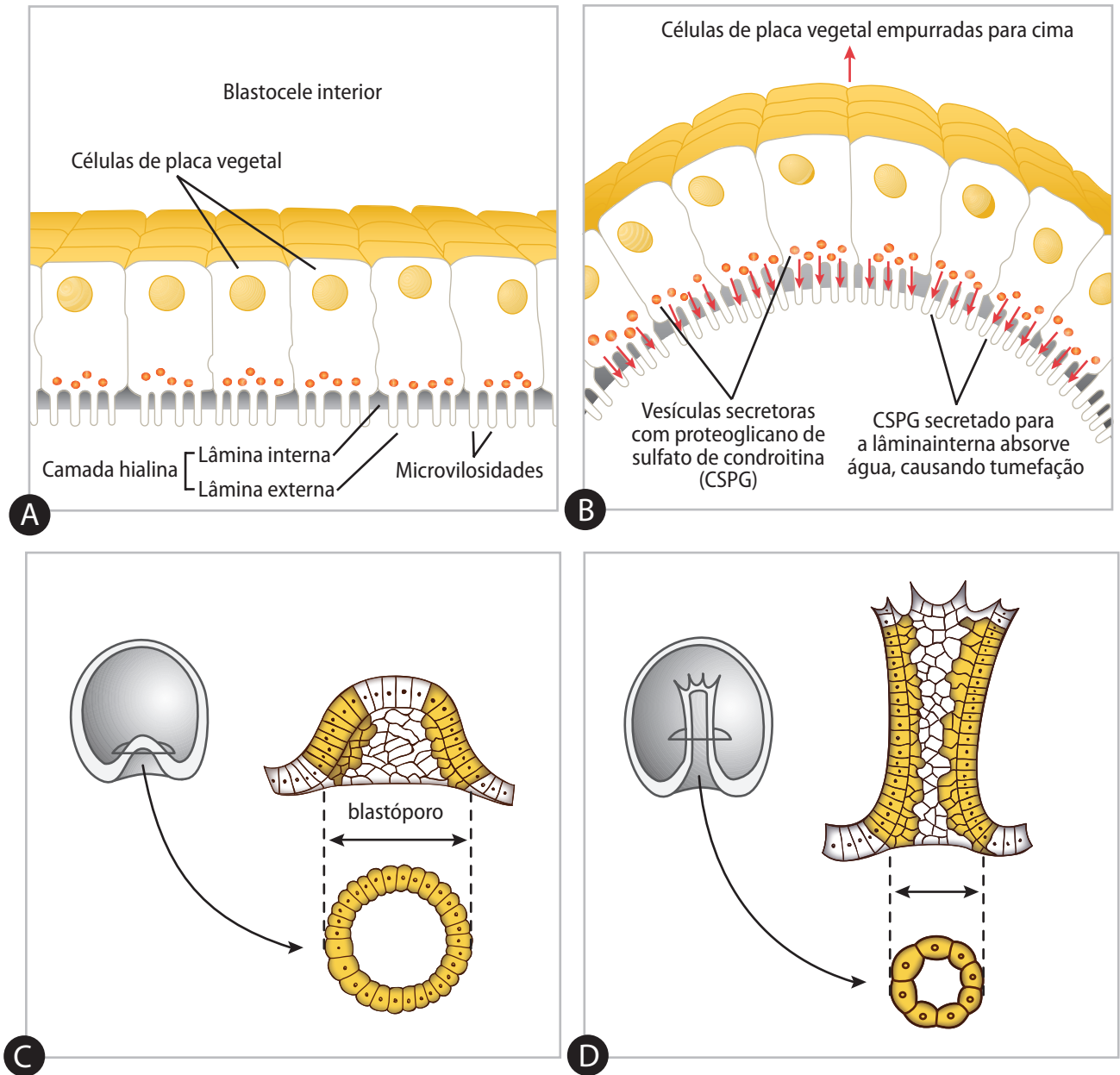


Figura 10.5 - Gastrulação de ouriço do mar. (A-B) Invaginação da placa vegetal; (C-D) Formação e extensão do arquêntero (GILBERT, 2004).

vesículas enterocelomáticas (Figura 10.4E) estão localizadas entre o revestimento externo e tubo digestivo vão dar origem à formação do celoma da larva **plúteus**. No local onde o arquêntero entra em contato com o blastoderma será formada a boca. Assim, como é característico dos deuterostômios, o blastópore marca a posição do ânus (Figura 10.4D).

A gástrula adulta compreende os três folhetos: o ectoderma originado das camadas an1 e an2 e a camada veg1; o endoderma do

arquêntero será originado da veg2; os mesênquimas secundários e primários serão originados de parte da camada veg2 e dos micrômeros, respectivamente. O estágio de prisma é a transição entre a gástrula e a larva plúteus (Figura 10.4D, E, F). No estágio de prisma já inicia a formação dos braços da larva plúteus. A simetria é bilateral nas larvas, passando à radial nos animais adultos.

10.1.3 Organogênese e morfogênese

A organogênese se caracteriza pela diferenciação dos órgãos e formação dos sistemas orgânicos a partir dos folhetos embrionários formados na gastrulação. Após esta fase, os folhetos embrionários se diferenciam e originam os tecidos diferenciados do indivíduo adulto. O ectoderma diferencia-se no sistema nervoso e sistema de revestimento. As células mesodérmicas secretam carbonato de cálcio para a formação das espículas do endoesqueleto da larva, de elementos sanguíneos e de órgãos mesodérmicos. O endoderma dará origem a parede do arquêntero que formará tubo digestivo.

Recapitulando ...

Os equinodermos possuem ovos do tipo oligolécito, apresentam uma clivagem total radial com a formação de uma celoblástula cêntrica e gastrulação através de imigração e invaginação; são animais triblásticos, celomados e apresentam várias características dos cordados, principalmente na fase embrionária: são animais deuterostômios; o celoma forma-se a partir de bolsas do intestino primitivo do embrião (enteroceloma).

10.2 Desenvolvimento embrionário do anfioxo (cordado invertibrado)

grego *cephale* = cabeça,
chorda = cordão

Os anfioxos pertencem ao subfilo dos **cefalocordados**. Estes animais marinhos formam um pequeno grupo semelhante aos peixes, os quais são marinhos e vivem enterrados na areia apenas com extremidade anterior de fora, embora possam nadar livremente. Entre todos os cordados inferiores, o anfioxo apresenta caracterís-

ticas mais próximas dos cordados superiores: tubo neural dorsal, notocorda subjacente e fendas faríngeas bem desenvolvidas.

10.2.1 Segmentação e formação da blástula

O anfioxo apresenta um ovo oligolécito. Porém a pequena quantidade de vitelo não se encontra regulamente distribuída e sim concentrada no pólo vegetativo do ovo. Portanto, o citoplasma do ovo do anfioxo apresenta diferenças regionais: (a) no pólo vegetativo verifica-se a presença de vitelo, embora os grãos sejam pouco abundantes e relativamente pequenos; (b) no pólo animal, o citoplasma é mais transparente e praticamente sem vitelo; (c) uma região em forma de um crescente localizada no equador da célula e com uma habilidade toda especial para colorir-se profundamente com corantes básicos.

Por se tratar de um ovo oligolécito, as clivagens que se seguem são totais ou holoblásticas. Cerca de 1 hora após a fecundação ocorre a primeira clivagem, seguindo um plano meridional (ou longitudinal ou vertical), formando 02 blastômeros do mesmo tamanho (Figura 10.6B). A simetria bilateral já estava determinada antes da fecundação e os dois blastômeros iniciais vão constituir a metade direita e esquerda do corpo. Esses dois blastômeros se dividem novamente, também seguindo um plano meridional, porém perpendicular ao primeiro, formando 04 blastômeros organizados no mesmo plano (Figura 10.6C). Esta é a fase de *mórula*. A terceira clivagem é latitudinal ou levemente supraequatorial, devido aos poucos grãos de vitelo concentrados no pólo vegetativo. Da terceira clivagem, resultam 08 blastômeros organizados em duas camadas, sendo 04 blastômeros na metade animal, levemente menores, sobrepostos a 04 blastômeros na metade vegetativa (Figura 10.6D). As demais divisões ocorrem alternadamente nos planos meridionais e latitudinais, formando-se sucessivamente, 16, 32, 64, 128 blastômeros. Os blastômeros vão aumentando em número e progressivamente vão sendo deslocados para a periferia, sendo que no final da clivagem se formou uma ampla blastocele. A *blástula final* possui aproximadamente 200 células, sendo as células do pólo animal são levemente menores que aquelas do pólo vegetativo (Figura 10.6E, F; 10.7A).

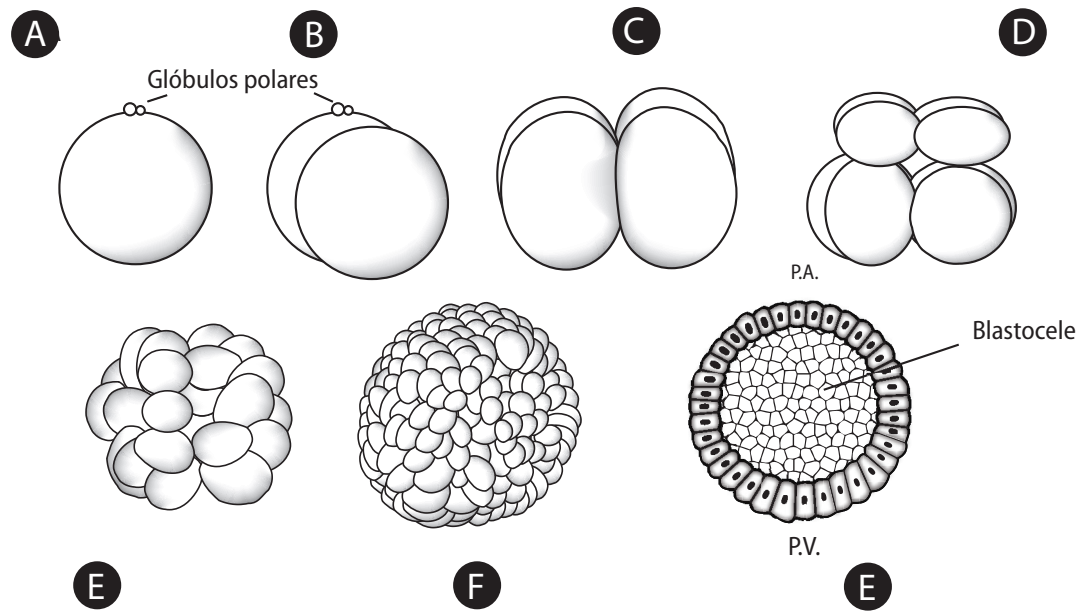


Figura 10.6 - Clivagem holoblástica bilateral em ovo de anfíoxo. (A) Zigoto; (B) Estágio de 2 blastômeros; (C) Estágio de 4 blastômeros; (D) Estágio de 8 blastômeros; (E) Estágio de blástula – vista externa; (F) Estágio de blástula – celoblástula cêntrica – seccionada ao meio (modificado de STORER et al., 1995; GILBERT & RAUNIO, 1997).

10.2.2. Gastrulação

Um indício do início da gastrulação é o achatamento das células do blastoderma do pólo vegetativo (Figura 10.7B). Logo em seguida começa a ocorrer uma invaginação do pólo vegetativo, levando as células do futuro endoderma para o interior da blastocele (Figura 10.7C, D). A cavidade resultante dá origem ao arquêntero ou intestino primitivo, o qual se comunicará com o exterior através de uma abertura denominada de blastóporo (Figura 10.7F). A cavidade inicial do arquêntero vai se aprofundando e se estreitando, resultando em uma aproximação dos lábios do blastóporo, o qual gradativamente vai se restringindo a um pequeno orifício circular (Figura 10.7G). A medida que o arquêntero aumenta a blastocele vai sendo obliterada pouco a pouco. A parede da gástrula, nesta fase, é constituída por duas camadas celulares: a externa, denominada de ectoderma, e a interna, de mesentoderma. O mesentoderma origina, em seguida, duas camadas celulares: o mesoderma e o endoderma.

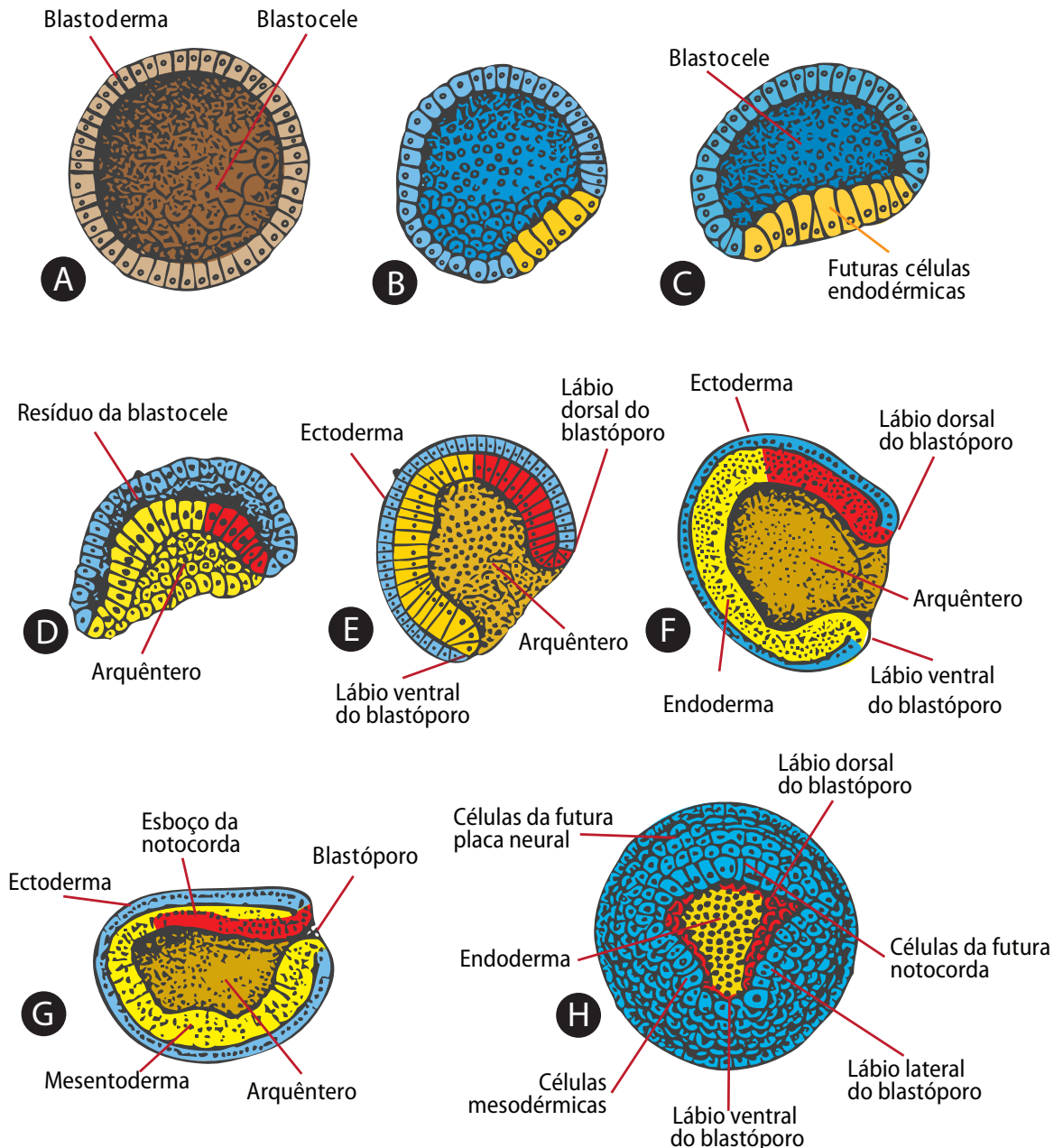


Figura 10.7 - Fases da gastrulação em anfioxo. (A) Blástula; (B a D) Invaginação do pólo vegetativo; (E-F) Constrição do blastóporo; (G) gástrula final; (H) gástrula representada em F, porém vista a partir do blastóporo (modificado de BALINSKY, 1983).

