

**REVISÃO**

---



# COMO UM MAMÍFERO SE DESENVOLVE DESDE A FERTILIZAÇÃO ATÉ A IMPLANTAÇÃO DO BLASTOCISTO

Martha de Oliveira Guerra\*

Vera Maria Peters\*\*

GUERRA, Martha de Oliveira; PETERS, Vera Maria. Como um mamífero se desenvolve desde a fertilização até a implantação. *Boletim do Centro de Biologia da Reprodução*, Juiz de Fora, v. 18, p. 15-32, 1999.

**Resumo:** Monografia sobre o desenvolvimento embrionário de mamíferos durante a fase prévia a implantação.

**Palavras chave:** Embriologia. Mamíferos.

## INTRODUÇÃO

A fertilização e o desenvolvimento de mamíferos durante a fase que antecede a implantação foi pouco conhecida durante séculos, particularmente no que se refere ao ser humano. Faltavam recursos técnicos e, quanto ao ser humano, haviam dificuldades éticas importantes para qualquer tipo de estudo “in vivo”. As décadas recentes trouxeram novas técnicas e a fertilização “in vitro” adiantou-se consideravelmente, fazendo com que os gametas humanos fossem cultivados fora de seu habitat natural e assim pudessem ser manipulados para estudos sofisticados.

Pareceu, portanto, importante que se fizesse um estudo mais detalhado dos novos enfoques que foram dados a estas fases, o que resultou na presente monografia que tem por objetivo reunir informações sobre a fertilização, a segmentação e a implantação do blastocisto de mamífero.

## FERTILIZAÇÃO

A fertilização é uma série de fenômenos que consistem na penetração do ovócito pelo gameta masculino, na fusão dos pronúcleos dos gametas e na restauração do número de cromossomas próprios da espécie.

Para que a fertilização ocorra pressupõe-se que gametas maduros foram transportados até o local adequado à fertilização; que o espermatozóide completou sua maturação no epidídimo, que se capacitou no trato reprodutor feminino,

que foi capaz de penetrar os envoltórios do gameta feminino e de atingir o seu citoplasma e que ativou o ovócito. O ovócito ativado deve ser capaz, por sua vez, de promover o desenvolvimento e fusão de pronúcleos de ambos gametas; de fazer o intercâmbio de cromossomas e de restaurar o número próprio de cromossomas da espécie. Além disso, deve, também, ser capaz de bloquear a entrada de novos espermatozoides.

## A CAPACITAÇÃO DO ESPERMATOZÓIDE

Os espermatozoides liberados na luz do túbulo seminífero são células morfologicamente diferenciadas mas funcionalmente imaturas. A imaturidade funcional caracteriza-se por uma imobilidade quase total e pela incapacidade de fertilizar o ovócito, e tem como causa principal a imaturidade da estrutura molecular da membrana plasmática (embora a presença da gota citoplasmática também contribua para restringir a mobilidade) (ASCH; PATRIZIO; SILBER, 1992; YANAGIMACHI, 1988).

A maturação do espermatozóide, que ocorre durante o seu percurso pelo epidídimo, se pela perda da gota citoplasmática e pela capacidade de mover o flagelo. Ocorre durante o seu percurso pelo epidídimo, sendo que, na maioria dos mamíferos, apenas na cauda do órgão encontram-se espermatozoides maduros (COOPER, 1990; EDDY et al., 1985; YANAGIMACHI, 1988). Apesar disso, estudos, realizados em homens, portadores da ausência congênita do ducto deferente, mostraram que espermatozoides colhidos

\* Pesquisadora e Profa. Visitante do Centro de Biologia da Reprodução – UFJF.

\*\* Pesquisadora do Centro de Biologia da Reprodução e Profa. Adjunta do Departamento de Biologia – ICB – UFJF.

da rede do testículo, dos condutos eferentes e da cabeça do epidídimo eram móveis e capazes de fertilizar o ovócito (ASCH; PATRIZIO; SILBER, 1992; MATHIEU et al., 1992). Nestes casos a diferenciação do epitélio secretor do epidídimo poderia se processar de maneira a permitir a maturação do espermatozóide em outras regiões (COOPER, 1990; YANAGIMACHI, 1988).