Nesta fase, os movimentos celulares são muito intensos no lábio dorsal do blastóporo, onde as células se interiorizam também por involução sendo que posteriormente vão se situar entre o ectoderma e endoderma, transformando-se em mesoderma e notocorda. Estas células irão colocar-se no teto do arquêntero, sendo inicialmente chamadas de cordomesoblástica, por ainda não se distinguirem.

A notocorda surge como um sulco de concavidade dirigida para baixo, cujas bordas posteriormente se fundem formando um cordão compacto de direção anteroposterior (Figura 10.8B). Simultaneamente, as células mesodérmicas situadas bilateralmente à notocorda invaginam-se formando bolsas, as bolsas enterocelomáticas, que se transformam em vesículas que se destacam do arquêntero e que se dispõem longitudinalmente, em cada lado da linha média, entre o ectoderma e o endoderma (Figura 10.8B). A porção ventral destas vesículas se desenvolve, insinuando-se em direção ao endoderma. Após, as porções ventrais do mesoderma se delaminam, formando a lâmina somática e a lâmina esplâncnica do mesoderma lateral, e entre elas um espaço chamado de celoma (Figura 10.8B-D). Ao contrário da porção ventral, as porções dorsais formam pares de segmentos denominados de somitos, conservando um aspecto metamérico. Unindo os somitos ao mesoderma lateral, encontra-se o mesoderma intermediário, representado por duas faixas longitudinais de tecido (Figura 10.9).

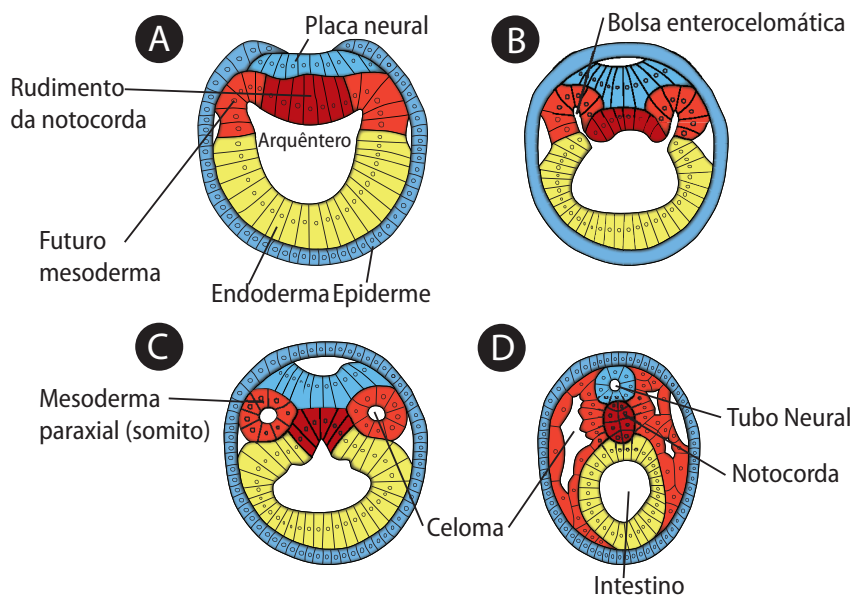


Figura 10.8 - Sequência da formação do rudimento dos primeiros órgãos do anfioxo. Os cortes estão representados em um plano transversal (BALINSKY, 1983).

Conforme ocorre a diferenciação do mesoderma, também ocorre a formação do tubo neural a partir do ectoderma dorsal sobrejacente a notocorda. Neste processo, as células ectodérmicas situadas acima das notocorda se alongam e formam a placa neural. A região central desta placa invagina formando o sulco neural. As bordas da placa,

chamadas de pregas neurais, se tornam salientes e convergem para a linha média, onde se fusionam e dão origem ao tubo neural (Figura 10.8; 10.9). Este tubo dorsal é o precursor do sistema nervoso central.

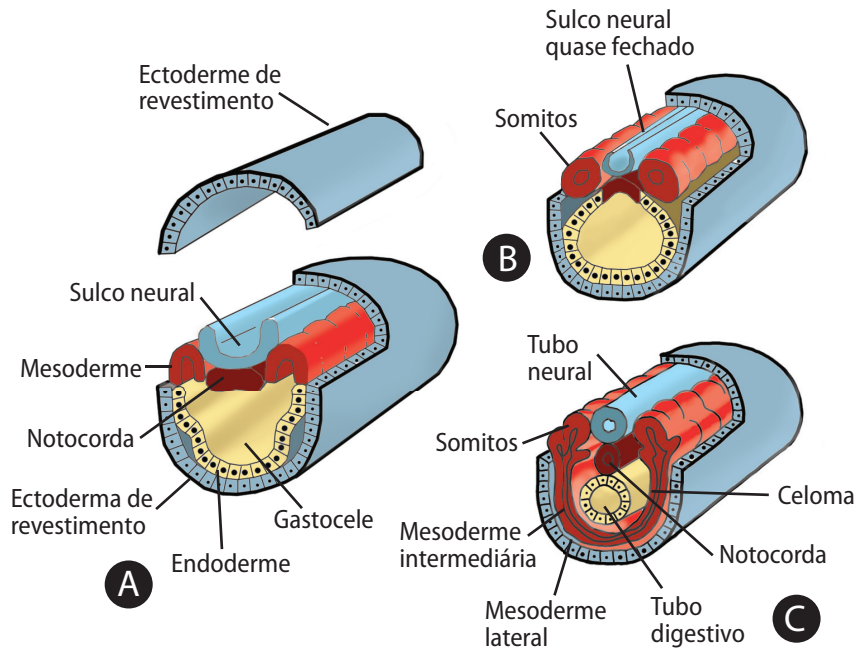


Figura 10.9 - Sequência da formação do rudimento dos primeiros órgãos do anfixo. Os esquemas estão representando a porção posterior do embrião tridimensionalmente (GARCIA & FERNÁNDEZ, 2001).

O movimento de involução completa-se com um movimento de epibolia, permitindo um alongamento anteroposterior da gástrula devido a um alongamento de toda a camada ectodermal (epiderme e placa neural). Isto leva a um crescimento do embrião.

10.2.3. Organogênese e morfogênese

A organogênese se caracteriza pela diferenciação dos órgãos e formação dos sistemas orgânicos a partir dos folhetos embrionários formados na gastrulação. A fase inicial da organogênese é a neurulação. Após esta fase, os folhetos embrionários se originam e diferenciam e os demais tecidos do indivíduo adulto. O ectoderma se diferencia no tubo neural, o mesoderma dá origem aos somitos e a notocorda e o endoderma ao sistema digestório.

Recapitulando ...

O anfíoxo possui ovo do tipo oligolécito, com uma distribuição heterogênea dos poucos grãos de vitelo; apresenta um modelo de clivagem holoblástica bilateral com a formação de uma celoblástula cêntrica; a gastrulação ocorre através dos movimentos de invaginação, involução e epibolia; são animais triblásticos, celomados por enterocelia; o destino do blastóporo é formar o ânus (deuterostômios).

10.3 Desenvolvimento embrionário de anfíbio

10.3.1 Segmentação e formação da blástula

Na maioria dos embriões de anfíbios, a clivagem é holoblástica do tipo radial, como ocorre nos equinodermos. Contudo, o ovo é denominado de mesolécito heterolécito por conter média quantidade de vitelo e distribuído de forma heterogênea no citoplasma do ovo. O vitelo concentra-se no hemisfério vegetativo e, devido sua média quantidade, interfere na velocidade de formação do sulco de clivagem. Com isso, a primeira divisão inicia no pólo animal e vagarosamente se estende até a região vegetativa (Figura 10.10B).

O primeiro plano de clivagem é longitudinal (meridional), ou seja, se estende do pólo animal ao vegetativo. Quando o 1º sulco de clivagem ainda está tentando clivar o vitelo presente no citoplasma do hemisfério vegetativo, a segunda clivagem já teve início próximo ao pólo animal. Estas duas clivagens ocorrem em ângulo reto, uma em relação à outra e dão origem a 04 blastômeros do mesmo tamanho (Figura 10.10C). A terceira clivagem é equatorial desigual ou latitudinal (mais próximo do pólo animal), devido ao vitelo acumulado vegetativamente. Esta clivagem origina um total de 08 blastômeros organizados em duas camadas: 04 blastômeros superiores menores (micrômeros) na metade animal e 04 blastômeros inferiores maiores (macrômeros) na metade vegetativa (Figura 10.10D). Essa clivagem holoblástica desigual estabelece duas regiões embrionárias principais: uma de divisão rápida de micrômeros, próxima ao pólo animal, e outra de macrômeros, mais lenta. Assim, com a evolução da fase de clivagem, a

região animal fica constituída de um grande número de micrômeros, enquanto que a região vegetativa contém uma pequena quantidade de macrômeros, carregados de vitelo. Os embriões anfíbios no estágio de 16 a 64 células são frequentemente chamados mórulas (Figura 10.10F). No estágio de 128 células a blastocele se torna aparente e o embrião é considerado uma blástula (Figura 10.10G; 10.11A).

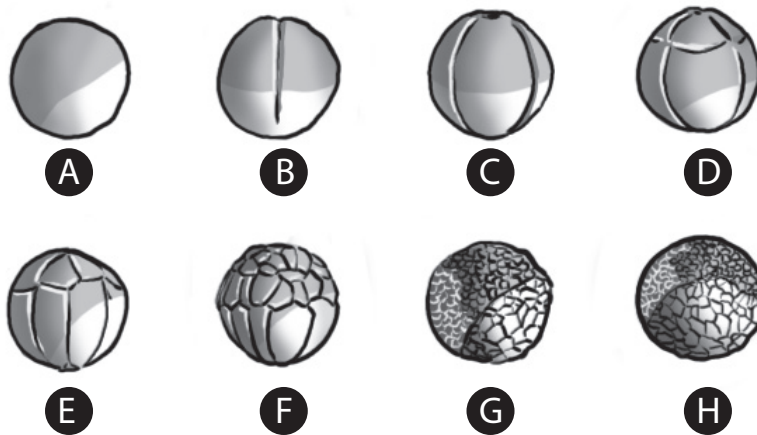


Figura 10.10 - Clivagem holoblástica radial em ovos de anfíbios. (A) Zigoto; (B) Estágio de 2 blastômeros; (C) Estágio de 4 blastômeros; (D) Estágio de 8 blastômeros; (E) Estágio de 16 blastômeros; (F) Estágio de mórula (vista lateral); (G) e (G') Blástula (vista lateral e dorsal) (HOUILLON, 1972).

A blastocele provavelmente exerce duas funções principais no embrião de anfíbios: (1) é uma cavidade que permite os movimentos celulares durante a gastrulação, e (2) impede que células que estão abaixo (macrômeros) interajam prematuramente com as células de cima (micrômeros), o que iria interferir no destino das células. Enquanto essas células estão se dividindo, numerosas células com moléculas de adesão mantem-se unidas.

10.3.2 Gastrulação

Os movimentos celulares durante a gastrulação de anfíbios, como nos demais animais, levam: para o interior do embrião aquelas células destinadas a formar tecidos e/ou órgãos endodérmicos, revestir externamente o embrião aquelas células capazes de formar o ectoderma e posicionar nas regiões intermediárias as células que se tornarão mesodérmicas.

Os movimentos celulares que ocorrem na gastrulação foram inicialmente acompanhados/visualizados através da técnica de coloração vital. Vogt (1929) impregnou fragmentos de Agar com corantes, como vermelho neutro ou sulfato de azul do Nilo, os quais coram as células embrionárias sem danificá-las. Esses fragmentos corados foram pressionados contra a superfície da blástula, sendo que uma parte do corante foi transferida para as células que entraram em contato (Figura 10.11). Os movimentos de cada grupo de células corado foram acompanhados através da gastrulação e com os resultados foram elaborados **mapas do destino das células** (do cognato inglês: fate maps). Esses

mapas foram confirmados e ampliados por técnicas de microscopia eletrônica de varredura e de injeção de corantes vitais.

Estudos com corantes vitais mostraram que as células da blástula de *Xenopus* têm diferentes destinos, dependendo se elas se encontram nas camadas profundas ou superficiais do embrião. Neste anfíbio, os precursores mesodérmicos encontram-se somente na camada profunda, enquanto que os precursores do ectoderma e endoderma se originam da camada superficial da blástula. Os precursores da notocorda e outros tecidos mesodérmicos encontram-se localizados na região equatorial da blástulae, traee videsse intem.

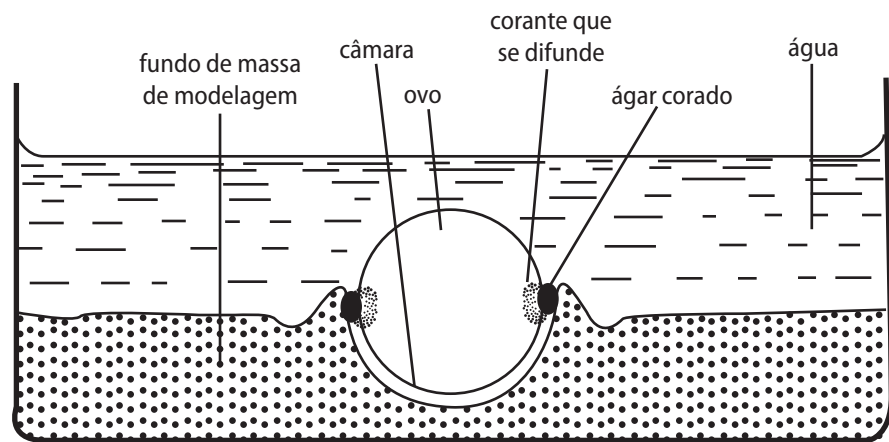


Figura 10.1 - Esquema mostrando a técnica das marcas coradas idealizada por Vogt, onde ocorre a colocação de marcas coradas com corantes vitais sobre o ovo de anfíbio (HOUILLO, 1972).

A gastrulação inicia na zona marginal próxima ao equador da blástula, onde o hemisfério animal e vegetal se encontra, próximo a região denominada **crescente cinzento**. Nesse ponto, as células formam uma pequena invaginação e dão lugar à formação de um blastôporo em forma de fenda (Figura 10.12B). Para isso, estas células modificam sua forma e passam a ser chamadas de “células garrafa”, que conforme gastrulação progride vão revestindo o arquêntero que vai sendo formado. O local onde a gastrulação inicia demarca o futuro lado dorsal do embrião. Neste local, as células não são tão grandes e nem tão ricas em vitelo como os blastômeros do pólo vegetativo.

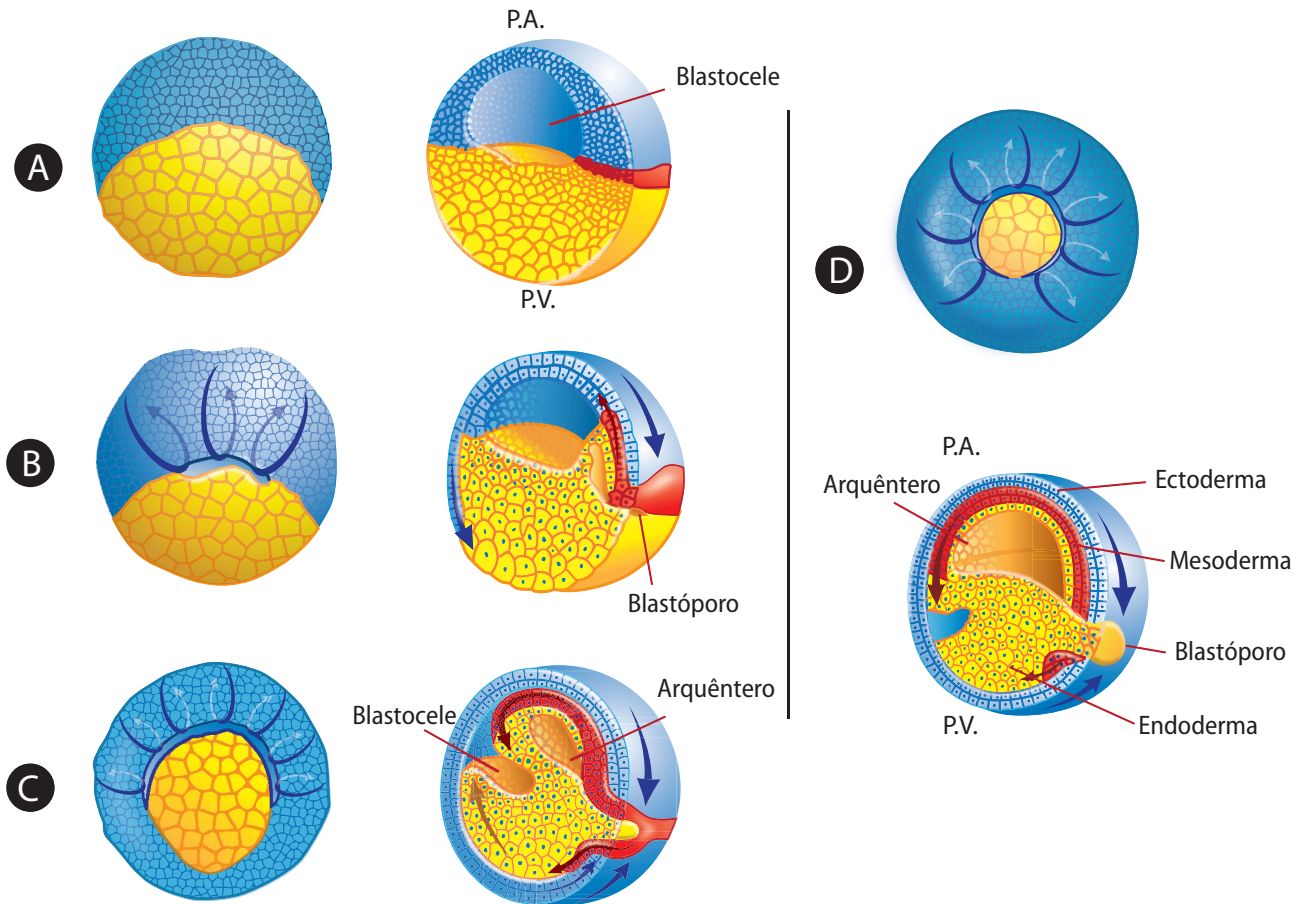


Figura 10.12 - Gastrulação no ovo de anfíbio. (A) Blástula; (B) Gástrula inicial; (C) Gástrula intermediária; (D) Gástrula final. Na coluna da esquerda, os desenhos mostram uma visão externa; Na coluna do meio: os esquemas mostram a blástula e as gástrulas em corte, de forma que o blastóporo seja dividido em duas metades; Na coluna da esquerda, os esquemas indicam os movimentos de gastrulação: seta azul indica a epibolia e a seta vermelha a involução (Modificado de CAMPBELL, 1990).

A próxima etapa da gastrulação envolve a involução de algumas das células da zona marginal. Enquanto isso, as células do pólo animal se expandem por epibolia a fim de se cobrirem todo o embrião, movimentando-se em direção ao blastóporo (Figura 10.12B). As células que involuem se interiorizam, situando-se ao longo da superfície interna das camadas celulares externas. Dessa forma, as células que constituem o lábio do blastóporo estão constantemente mudando. A involução das células marginais através do lábio do blastóporo dá início à formação do arquêntero. À medida que as células vão se interiorizando, o arquêntero se desenvolve e a blastocèle é deslocada para o lado oposto ao lábio dorsal do blastóporo até ser totalmente obliterada (Figura 10.12C). Enquanto isso, o lábio do blastóporo se

expande lateral e ventralmente, formando um blastóporo circular assim, forma-se, um anel ao redor das grandes células endodérmicas que permanecem expostas na superfície do pólo vegetativo, chamada de rolha ou tampão vitelínico, que também é finalmente internalizado (Figura 10.12D). Ao final da gastrulação, todos os precursores endodérmicos e mesodérmicos foram levados para o interior do embrião através da involução. Ao mesmo tempo, as células precursoras do ectoderma revestiram externamente a superfície através da epibolia (recebimento). Estes movimentos resultaram no posicionamento dos três epitélios germinativos que se preparam para a diferenciação nos diversos tecidos e órgãos do corpo. Neste período da gastrulação, o embrião é conhecido como gástrula.

Portanto, ao final da gastrulação: o blastóporo se fechou; os tecidos mesodérmicos dorsal, lateral e ventral já alcançaram as posições definitivas; o intestino se formará a partir do arquêntero; e o ectoderma se espalhou recobrimdo externamente todo o embrião. Existe ainda, uma grande quantidade de vitelo acumulado que fornece nutrientes até que a larva eclodida comece a se alimentar.

A gastrulação não existe como um processo independente na vida do animal. Na verdade, a preparação para a gastrulação nos anfíbios já pode ser visualizada no momento da fusão do ovócito II com o espermatozoide. O ovócito II possui uma polaridade ao longo do eixo animalvegetativo. O destino geral dessas regiões pode ser previsto antes da fecunda-

ção. A superfície do hemisfério animal se transformará nas células de origem ectodérmica (a epiderme da pele e os nervos), o hemisfério vegetativo formará as células de origem endodérmica (células que revestem o tubo digestivo e órgãos associados), e as células mesodérmicas serão formadas a partir das células mais internas, ao redor do equador.

Os eixos dorsoventral, anteroposterior e direito esquerdo ainda não foram determinados antes da fecundação. O ovócito II de anfíbio apresenta uma pigmentação que possui uma localização restrita no citoplasma cortical (ou periférico) da metade animal. Após a fecundação, a zona pigmentada cortical sofre uma rotação (deslocamento) de 30° em direção ao pólo vegetativo que, por consequência, leva a um recuo de 30° do citoplasma cortical em direção ao pólo animal, originando uma zona menos pigmentada (tonalidade acinzentada), denominada de **crescente cinzento** (Figura 10.13). O sulco da 1ª clivagem secciona o **crescente cinzento**, sendo que cada um dos blastômeros recém formados contém uma metade dessa região.

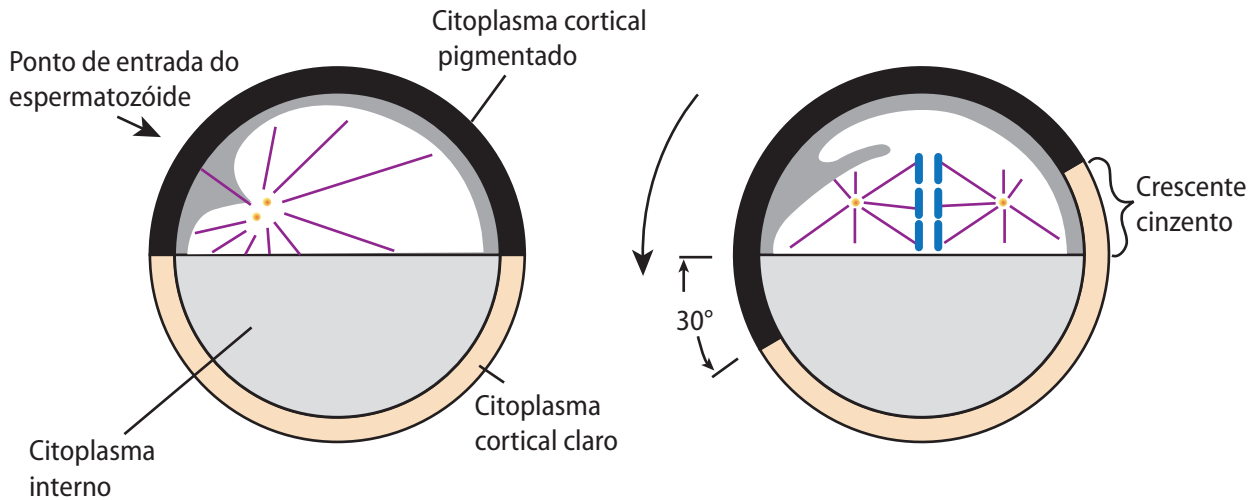


Figura 10.13 - Formação do crescente cinzento nos anfíbio (GILBERT, 2004).

Esses movimentos citoplasmáticos ativam o citoplasma oposto ao ponto de entrada do espermatozoide de modo a iniciar a gastrulação. O lado pelo qual entra o espermatozoide marca a futura superfície ventral do embrião e o lado oposto, onde se inicia a gastrulação, marca o futuro lado dorsal do embrião. Portanto, o eixo dorsoventral dos embriões de anfíbios é determinado pelo local de entrada do espermatozoide.

Parece, então, que os rearranjos internos do citoplasma, provavelmente orientados pela entrada do espermatozoide, são responsáveis pela distribuição assimétrica de fatores citoplasmáticos (determinados RNAs e proteínas). Essa assimetria cria uma distinção dorsoventral no ovo que leva a um posicionamento do blastoporo acima do conjunto de blastômeros vegetativos e, no lado oposto ao ponto de entrada do espermatozoide.

10.3.3. Organogênese e morfogênese

A gastrulação é seguida pela **neurulação**, ou seja, a formação do tubo neural que é precursor do sistema nervoso central. Este processo marca o início da organogênese. Nesse período, o embrião é chamado de nêurula. O sinal inicial visível da neurulação é a formação das pregas neurais na placa neural, uma área de ectoderma situada em cima da notocorda. As dobras elevam-se, dobram-se e se fusionam formando um tubo que fica subjacente a epiderme (como descrito no capítulo 6). Esse processo de formação do tubo neural ocorre no ectoderma localizado no lábio dorsal do blastoporo (Figura 10.14). As células das cristas neurais se desprendem das

dobras do tubo neural e migram através do corpo para participar na formação de diferentes estruturas. O tubo neural na região anterior do embrião formará o encéfalo e no restante do corpo a medula.

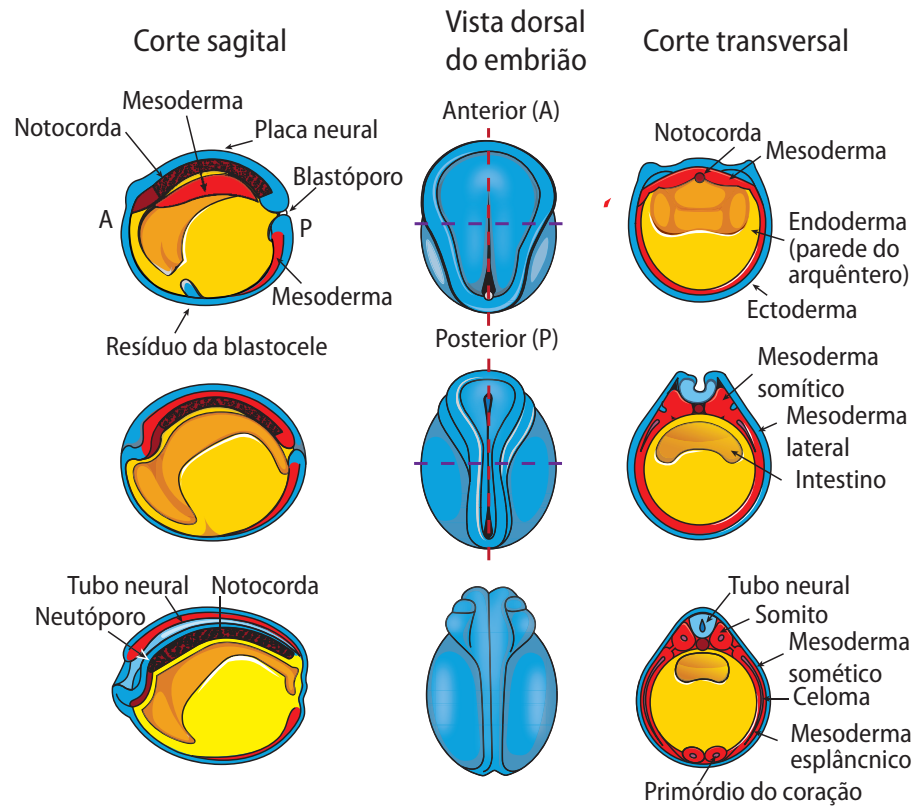


Figura 10.14 - Neurulação em anfíbio. Fileira superior: formação da placa neural. Fileira central e inferior: formação das dobras neurais que se unem na linha média para formar o tubo neural, a partir do qual se desenvolvem o encéfalo na porção cefálica e a medula na porção caudal. O painel direito mostra cortes transversais do embrião nos planos indicados pela linha azul no painel central; o painel esquerdo mostra cortes sagitais do embrião nos planos indicados pela linha vermelha no painel central; o painel central mostra vistas da superfície dorsal do embrião (MULLER, 1996).

Com a formação do tubo neural e diferenciação do sistema nervoso, o embrião se alonga no sentido do eixo anteroposterior e, externamente, podemos reconhecer as principais características de um vertebrado (morfogênese). Na extremidade anterior, o encéfalo está dividido em três regiões (chamadas vesículas encefálicas primitivas), os olhos e ouvidos começam a se desenvolver, existe a presença de três pares de arcos faríngeos (ou branquiais). Mais posteriormente, os somitos e a notocorda encontram-se bem desenvolvidos e ocorre o desenvolvimento da cauda a partir do botão caudal (protuberância). Internamente ocorre a formação de uma variedade de tecidos e órgãos, Com isso, o embrião começa a se parecer com um

girino, que é a forma larval que eclode nos anfíbios. O girino eclode de seu envoltório gelatinoso e começa a nadar e esse alimentar (Figura 10.15). Mais tarde no desenvolvimento, a forma larval de girino sofre metamorfose (a cauda regride e os membros se formam) e dá origem a um indivíduo adulto.