Durante o percurso pelo epidídimo, as macromoléculas que recobrem a membrana plasmática do espermatozóide são em parte perdidas e em parte modificadas, e outras macromoléculas (produzidas pelo epidídimo) são incorporadas à membrana (IUSEN et al., 1989; YANAGIMACHI, 1988).

Entre as macromoléculas, as proteínas que se incorporam à membrana plasmática do espermatozóide podem ser responsáveis pelo agrupamento ou ativação de receptores para o ovócito. Em ratos foi identificada uma proteína, denominada GP17 que é secretada pelo epidídimo e que poderia contribuir para o amadurecimento do espermatozóide (IUSEN et al., 1989). A maior parte dos antígenos são adquiridos no epidídimo, embora alguns já sejam obtidos no túbulo seminífero (PATRIZIO et al., 1992).

É possível que o espermatozóide tenha uma programação própria que o leva a interagir com o epitélio secretor de epidídimo, já que foi demonstrado que os espermatozóides, que permanecem por tempo muito longo na cauda, “envelhecem” e vão reduzindo o seu movimento flagelar (CUASNICU; BEDFORD, 1989).

Os espermatozóides maduros, obtidos na cauda do epidídimo ou no conduto deferente ainda não estão habilitados para fertilizar o ovócito, devendo sofrer um processo final de maturação no trato reprodutor feminino (UHLER et al., 1992).

Denomina-se, genericamente, de **capacitação** o conjunto de alterações que tornam o espermatozóide apto para fertilizar. Os processos que levam à capacitação dos espermatozóides são complexos e poucos definidos. Sabe-se que são importantes: remoções e alterações de substâncias que foram absorvidas ou integradas durante o trajeto pelo epidídimo (cobertura primária) e no contato com o líquido seminal (cobertura secundária) (METZ; BERLER; CLEGG, 1990).

Há uma opinião corrente de que o início da capacitação varia entre as espécies e dependeria do local onde ocorresse a ejaculação. Em animais onde a deposição do sêmen se faz na vagina (coelhos e humanos) a capacitação inicia-se na cérvix ou muco cervical e completa-se no útero. Se a ejaculação for intra-uterina

(roedores, porca) o local mais provável seria o oviduto (YANAGIMACHI, 1988). Entretanto, foi observado que, em coelhos (LI et al., 1990) e em hamster (SMITH; YANAGIMACHI, 1990), as células epiteliais do istmo do oviduto têm papel importante na capacitação dos espermatozóides. Nesta última espécie, o istmo é considerado um reservatório de espermatozóide, onde eles seriam capacitados. A capacitação no ser humano parecer ser feita na cérvix uterina, onde também se localizaria o seu reservatório (KREMER; JAGER, 1988 apud TESAVRICK; MENDOZA; TESTART, 1990) embora estudos recentes também atribuam às células do oviduto humano a promoção da capacitação do espermatozóide (YAO; HO; YEUNG, 1999).

São considerados como fatores do trato reprodutor feminino, capazes de capacitar espermatozóides: enzimas, glicosaminoglicanas; catecolaminas, taurina e hipotaurina (PARRISH et al., 1989; YANAGIMACHI, 1988).

Durante a capacitação ocorrem várias modificações na membrana citoplasmática e no núcleo do espermatozóide e o espermatozóide capacitado altera o movimento flagelar, que se torna hiperativo, e capaz de sofrer a reação do acrossoma.

A hiperativação ocorre pouco antes da reação do acrossoma e se caracteriza pelo desencadeamento de movimentos típicos (dashing e dancing) de progressão linear e em oito. A movimentação é vigorosa mas com pouca progressão e com grandes deslocamentos laterais da cabeça (TESAVRICK; MENDOZA; TESTART, 1990; YANAGIMACHI, 1988).

Cita-se o aumento da concentração de cálcio intracelular como o fator que desencadeia um estímulo à atividade de adenilato-ciclase e à produção de AMP que, por sua vez, facilitariam os movimentos flagelares (IVANI; SEIDL Jr., 1990; YANAGIMACHI, 1988).