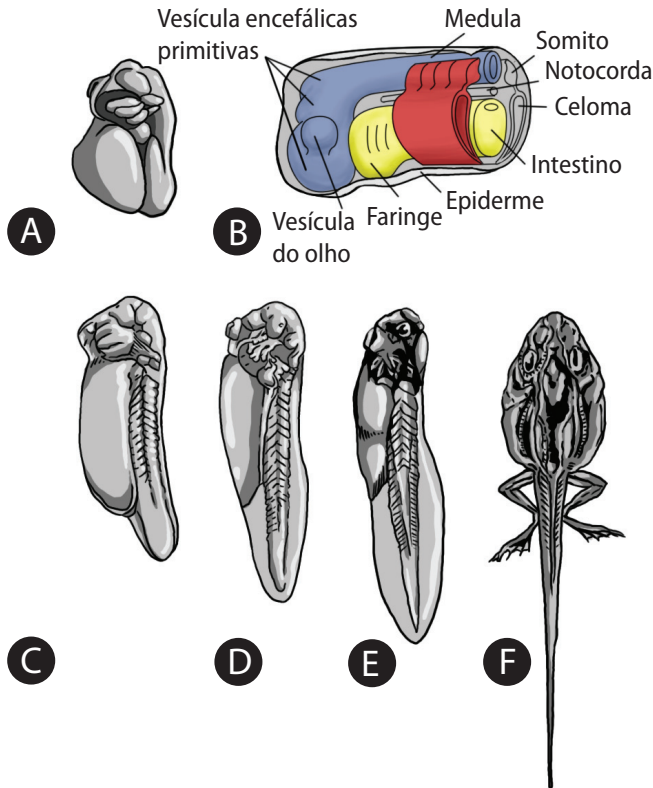


Figura 10.15 - Desenvolvimento de anfíbio. (A) Embrião no início da fase de botão caudal em vista lateral; (B) Embrião no início do estágio de botão caudal (flotípico), em corte, mostrando o plano básico do corpo; (C) Embrião no estágio de botão caudal médio em vista lateral; (D) Embrião próximo a eclosão em vista lateral; (E) Larva recém eclodida em vista lateral; (F) Girino em vista dorsal (HOUILLON, 1972; MULLER, 1996).

A formação dos sistemas orgânicos (organogênese) e as mudanças na forma do corpo do embrião (morfogênese) serão adquiridas gradativamente. Estes processos ocorrem simultaneamente em mesmo intervalo de tempo, mas com diferentes intensidades. Os processos de morfogênese podem ser acompanhados, pois eles refletem mudanças na forma externa do corpo. Porém, os processos de organogênese só poderão ser acompanhados através da realização de cortes histológicos no embrião, para a visualização do desenvolvimento das estruturas internas em embriões de diferentes idades.

Recapitulando ...

Os anfíbios produzem ovos do tipo mesolécito heterolécito com vitelo acumulado no pólo vegetativo; apresentam um modelo de clivagem holoblástica radial, com formação de macrômeros e micrômeros; formação de uma blástula do tipo celoblástula excêntrica, com blastocele deslocada para o pólo animal; a gastrulação ocorre através dos movimentos de invaginação e epibolia; são animais triblásticos; o destino do blastóporo é formar o ânus (deuterostômios); possuem desenvolvimento indireto, com a presença da larva girino que possui morfologia e fisiologia diferentes dos adultos.

10.4 Desenvolvimento embrionário de peixes ósseos

10.4.1 Segmentação e formação da blástula

Nos últimos anos, o peixe zebra (zebrafish), espécie *Danio rerio* se tornou o organismo favorito para quem deseja estudar o desenvolvimento dos vertebrados, pelo fato de terem grandes crias, procriarem o ano inteiro, serem facilmente mantidos vivos e por possuírem um embrião transparente que se desenvolve fora da mãe. Adicionalmente, eles se desenvolvem rapidamente, para que 24 horas após a fertilização, o embrião já tenha formado a maior parte de seus tecidos e órgãos primordiais, apresentando como característica a forma semelhante ao girino dos anfíbios.

O modelo de clivagem que ocorre nos ovos dos peixes, como nos demais ovos, depende da quantidade de vitelo presente no ovo. Existem alguns peixes com ovos oligolécitos, outros com ovos mesolécitos, porém a maioria das espécies possui ovos com grande quantidade de vitelo.

O peixe zebra possui ovos com muito vitelo, ovos megalécitos do tipo telolécito, e sofre um modelo de clivagem similar ao das aves. Neste tipo de ovo, a divisão celular ocorre somente em um pequeno disco de citoplasma sem vitelo (blastodisco) localizado no pólo animal, originando células somente nessa região. Portanto, a clivagem nos ovos de peixe é meroblástica (ou parcial) do tipo discoidal (Figura 10.16A, B, C; 10.17).

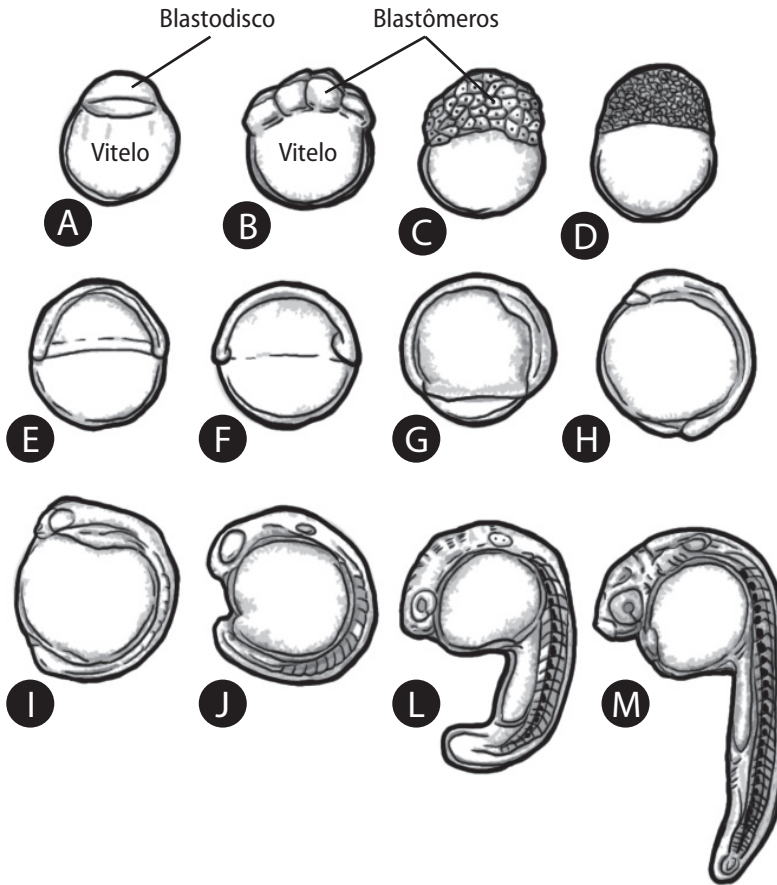


Figura 10.16 - Esquemas do desenvolvimento de zebrafish *Danio rerio*. (A) Zigoto. *Período de clivagem*: (B) 8 Blastômeros; (C) 64 Blastômeros. *Período de blástula*: (D) Blástula inicial (256 blastômeros). *Período de gástrula*: (E) Estágio de anel germinativo; (F) Estágio de escudo embrionário; (G) 75% de Epibolia; (H) 90% de Epibolia. *Período de somitogênese*: (I) Estágio de 6 somitos; (J) Estágio de 14 somitos; (L) Estágio de 21 somitos; (M) Estágio de 26 somitos (GILBERT & RAUNIO, 1997).

Como nos embriões de ouriços do mar e anfíbios, as clivagens iniciais seguem um padrão de clivagens meridionais (ou longitudinais ou verticais) e equatoriais (horizontais). Essas divisões são rápidas e sincrônicas, formando um grupo de células situado no pólo animal, em cima de uma grande massa de vitelo que preenche toda a metade vegetativa do ovo. As cinco primeiras clivagens são todas meridionais. A primeira ocorre no centro do blastodisco, dividindo-o em dois blastômeros de mesmo tamanho (Figuras 10.17B, 10.18B). O segundo plano de clivagem é também meridional, mas perpendicular ao primeiro, originando 4 blastômeros (Figuras 10.17C, 10.18C). A terceira clivagem ocorre em um plano paralelo à primeira, dividindo os 4 blastômeros existentes e as-

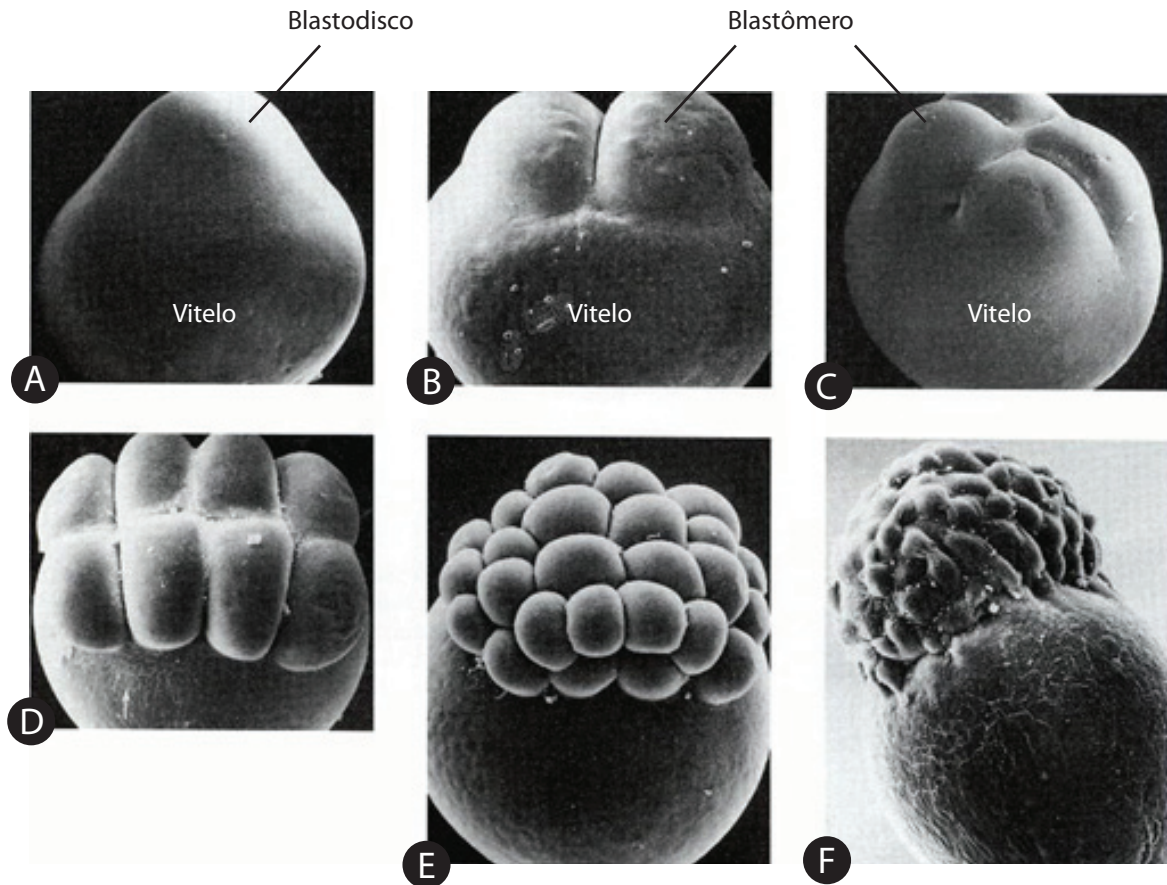


Figura 10.17 - Micrografias eletrônicas de varredura das fases iniciais do desenvolvimento de zebrafish *Danio rerio*. (A) Zigoto; (B) 2 Blastômeros; (C) 4 Blastômeros; (D) 8 Blastômeros; (E) 32 Blastômeros; (F) 64 – 128 Blastômeros (GILBERT, 2004).

sim, formando 8 blastômeros (Figuras 10.16B, 10.17D, 10.18D). A quarta clivagem ocorre em um plano paralelo à segunda clivagem, dividindo as duas fileiras de 4 blastômeros em quatro fileiras de 4 blastômeros cada, resultando num total de 16 blastômeros (Figura 10.18E). Neste período ocorre uma projeção central do vitelo sob os blastômeros que estão se dividindo, elevando assim os blastômeros centrais acima do plano de clivagem. O quinto plano de clivagem ocorre paralelo ao primeiro e ao terceiro, dando origem a 32 blastômeros (Figuras 10.17E, 10.18F). A partir da sexta clivagem, ocorrem planos de clivagem com diversas orientações, dando origem de 64 a 128 blastômeros (Figura 10.16C, 10.17F). Este estágio é caracterizado como estágio de mórula. Estas células ficam arranjadas em duas ou mais camadas formando um blastoderma em forma de cúpula. Conforme as clivagens progredirem ocorre uma desaceleração das divisões celulares e os movimentos

celulares começam a se tornarem evidentes. O primeiro movimento celular evidenciado é a epibolia (Figura 10.19A, B). Neste movimento, as células do blastoderma se movem sobre a superfície do vitelo recobrando-o.

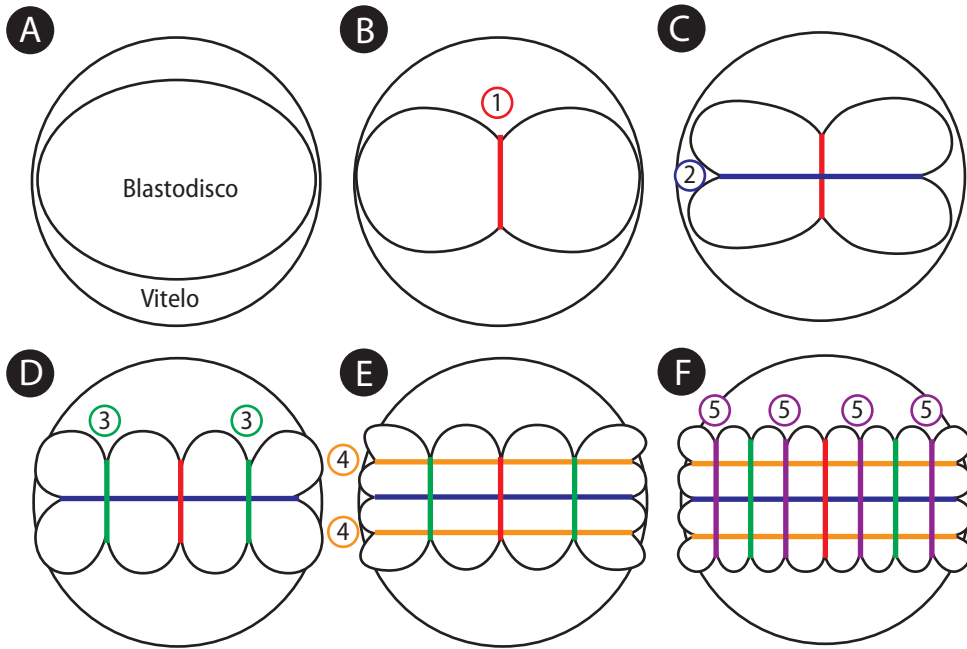


Figura 10.18 - Esquemas mostrando os planos de divisão celular durante o período de clivagem. (A) Zigoto; (B) 2 Blastômeros; (C) 4 Blastômeros; (D) 8 Blastômeros; (E) 16 Blastômeros; (F) 32 Blastômeros.

A fase de blástula se caracteriza pela formação de espaços irregulares por entre as células que constituem o blastoderma ou ainda, em algumas espécies, ocorre a formação de uma ínfima blastocel. A blástula do modelo de segmentação meroblástica discoidal é denominada de discoblástula, sendo que ela possui a forma de um disco que repousa sobre a uma grande massa de vitelo (Figuras 10.16D, 10.19A). No final deste estágio, já ocorre o início do movimento de epibolia das células do blastoderma que, aos poucos, vai se tornando mais delgado.

10.4.2 Gastrulação

A fase de gástrula se caracteriza pela continuidade e término do movimento de epibolia (seta azul), e pelo início do movimento de involução (seta vermelha) (Figura 10.19C) das futuras células

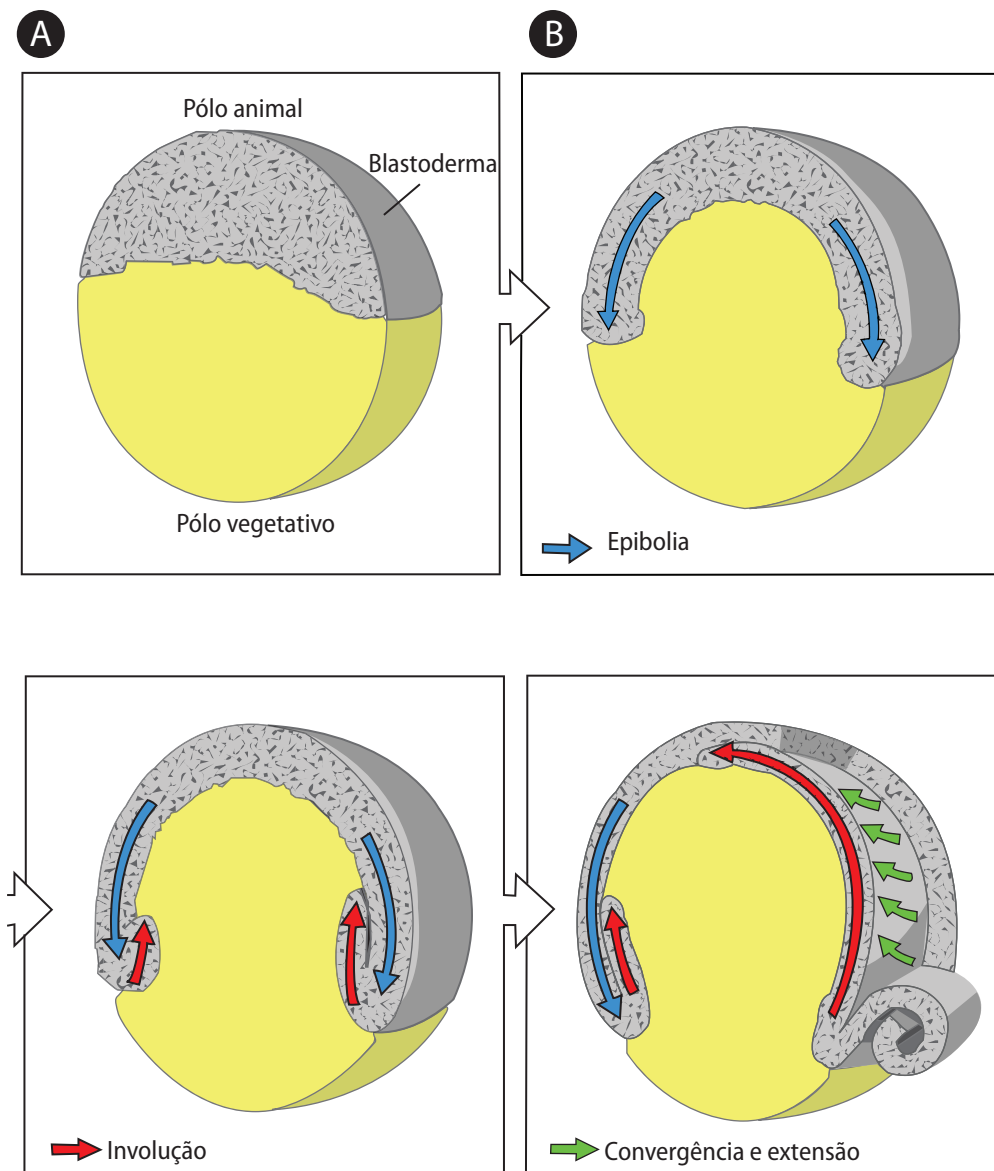


Figura 10.19 - Epibolia e gastrulação no desenvolvimento de zebrafish *Danio rerio*. (A) Blástula; (B) Recobrimento do vitelo pelas células do blastoderma por epibolia (seta azul); (C) Início da gastrulação caracterizada pelo movimento de involução (seta vermelha); (D) Movimentos de convergência e extensão das células recém interiorizadas (seta verde) em direção a linha média dorsal para formar o corpo do embrião ao redor do vitelo (WOLPERT, 2008).

endodérmicas e mesodérmicas, e também pelos movimentos de convergência e extensão das células recém interiorizadas (seta verde) (Figura 10.19D) em direção a linha média dorsal para formar o corpo do embrião ao redor da massa de vitelo, à medida que o embrião se alonga em uma direção anteroposterior.

A involução inicia após a epibolia atingir 50%, ou seja, o vitelo se encontra recoberto em 50% da sua extensão. Neste estágio

se torna evidente um espessamento da borda marginal do blastoderma, formando o anel germinativo (Figura 10.16E). A partir do momento que as células iniciam a involução, o embrião encontra-se na fase chamada de “escudo” embrionário (Figuras 10.16F, 10.20B). Neste período, as células que sofrem involução formam duas camadas distintas: o epiblasto (camada externa) e o hipoblasto (camada interna) (Figuras 10.20B, C).

Quando a epibolia atinge 90%, verifica-se que o embrião possui o ectoderma (folheto mais externo) e o mesentoderma. Este último dará origem ao mesoderma (folheto intermediário) e ao endoderma (folheto mais interno). Assim, através dos movimentos celulares o mesoderma e endoderma acabam por se situar subjacentemente ao ectoderma (Figuras 10.20D, E).

10.4.3 Organogênese e morfogênese

Após os movimentos de gastrulação seguem a formação do tubo neural e migração das células das cristas neurais para diferentes regiões do corpo do embrião, a formação dos somitos e as protuberâncias das vesículas ópticas que originarão os olhos tornam-se visíveis (Figura 10.16 I a M). No peixe zebra, após 48 horas da fertilização, ocorre à eclosão de uma larva livrenatante. A larva recém eclodida dos peixes ósseos é denominada, genericamente, de alevino.

Recapitulando ...

Os peixes possuem o ovo do tipo megalécito telolécito, ou seja, com grande quantidade de vitelo acumulado no pólo vegetativo; apresentam um modelo de clivagem meroblástica do tipo discoidal e formação de uma blástula do tipo discoblástula; a gastrulação ocorre através dos movimentos de epibolia, involução, convergência e extensão; são animais triblásticos; possuem desenvolvimento indireto, com a presença de estágio larval (alevino).

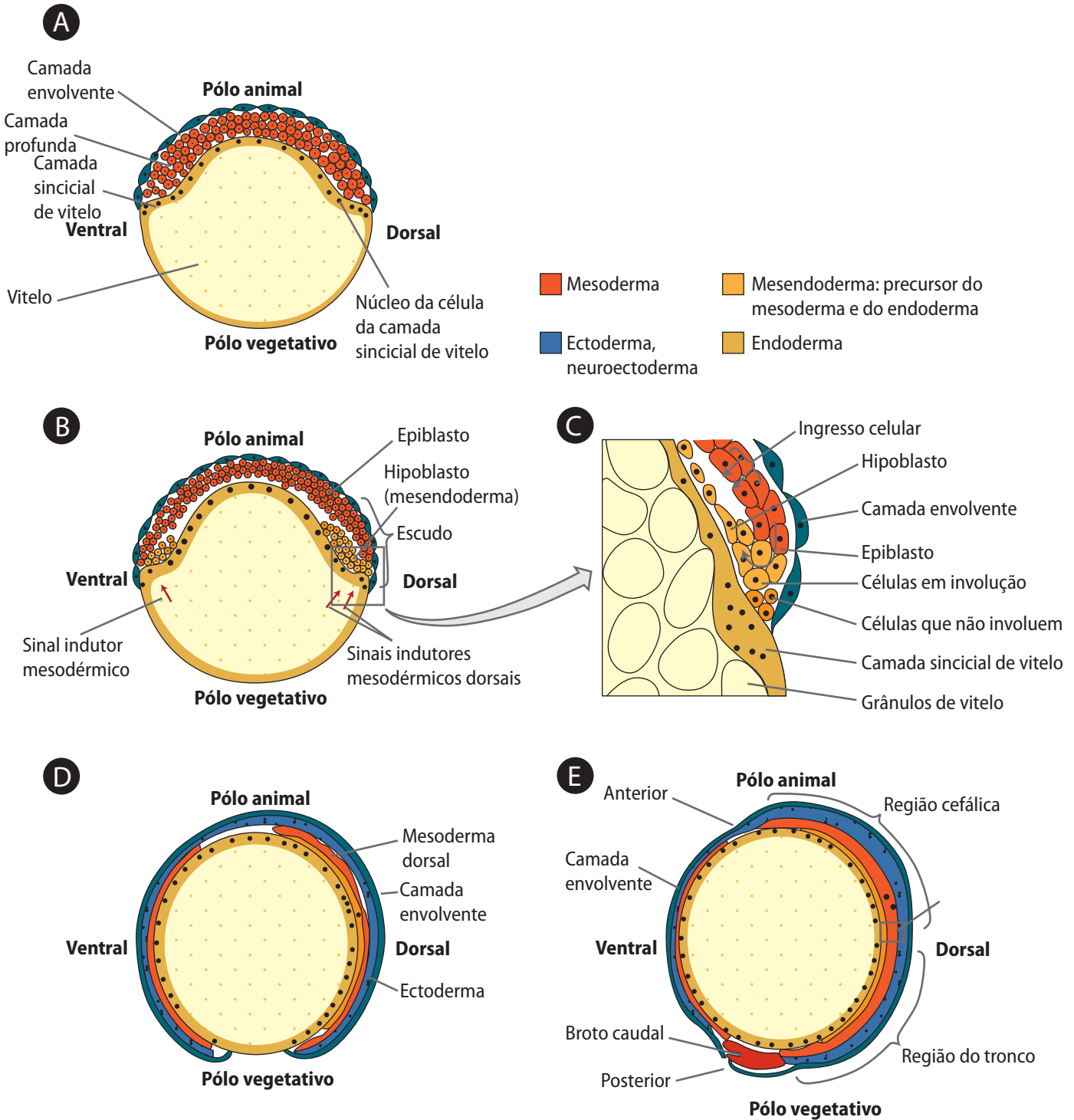


Figura 10.20 - Movimentos celulares durante a gastrulação do zebrafish *Danio rerio*. (A) 30% de Epibolia; (B) Estágio de escudo; (C) Detalhe da região marginal demarcada em B por um quadrado; (D) 90% de Epibolia; (E) Estágio de 1 somito (GILBERT, 2004).

10.5 Desenvolvimento embrionário de aves

Nos vertebrados exclusivamente terrestres a embriogênese ocorre fora da água, o que levanta sérios desafios a estes animais, que necessitam de condições especiais: (a) fecundação interna, onde ocorre economia de produção de gametas femininos; (b) ovos megalécitos, onde a grande quantidade de vitelo fornece nutrição ao embrião em desenvolvimento; (c) camadas de proteção que impedem a dessecação do embrião, fornecem nutrientes e gases e retiram excreções.

Os ovos das aves, bem como dos répteis e mamíferos ovíparos, são megalécitos teloléciticos e iniciam a segmentação ainda no oviduto, dentro do corpo da fêmea.

Os principais componentes do ovo de uma ave (figura 2.13B), semelhante ao do réptil, são:

- a) **casca:** formada por diversas camadas sobrepostas, de natureza calcária, o que a torna resistente, porém porosa. Interiormente, a casca é revestida por duas membranas queratinosas, a interna e a externa, que apenas podem ser separadas na zona do espaço aéreo (a câmara-de-ar na parte mais larga do ovo). A função destas membranas é controlar a evaporação do conteúdo hídrico do interior do ovo;
- b) **clara:** também denominada de albúmen, é formada por um material semisólido ou gelatinoso, com elevado conteúdo hídrico e proteico (albumina globulina e mucina). Esta zona do ovo protege o embrião dos choques e fornece uma reserva de água e nutrientes. No seu interior, se diferenciam dois cordões proteicos, a chalaza, que manterão a gema no centro da clara, mas permitindo-lhe girar e oscilar;
- c) **gema:** corresponde ao gameta propriamente dito, com grande quantidade de vitelo disposto em camadas concêntricas e envolvido por uma membrana vitelina.

10.5.1 Segmentação e formação da blástula

As aves, como a maioria dos peixes ósseos, possuem ovos do tipo megalécito telolécito, os quais sofrem uma clivagem meroblástica (ou parcial) do tipo discoidal. Portanto, a clivagem ocorre somente no citoplasma ativo, chamado de blastodisco, localizado no pólo animal do ovo, não se estendendo para o pólo vegetativo (Figura 10.21). O zigoto começa a sofrer as clivagens ainda quando está no oviduto, onde se tornam envolvidas pelo albume (clara), pelas membranas da casca e pela casca. As primeiras clivagens levam a formação de uma blástula formada por um grupo de células em forma de um disco, chamada de discoblástula (Figura 10.21).

Como é característico na clivagem meroblástica discoidal as células resultantes das clivagens iniciais são contínuas em suas bases. O primeiro sulco de clivagem aparece centralizado no citoplasma do pólo animal, e o segundo se forma cruzando-o em ângulo reto (Figura 10.21A, B). Embora estes dois planos de segmentação atinjam uma pequena superfície do ovo, eles podem ser considerados meridionais (longitudinais ou verticais). A terceira segmentação ocorre em dois planos, também meridionais, sendo paralelos ao 1º e perpendicular ao 2º, originando 08 blastômeros (Figura 10.21C). Os dois terceiros planos podem não ocorrer simultaneamente, podendo haver um estágio de 06 células e a seguir um de 08 blastômeros. É o conjunto de 08 blastômeros que chega ao útero da ave. A quarta segmentação segue também planos meridionais que continuam sendo irregulares, resultando na formação de 08 blastômeros centrais e 08 periféricos, num total de 16 células (Figura 10.21E). Os limites dos blastômeros só existem na superfície, pois em profundidade ocorre uma continuidade com a massa de vitelo subjacente. As clivagens seguintes ocorrem segundo planos verticais, sendo os sulcos radiais ou perpendiculares aos primeiros dando origem a 32 e, em seguida, 64 células (Figura 10.21F e G). Por volta do estágio de 64 blastômeros começam a ocorrer clivagens latitudinais que levam a organização das células em duas camadas. Estas clivagens determinam a formação de um limite inferior para certos blastômeros, separando-os da massa de vitelo por uma pequena fenda, chamada de cavidade subgerminal.

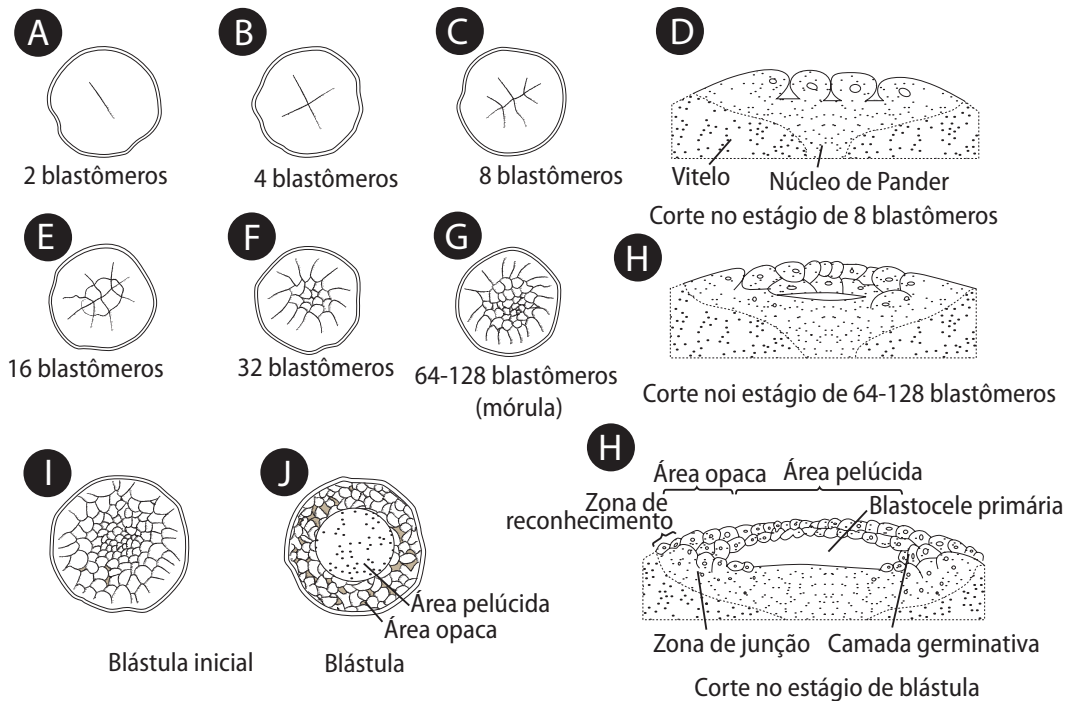


Figura 10.21 - Clivagem meroblástica discoidal no ovo da galinha. (A) 2 Blastômeros; (B) 4 Blastômeros; (C) 8 Blastômeros; (D) Corte no estágio de 8 blastômeros; (E) 16 Blastômeros; (F) 32 Blastômeros; (G) 64 a 128 Blastômeros; (H) Corte no estágio de 64-128 blastômeros (mórula); (I) Blástula inicial; (J) Blástula; (L) Corte no estágio de blástula. Os esquemas A, B, C, E, F, G, I e J estão representados numa visão do pólo animal; já os esquemas D, E e L estão representados em corte (HOUILLON, 1972).