Outros fatores relacionados à ativação do movimento flagelar são: Mg-ATP que, ligando-se às fibras densas externas do espermatozóide torna flexível o movimento flagelar (YANAGIMACHI, 1988); fator ativador de plaquetas – que aumenta a movimentação do flagelo em humanos (LACHAPPELLE et al., 1993).

Admite-se que a hiperativação do espermatozóide é necessária para sua progressão e penetração no ovócito, entretanto, Tesavrick, Mendoza e Testart (1990), demonstraram que tais movimentos são importantes para que o espermatozóide capacitado se liberte dos componentes mucosos dos reservatórios do trato reprodutor feminino.

## A REAÇÃO DO ACROSSOMA

O acrossoma é um análogo do lisossoma e recobre parte do núcleo do espermatozóide. Contém uma membrana externa em íntimo contato com a membrana plasmática e, entre ambas encontra-se uma capa de glicoproteínas. A membrana interna do acrossoma recobre 2/3 do núcleo do espermatozóide e está intimamente associada à membrana nuclear. Possui uma estrutura elástica, mais rígida, que auxilia no processo de penetração do ovócito pelo espermatozóide (HUANG Jr.; YANAGIMACHI, 1985). O conteúdo do acrossoma inclui enzimas hidrolíticas das quais a hialuronidase e acrosina são as mais conhecidas.

O acrossoma é sede de uma reação necessária à penetração do espermatozóide pela membrana do ovócito e consiste das seguintes etapas: a) Fusão da membrana acrossômica externa com a membrana plasmática; b) Fenestração das membranas; c) Liberação do conteúdo acrossômico e exposição, ao meio ambiente, das proteínas ligadas à membrana acrossômica; d) Fusão da membrana plasmática e membrana acrossômica interna no limite anterior do segmento equatorial; e) Perda das membranas que reagiram (MEIZEL, 1986).

O acrossoma pode ser considerado como um grande grânulo de secreção e a reação do acrossoma como um processo de exocitose no qual as membranas envolvidas são perdidas.

O controle da reação acrossômica pode ser visto como ocorrendo em 3 etapas: a primeira, que mantém o acrossoma intacto enquanto o espermatozóide permanece na cauda do epidídimo; a segunda, no trato reprodutor feminino, quando o acrossoma fica capacitado para a reação acrossômica e a terceira, quando o espermatozóide entra em contato com os revestimentos do ovócito e recebe estímulos para sofrer a reação acrossômica (OLIPHANT; REYNOLDS; THOMAS, 1985).

A indução da reação do acrossoma foi atribuída a algum fator localizado no cúmulo oóforos ou na zona pelúcida (CROSS et al., 1988). Entretanto, estudos realizados em cúmulos oóforos de humanos não confirmam que ele seja capaz de induzir a reação do acrossoma (HOSHI et al., 1993) ainda que a matriz do cúmulo contenha progesterona e hidroxiprogestero em concentrações semelhantes àquelas que, em meio de cultivo, aumentam a capacidade de fertilização dos espermatozoides humanos (SUELDO et al., 1993).

Por longo tempo considerou-se indispensável a ocorrência da reação do acrossoma para que o espermatozóide pudesse penetrar nas células do cúmulo (TALBOT,

1985), no entanto, observou-se, em estudos “in vitro” de espermatozoides humanos que já sofreram a reação do acrossoma não fertilizam e não penetram na zona pelúcida (LIU; BAKER, 1990; TAKAHASHI et al., 1992).

A reação do acrossoma se processa quando receptores, localizados na membrana plasmática do espermatozóide, unem-se a outros receptores, localizados na zona pelúcida (WASSARMAN, 1988). Cada gameta une-se a 10.000/50.000 receptores da zona pelúcida.

A zona pelúcida (camundongos) é constituída de 3 glicoproteínas denominadas  $ZP_1$ ,  $ZP_2$ , e  $ZP_3$ . As duas últimas formam longas cadeias, interligadas por “pontes” de  $ZP_1$ . A  $ZP_3$  é o receptor específico, onde o espermatozóide se liga. Esta glicoproteína é formada por 400 aminoácidos dos quais alguns se ligam a nitrogênio e outros, ao oxigênio. Estes últimos, com peso molecular inferior a 3.900 daltons são considerados receptores para espermatozóide. Outros componentes da  $ZP_3$ , peptídeos com mais de 40.000 daltons, são os responsáveis pela reação do acrossoma (BERGER et al., 1989; FLORMAN; WASSARMAN, 1983; WASSARMAN, 1988).