Quando esta fenda inicial, localizada abaixo das células centrais, torna-se mais nítida ela origina uma cavidade denominada de blastocele primária, formando assim a blástula primária. Assim, nesta fase ocorre à formação da blástula deste modelo de segmentação, chamada genericamente de **discoblástula**. Desde este momento, se reconhecem externamente nas células que formam o blastoderma duas regiões distintas: a área pelúcida e a área opaca (Figura 10.21J e L). A *área pelúcida* corresponde a parte central do blastoderma que está localizada acima da blastocele, sendo portanto mais clara. Já a *área opaca* corresponde às camadas de blastômeros periféricos que se encontram situados em cima da massa de vitelo. Esta área forma um anel periférico em torno da área pelúcida.

Pouco antes da postura, o *blastoderma da área pelúcida* da blástula primária se transforma em duas camadas distintas de células denominadas de epiblasto (camada superior) e hipoblasto (camada inferior). Como isso ocorre? Existem algumas teorias, mas possível-

mente o hipoblasto é formado pela união de células originadas pela delaminação e imigração individual de certas células do blastoderma que formam pequenos aglomerados celulares desconectados, como também pela imigração de algumas células de um espessamento celular que marca a região posterior (conhecido como crescente de Koller). Neste momento, ocorre a formação da chamada blástula secundária, onde o blastoderma é constituído de duas camadas celulares, o epiblasto e o hipoblasto que se unem na margem da área opaca, e entre elas, encontra-se a blastocele (Figura 10.22).

10.5.2 Gastrulação

Depois de posto, o ovo da galinha deve ser incubado para seguir o desenvolvimento. A incubação dura 21 dias à temperatura de 37,5°C. A gastrulação começa durante as primeiras horas de incubação, sendo que ela se caracteriza pela formação de um espessamento denominado de **linha primitiva**.

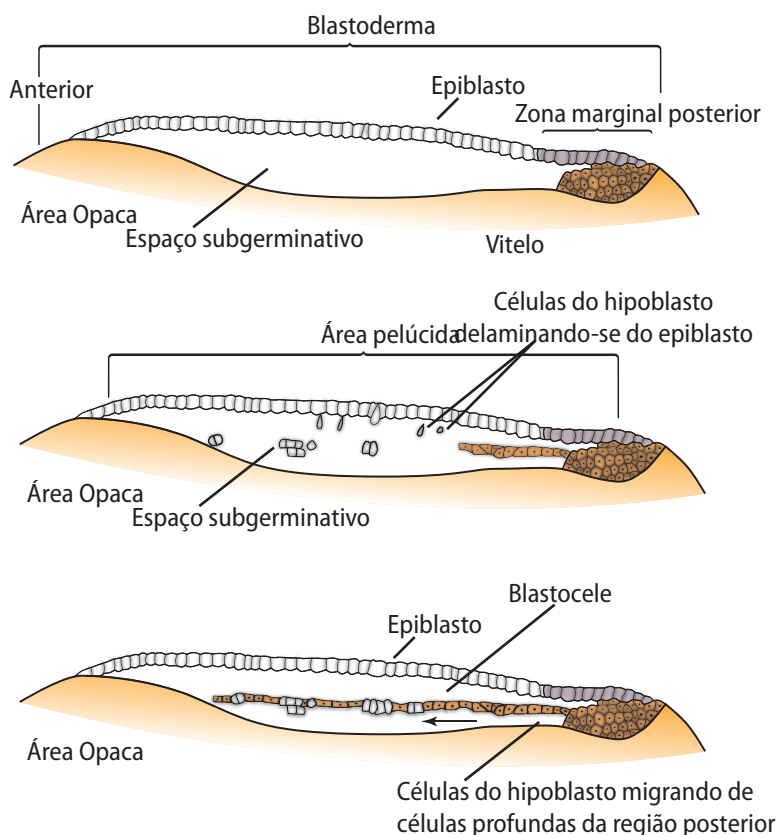


Figura 10.22 - Formação do blastoderma de duas camadas (epiblasto e hipoblasto) no embrião de galinha (GILBERT, 2004).

espessamento denominado de **linha primitiva**.

A linha primitiva é a estrutura característica da gastrulação em aves, répteis e mamíferos placentários. Esta linha é visível inicialmente como um espessamento de uma camada de células do epiblasto, na região posterior do embrião (Figura 10.23A e B). Esse espessamento é causado pela convergência de células das regiões laterais do epiblasto em direção a região mediocaudal. À medida que a área espessada se forma ela se estreita e se alonga em direção anterior (ou cefálica) do embrião. Essa linha se estende em torno de 60-75% do comprimento da área pelúcida e marca o eixo anteroposterior do embrião (Figura 10.23C, D e E). Com 18 horas de incubação, a li-

nha primitiva já atingiu o seu alongamento máximo. Durante esse processo, o blastoderma perde sua forma circular e se alonga adquirindo um aspecto piriforme (forma de pêra), onde a porção mais estreitada fica na parte posterior do embrião. Enquanto as células convergem para formar a linha primitiva, se forma uma depressão no meio dessa linha, chamada de **sulco primitivo**. Na porção mais anterior da linha primitiva ocorre um espessamento localizado chamado de **nó primitivo** ou **nó de Hensen** (Figura 10.23E). O centro desse nó contém uma depressão, chamada de **fosseta primitiva**.

Através do sulco primitivo e da fosseta primitiva ocorre a migração de células do epiblasto para a diferentes regiões da blastocele, ou seja, entre o epiblasto e o hipoblasto. Assim, a linha primitiva das aves é uma estrutura análoga ao blastoporo dos anfíbios, e o nódulo (nó) de Hensen é o equivalente funcional do lábio dorsal do blastoporo de anfíbios. Nas aves, as células que migram pela fosseta primitiva do nódulo de Hensen, em direção a região cefálica, formarão o intestino anterior, o mesoderma cefálico e a notocorda; já as células que migram através do sulco da linha primitiva vão dar a maioria dos tecidos endodérmicos e mesodérmicos do embrião (Figura 10.24).

As primeiras células a migrarem pelo nó de Hensen são aquelas destinadas a se transformarem no intestino anterior. Em seguida, as outras células que migraram através da fosseta do nó primitivo vão dar origem ao mesênquima cefálico e à notocor-

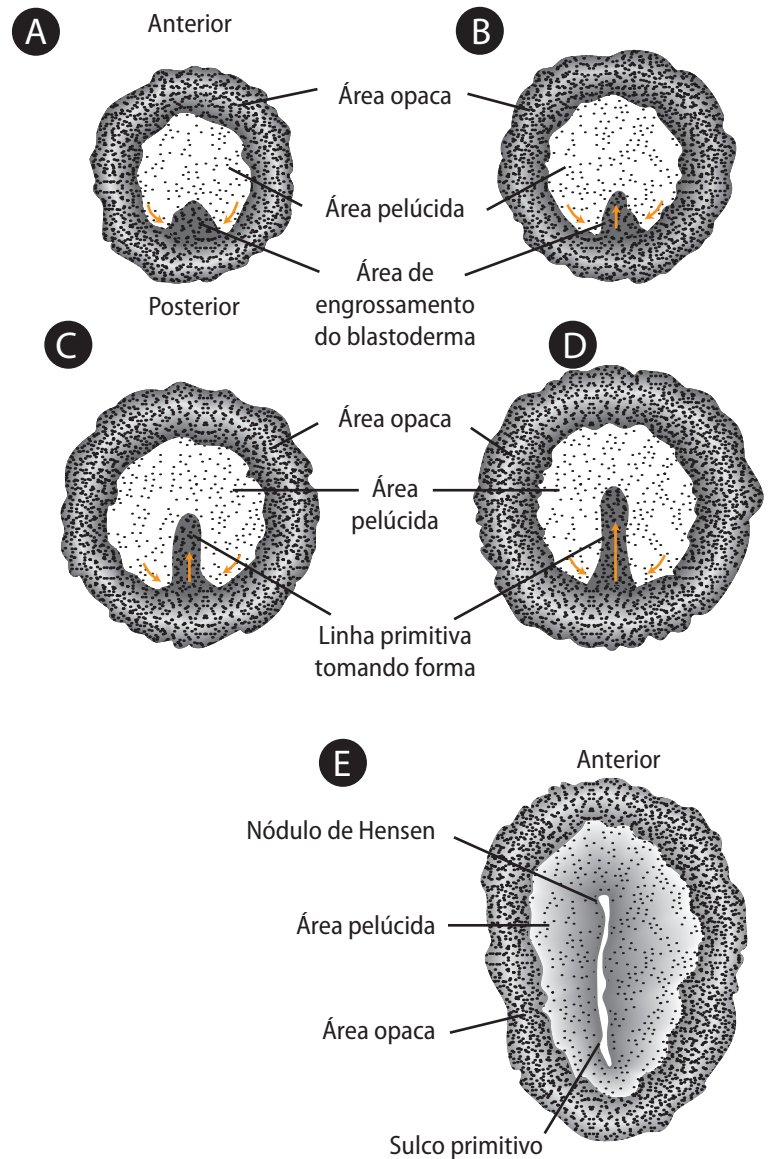
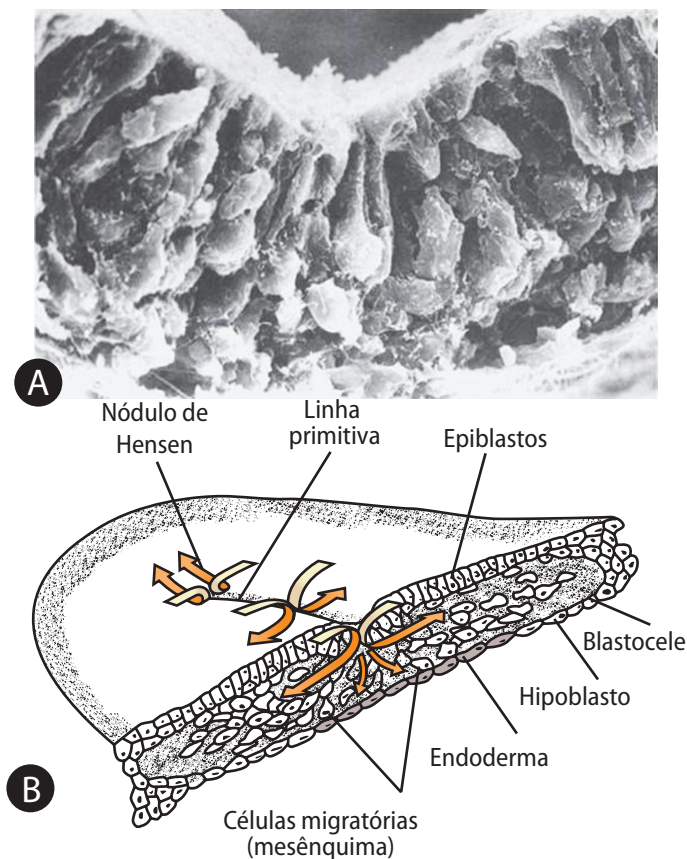


Figura 10.23 - Formação da linha primitiva e nó de Hensen em embriões de galinha. (A - E) Visão dorsal do embrião mostrando a formação e alongamento da linha primitiva no epiblasto. Em E, também está evidente a formação do nó de Hensen, na extremidade cefálica da linha primitiva (com base em GILBERT, 2004).

da. Simultaneamente, ocorre também migração celular pelo sulco primitivo. Assim que estas células penetram na blastocele, elas se posicionam em dois locais distintos: (a) algumas chegam até a região mediana do hipoblasto e o deslocam para as laterais, onde ocupam a sua posição e dão origem a endoderma do embrião e a maioria das membranas extraembrionárias; (b) outras células se posicionam entre o epiblasto e o endoderma recém formado, originando uma camada de células mesodérmicas frouxas que dará origem ao mesoderma intraembrionário. Enquanto que muitas células do epiblasto migravam para formar o endoderma e o mesoderma, as células remanescentes do epiblasto proliferavam para dar origem ao ectoderma. Neste período, só não ocorrerá formação de mesoderma entre ectoderma e endoderma em duas regiões distintas, uma anterior e outra posterior, sendo denominadas de membrana bucofaringea (ou oro-faríngea) e membrana cloacal, respectivamente. Nestas membranas, as células do ectoderma estão fortemente aderidas às células do endoderma, impedindo assim a interposição de mesoderma.

Figura 10.24 - Migração de células através da linha primitiva e nó de Hensen em uma gástrula de galinha. (A) Micrografia eletrônica de varredura mostra células epiblasticas passando para a blastocele. (B) Esquema da gástrula mostrando a relação da linha primitiva, das células migratórias e das duas camadas originais do blastoderma (GILBERT, 2004).



Uma vez formado o mesoderma, a linha primitiva começa a regredir em direção a região posterior do embrião. Esse mecanismo faz com que o nó de Hensen também se mova de uma posição próxima do centro do epiblasto para uma posição mais posterior. Ao mesmo tempo, a porção posterior da notocorda é estabelecida. Finalmente, o nó de Hensen regride para sua posição mais posterior, formando a região anal (Figura 10.25).

Como uma consequência do processo de gastrulação, os embriões de aves (e mamíferos) exibem um gradiente anteroposterior de formação e maturidade dos órgãos e/ou estruturas. Enquanto que a porção posterior (caudal) do embrião ainda está gastrulando, a cefálica (cranial) já está terminando a neurulação (Figura 10.26).

No fim da etapa de gastrulação o embrião de ave, denominado de gástrula, possui a forma plana e está estendida sobre a massa de vitelo e é composto por três camadas de tecidos celulares distintos: o ectoderma (superior), o mesoderma (intermediário) e o endoderma (inferior) (Figura 10.27).

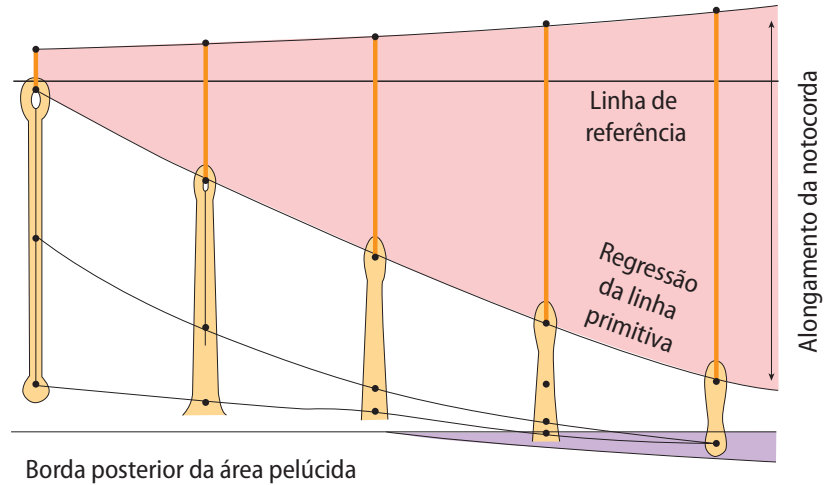


Figura 10.25 - Regressão da linha primitiva e estabelecimento da notocorda. O esquema mostra vários momentos da regressão da linha primitiva após ela atingir o seu comprimento máximo (GILBERT, 2004).

10.5.3. Organogênese e morfogênese

A neurulação tem início cerca de 20 horas após a incubação. Neste período torna-se evidente a placa neural, a qual é um espessamento do ectoderma na região anterior do embrião. Esta placa surge simultaneamente com a regressão da linha primitiva para a região posterior e é induzida pela notocorda subjacente. Como nos anfíbios, a placa neural sofre um invaginação em sua região central até que suas extremidades, as pregas neurais, se fundem dando origem o **tubo neural**, precursor do sistema nervoso central (Figuras 10.26; 10.27). Como a notocorda inicialmente se formou em direção a região anterior do embrião, o tubo neural dará origem nesta região ao **encéfalo**. Quando a notocorda progride em direção à região posterior se observa também o processo de neurulação progredindo em direção posterior, estabelecendo assim, a **medula**. As pregas neurais já são evidentes com 21-22 horas de incubação, sendo que a fusão delas terá início em, aproximadamente 26 horas, numa região que correspondente ao cérebro médio (mesencéfalo) e progredirá rapidamente nas direções cefálica e caudal. As regiões do tubo neural que ainda não fecharam, ou seja, as regiões em que ainda não houve fusão das pregas neurais são denominadas de **neuróporos**. Por um determinado período, as duas extremidades do tubo neural ainda permanecem abertas, formando o neuróporo anterior ou rostral e o neuróporo posterior ou caudal. O neuróporo anterior se fecha com cerca de 30-33 horas de incubação, enquanto que o posterior será fechado em torno de 43 horas de incubação.

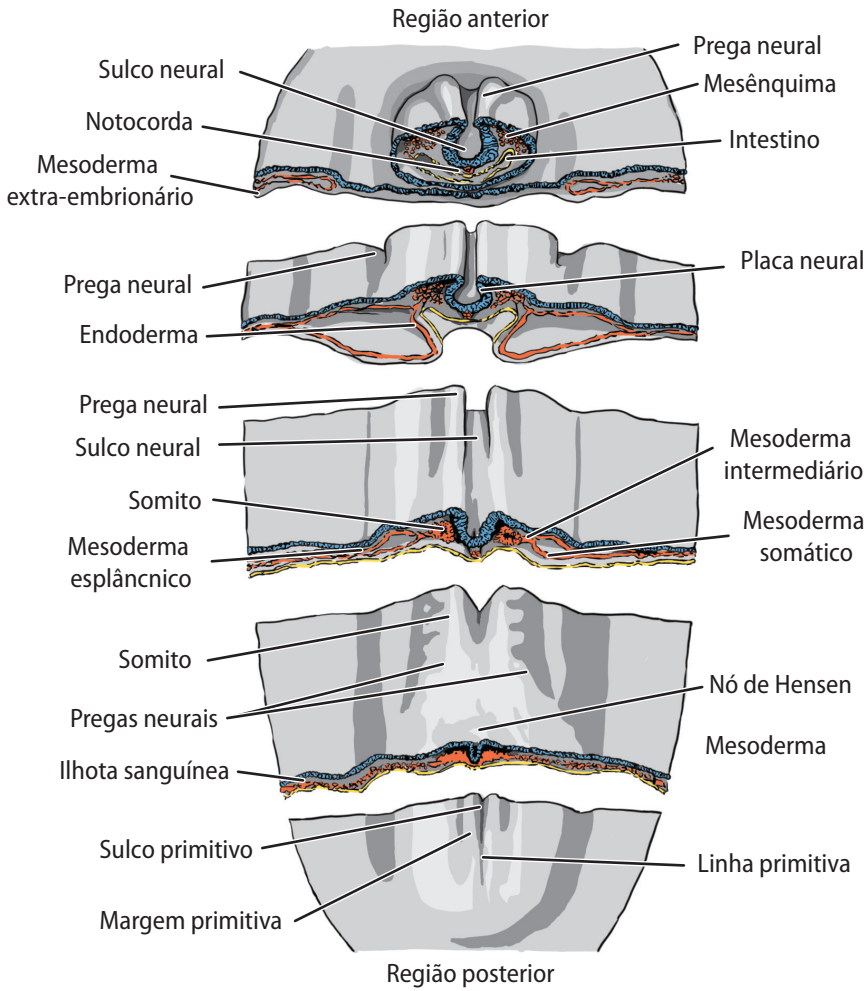


Figura 10.26 - Embrião de galinha no final da gastrulação exibindo um gradiente anteroposterior de maturidade dos órgãos e/ou estruturas (BROWDER et al., 1991; GILBERT, 2004).

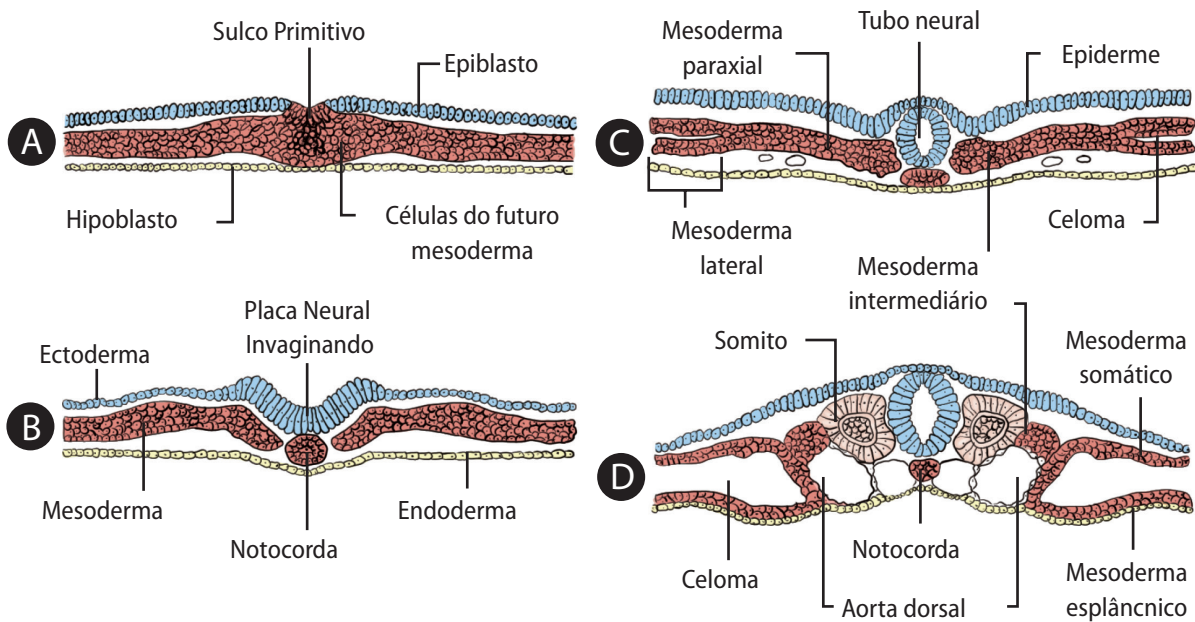


Figura 10.27 - Neurulação e desenvolvimento do mesoderma em embrião de galinha. (A-D): esquemas de cortes transversais da gástrula; (F) Fotografia de Microscopia eletrônica de varredura (BROWDER et al.; GILBERT, 2004).

Enquanto o tubo neural vai se formando ao longo do eixo antero-posterior, o mesoderma paraxial, localizado em cada lado da notocorda, sofre um processo de segmentação formando pares de estruturas, os somitos. No embrião de galinha, após 20 horas de incubação forma-se um par de somito por hora. Assim, em um embrião com 24 horas de incubação se observa quatro pares de somitos ao lado do tubo neural em formação. Neste período também já estão estabelecidos os mesodermas intermediário e lateral, bem como o celoma no meio das duas lâminas de mesoderma lateral (a somática e a esplâncnica) (Figura 10.27).

Com a formação do tubo neural e consequente desenvolvimento do sistema nervoso central, principalmente na porção anterior e posterior, o embrião sofre flexuras que o torna curvado ventralmente (em forma de C) em direção ao saco vitelínico (Figura 10.28). As flexuras são denominadas de **dobra cefálica** e **dobra caudal**. Em consequência, a região de mesoderma cardiogênico (área cardiogênica) que se situa na extremidade anterior do embrião (cefálica à membrana bucofaríngea) também é deslocada ventralmente e alcança sua posição torácica. O endoderma que acompanha esta flexão forma a parte anterior do intestino primitivo. Simultaneamente, ocorrem **dobras laterais** no embrião, possivelmente devido à diferenciação do mesoderma. Estas dobras causam uma curvatura do embrião para baixo (em direção ao vitelo) e, em seguida, as extremidades se fundem na linha média. Com estas pregas laterais se formam a parte média e posterior do intestino primitivo. Portanto, a gástrula tridérmica e achatada em cima da massa de vitelo se curva para baixo e dá origem a um embrião com a forma tubular, característica dos cordados (Figura 10.28).

As mudanças morfológicas externas, a partir de 24 horas de incubação, permite que se acompanhe a modelagem progressiva do embrião, conforme mostra a Figura 10.29, a qual é acompanhada pela formação dos anexos embrionários (ver capítulo 11).

Recapitulando ...

As aves possuem o ovo do tipo megalécito telolécito; apresentam um modelo de clivagem meroblástica do tipo discoidal e formação de uma blástula do tipo discoblástula; a gastrulação ocorre através dos movimentos de imigração e delaminação; são animais triblásticos; e apresentam desenvolvimento direto.

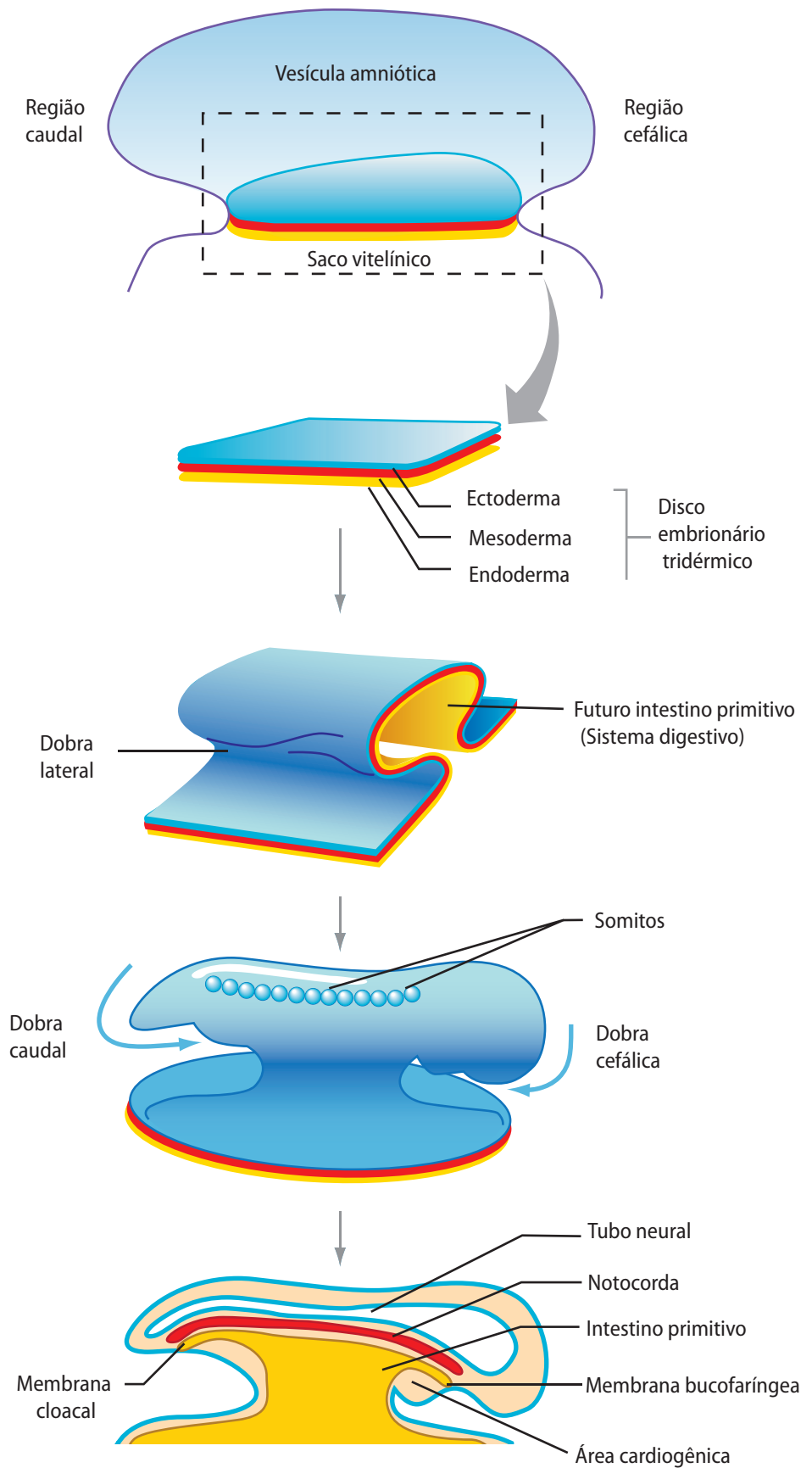


Figura 10.28 - Esquemas mostrando os dobramentos de uma gástrula plana, levando a formação de um embrião com corpo tubular.