Identificado o receptor de espermatozóide, localizado na zona pelúcida, passou-se a procurar o receptor da membrana citoplasmática do espermatozóide, capaz de se unir ao da zona e desencadear a reação do acrossoma. Embora ainda não se tenha uma definição quanto a tal receptor, existem hipóteses quanto a: **antígenos** (BANDO et al., 1992): dos quais foi identificado o antígeno FA-1 – uma glicoproteína encontrada na membrana plasmática do espermatozóide e que se une à zona pelúcida de porca (KAPLAN; NAZ, 1992); **receptor “D-manose-ligand”** (BENOFF et al., 1993) e **carboidrato L-fucose** (BOLDT et al., 1984). Estudos recentes (MORALES, 1998) sugerem que o GnRH, encontrado no fluido folicular contribui para a união do espermatozóide à zona pelúcida, permitindo que o receptor de membrana do espermatozóide se expresse.

A fusão das membranas é um processo que resulta, entre outros, da união de fosfolípidios aniônicos e ativação de fosfolipase. Esse mecanismo é facilitado pelo íon cálcio, que entra, maciçamente, no interior da célula. O espermatozóide não reativo mantém concentrações intracelulares elevadas de K e baixas de Na e Ca. Quando o espermatozóide se une à proteínas da zona pelúcida, há um processo de ativação de receptor que, se for uma proteína carreadora de cálcio, pode intensificar a entrada deste íon na célula. Ou pode ser que tal entrada se faça por meio dos canais de cálcio (STOCK; FRASER, 1989; YANAGIMACHI, 1988).

Por muito tempo admitiu-se que, ao sofrer a reação do acrossoma, o espermatozóide liberava hialuronidase, que promovia a lise das células do cúmulo oóforo e permitia a passagem do espermatozóide. Entretanto, com os estudos atuais demonstrando que a reação do acrossoma ocorre **depois** da passagem pelo cúmulo, passou-se a admitir que, na membrana plasmática do espermatozóide, existiria hialuronidase e que essa hialuronidase superficial, funcionando como um lubrificante, permitiria que o espermatozóide “nadasse” entre as células do cúmulo (YANAGIMACHI, 1988).

Uma vez que o espermatozóide se prenda a  $ZP_3$  e sofra a reação acrossômica, ele penetra, por uma trajetória, na maioria das vezes, curva, pela zona pelúcida. Dois mecanismos estão envolvidos com essa penetração: o efeito enzimático que enfraquece a estrutura da zona pelúcida e a força mecânica do movimento flagelar que empurra o espermatozóide. Além disso o núcleo do espermatozóide contém protaminas com pontes S-S que lhe confere certa rigidez, necessária à passagem pela zona pelúcida.

Segue-se a fusão da membrana plasmática dos dois gametas, pela região equatorial do espermatozóide, com a ajuda de microvilos que existem na superfície da membrana citoplasmática do ovócito (BESSOUDO; KRAEMER, 1986). Por algum tempo a membrana do ovócito e a do espermatozóide constituem uma estrutura da divisão meiótica, a extrusão do 2º corpúsculo polar, a formação dos pronúcleos e a sua fusão.

Na ativação do ovócito estão envolvidos o cálcio e ADP, embora o mecanismo ainda não esteja bem compreendido. Quanto ao cálcio, a hipótese é a de que ele seja liberado maciçamente de reservatórios intracelulares como o retículo endoplasmático. O aumento explosivo de Ca intracelular altera a relação sódio/hidrogênio tendo por consequência o aumento de pH intracelular. Tal aumento pode fazer com que proteínas inibidoras do citoplasma do ovócito sejam removidas e possa ocorrer ativação da via oxidativa, do metabolismo dos lipídeos e síntese de DNA e de proteínas. Quanto a ADP, a sua concentração intracelular no ovócito é baixa antes da penetração de espermatozóides, aumentando depois da penetração. Os níveis baixos de ADP são compatíveis com baixa atividade metabólica porém, ao se elevarem, o ovócito tem condições de sair do estado de depressão metabólica e respiratória e ativar-se (YANAGIMACHI, 1988).