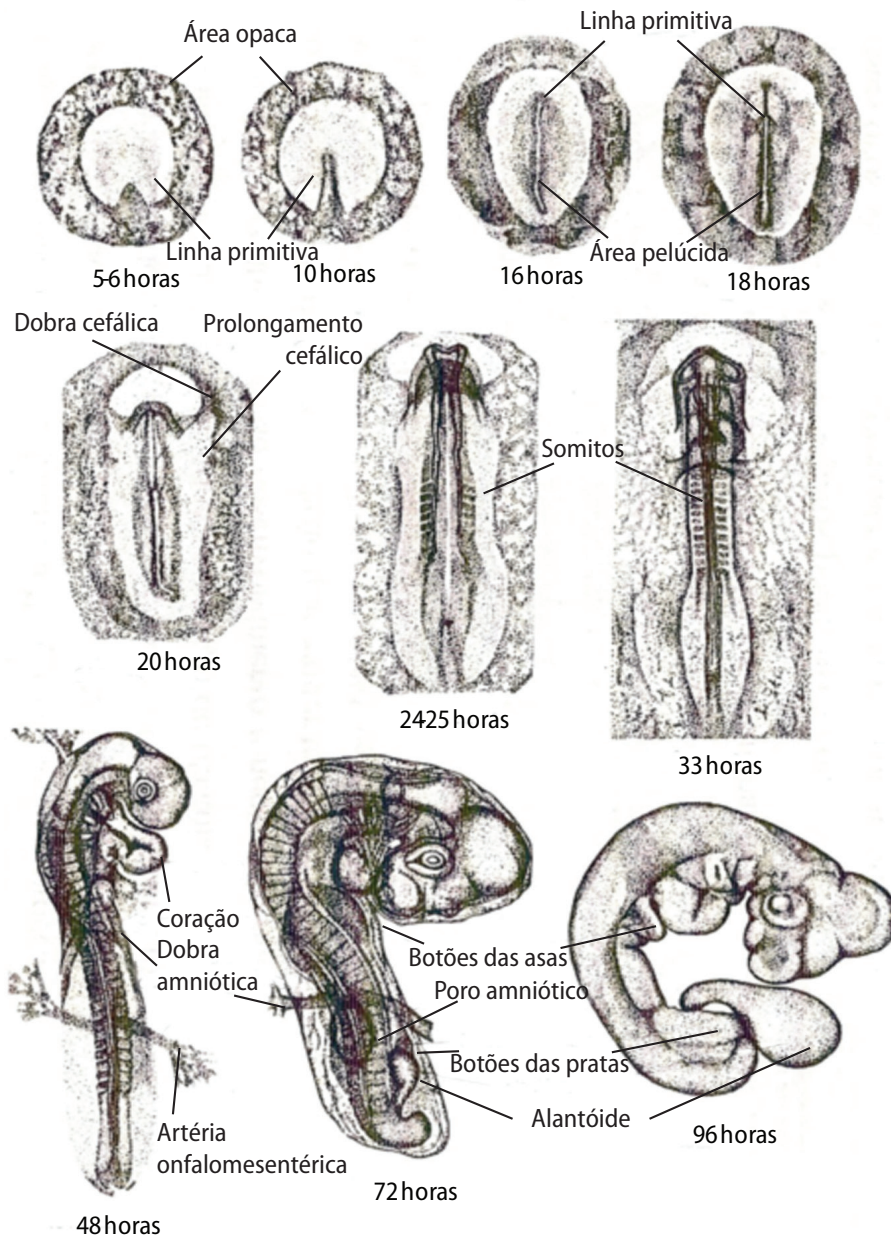


Figura 10.29 - Principais etapas do desenvolvimento de galinha nos primeiros dias de incubação (HOUILLON, 1972).

10.6 Desenvolvimento embrionário de mamíferos

Os **mamíferos monotremados ou mamíferos** (ex.: ornitorrinco, équidna) são mamíferos que põem ovos (ovíparos) com uma grande reserva nutritiva (vitelo). O ovo de ornitorrinco, por exemplo, possui um diâmetro aproximado de 4,5 mm. A presença da significativa quantidade de vitelo acumulado no pólo vegetativo faz com que os estágios iniciais do desenvolvimento sejam similares aos dos ovos de aves e répteis, onde a clivagem é meroblástica e discoidal.

Os **mamíferos marsupiais ou mamíferos de bolsa** (ex.: coailas, gambás, cangurus) são vivíparos e possuem ovos muito menores do que os dos monotremados, como por exemplo, os ovos de *Didelphis* (gambá) medem aproximadamente 14 mm de diâmetro. Contudo, os marsupiais possuem ovos (ou gametas) com uma quantidade de vitelo relativamente maior que a dos gametas de **mamíferos eutéricos ou mamíferos placentários verdadeiros** (ex.: porco, ovelha, boi, gato, cachorro, ratos, cavalos, macacos, humanos, etc.). Estes apresentam diâmetro máximo de 10 mm, como por exemplo, o do gato (*Felix domesticus*).

O desenvolvimento típico dos mamíferos eutéricos será estudado mais detalhadamente na disciplina de “Embriologia humana”. Estes mamíferos possuem: ovos do tipo oligolécito; apresentam um modelo de clivagem holoblástico rotacional e a formação de uma blástula denominada blastocisto (Figura 10.30); o blastocisto implanta no endométrio uterino e origina um embrião inicial formado por duas camadas: o epiblasto e o hipoblasto (Figura 10.31); na gastrulação se forma no epiblasto a linha primitiva e o nó de Hensen que levam a formação de uma gástrula trilaminar (ou tri-dérmica) (Figura 10.32); a gástrula possui forma plana ou achatada e sofre dobramentos e forma um embrião com corpo tubular, semelhante ao que ocorre nas ave (Figura 10.28).

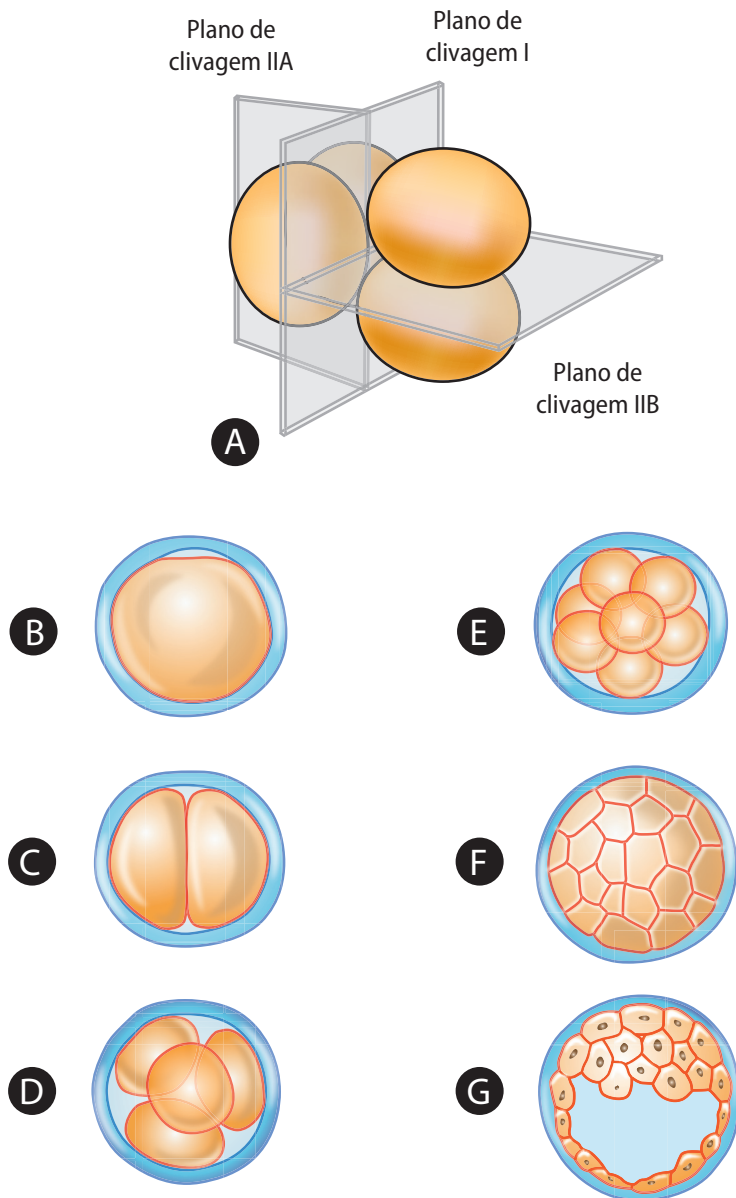


Figura 10.30 - Clivagem rotacional em mamífero. (A) Esquema mostrando os planos de clivagem; (B) Estágio de zigoto; (C) Estágio de 2 blastômeros; (D) Estágio de 4 blastômeros (E) Estágio de 8 blastômeros (F) Estágio de mórula (G) Estágio de blástula (blastocisto) (GILBERT, 2004, p. 181,182).

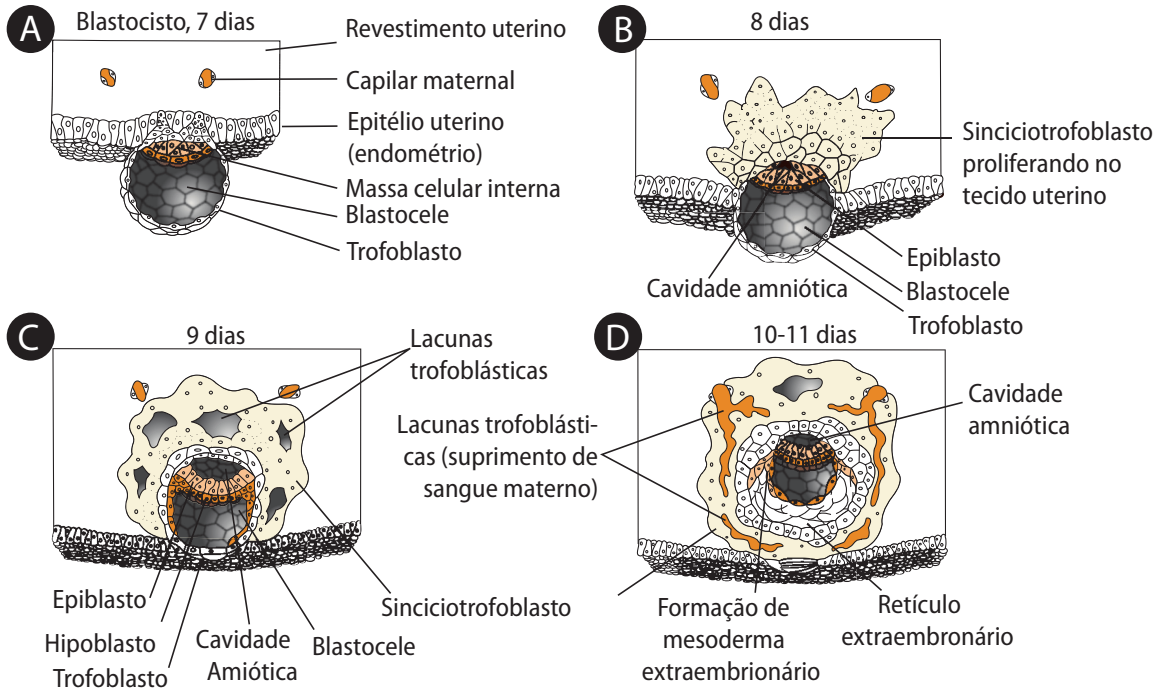


Figura 10.32 - Gastrulação no embrião humano (mamífero). Os esquemas mostram a formação da linha primitiva e o nó de Hensen (nó primitivo) e os movimentos celulares que ocorrem nestes dois locais, levando a formação de uma gástrula que contém os três folhetos embrionários (ectoderma, mesoderma, endoderma) (GILBERT, 2004).

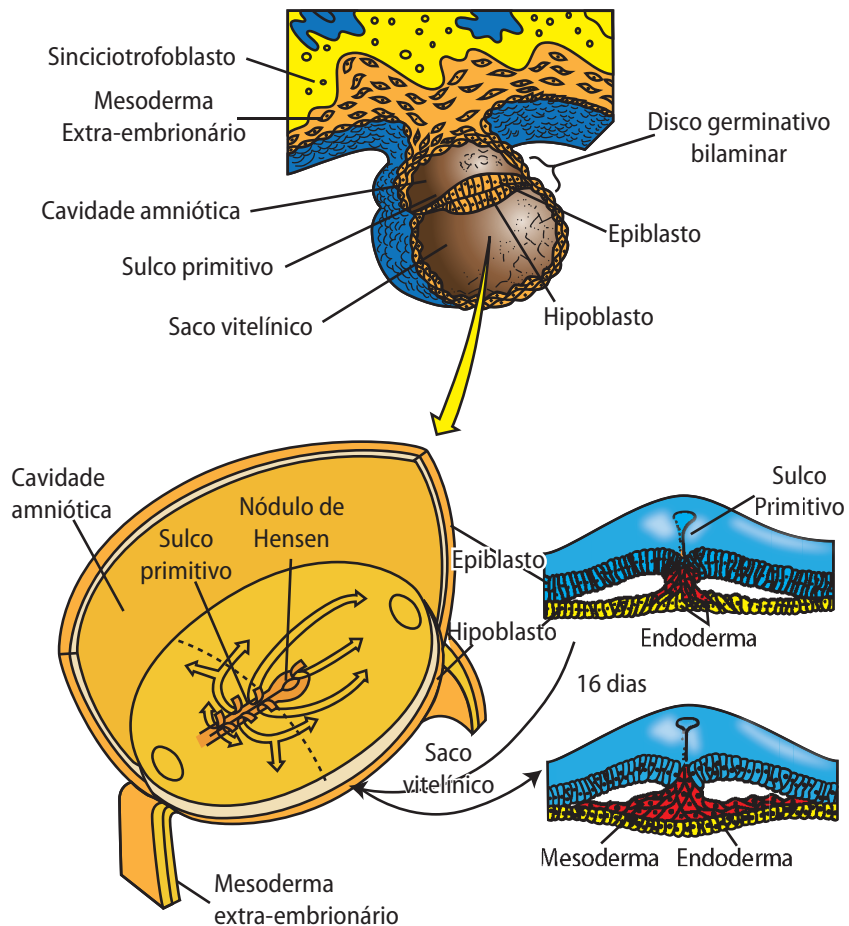


Figura 10.31 - Formação do embrião humano durante a implantação no endométrio. Os esquemas (A, B, C, D) mostram a sequência de implantação do blastocisto humano no endométrio uterino antes da gastrulação. A massa celular interna ou embrioblasto do blastocisto origina duas camadas de células (epiblasto e hipoblasto) semelhante aquele visto no embrião de ave (GILBERT, 2004).

Resumo

Os **equinodermos** possuem ovos do tipo oligolécito, apresentam clivagem total radial com a formação de uma celoblástula cêntrica e gastrulação através de imigração e invaginação; são animais triblásticos, celomados e apresentam várias características dos cordados, principalmente na fase embrionária: são animais deuterostômios; o celoma se forma por enterocelia.

O **anfióxico** possui ovo do tipo oligolécito, com uma distribuição heterogênea dos poucos grãos de vitelo; apresentam clivagem holoblástica bilateral com a formação de uma celoblástula cêntrica; a gastrulação ocorre através dos movimentos de invaginação, involução e epibolia; são animais triblásticos, celomados por enterocelia; o destino do blastoporo é formar o ânus, sendo deuterostômios.

Os **anfíbios** possuem o ovo do tipo mesolécito heterolécito; apresentam clivagem holoblástica radial, com formação de macrômeros e micrômeros; Formação de uma blástula do tipo celoblástula excêntrica; a gastrulação ocorre através dos movimentos de invaginação e epibolia; são animais triblásticos; são deuterostômios; possuem desenvolvimento indireto, com a presença da larva girino que possui morfologia e fisiologia diferentes dos adultos.

Os **peixes** possuem o ovo do tipo megalécito telolécito; apresentam clivagem meroblástica do tipo discoidal e formação de uma blástula do tipo discoblástula; a gastrulação ocorre através dos movimentos de epibolia, involução, convergência e extensão; são animais triblásticos; possuem desenvolvimento indireto.

As **aves** possuem o ovo do tipo megalécito telolécito; apresentam clivagem meroblástica do tipo discoidal e formação de uma blástula do tipo discoblástula; a gastrulação ocorre através dos movimentos de imigração e delaminação; são animais triblásticos; possuem desenvolvimento direto.

Os **mamíferos eutéricos** possuem ovos do tipo de ovo oligolécito; apresentam um modelo de clivagem holoblástico rotacional e a formação de uma blástula denominada blastocisto; o blastocisto implanta no endométrio uterino e origina um embrião inicial formado por duas camadas: o epiblasto e hipoblasto; na gastrulação se forma no epiblasto a linha primitiva e nó de Hensen que levam a formação de uma gástrula tridérmica; esta gástrula achatada sofre dobramentos e forma um embrião com corpo tubular, semelhante ao que ocorre nas aves.