O mecanismo do bloqueio à poliespermia evita o aparecimento de embriões poliplóides. Ele ocorre quando a ativação do ovócito faz com que os grânulos corticais sofram um processo de exocitose. Em ouriço do mar (HAGGERTY;

JACKSON, 1983) e em camundongos, observou-se que a exocitose do grânulo é um processo dependente de cálcio. Nesta última espécie, a exocitose leva para a superfície da membrana do ovócito, enzimas proteinases ou glicosidases, que hidrolizam a  $ZP_3$ . A inativação de ZP impede que novos espermatozóides se prendam à zona pelúcida, bloqueando a poliespermia (WASSARMAN, 1988).

Ao penetrar no ovócito, o núcleo do espermatozóide perde a membrana nuclear, o que expõe a sua cromatina às substâncias contidas no ovócito (no citoplasma ou na vesícula germinativa) e que, de certa forma, influem no processo de descondensação do núcleo do espermatozóide, processo que o transforma no pronúcleo masculino. Considera-se que existe um fator promotor do crescimento dos pronúcleos, mas ele não está identificado (YANAGIMACHI, 1988). Pode ser um agente que oxida glutatione (PERREAULT; ZIRKIN, 1983) ou algum outro fator que atue simultaneamente sobre as cromatinas maternas e paternas, uma vez que a interrupção da meiose do ovócito está muito relacionada à interrupção do processo de descondensação do núcleo do espermatozóide (LASSALLE; TESTARI, 1991).

Com a contribuição de microtúbulos e microfilamentos ocorre a formação da placa equatorial e a mistura dos cromossomos maternos e paternos, dando início a um novo indivíduo. A união dos pronúcleos é denominada de singamia ou anfimixia. Com a singamia se encerra o processo de fertilização, forma-se um zigoto e tem início a embriogênese.

### SEGMENTAÇÃO E TRANSPORTE DO PRÉ-EMBRIÃO

O zigoto começa a segmentar-se e a migrar através da tuba uterina até atingir o útero, onde se implantará. Durante esse período uma estrutura unicelular segmentar-se-á sucessivamente em 2, 4, 8 células (blastômeros) que, em humanos (BROWN, 1994) se ligam frouxamente. Na fase de divisões subseqüentes, de 16 blastômeros, forma-se a mórula e começa o processo de compactação, quando as células tornam-se polarizadas, aderidas umas às outras mais firmemente por junções “tight” e organizadas, pois, uma a 2 células localizam-se no centro da estrutura e as demais circundam-nas. As células centrais darão origem ao maciço celular interno (MCI) e as demais, às células do trofotoderma.

As células do MCI começam a secretar fluido para o interior da mórula e logo, aos 64 blastômeros estabelece-se o início de uma cavidade, identificando-se aí a fase de blastocisto.

As fases iniciais do desenvolvimento do embrião parecem depender da expressão dos genomas paternos e maternos. Falha na expressão do genoma paterno acarreta desenvolvimento trofoblástico deficiente e, a da expressão do genoma materno à falha do desenvolvimento embrionário (BRAUDE; BOLTON; MOORE, 1984; PRATT; BOLTON; GUDGEON, 1983). Além disso, existem determinantes citoplasmáticos que induzem divisões assimétricas, nas quais as células filhas recebem heranças diferentes, que vão fazer com que cada célula tenha seu destino próprio (BROWN, 1994).

As divisões celulares da fase de clivagem já iniciam um processo de interação celular que se faz tanto de blastômeros a blastômeros quanto entre blastômeros e células da mucosa do oviduto.

A síntese, pelos blastômeros ou pelas células secretoras do oviduto, de determinados fatores é extremamente importante para as divisões celulares ocorrerem adequadamente. Assim, Brown (1994) relata a importância de moléculas sinalizadoras de interações como o fator de transformação de fibroblasto (TGF  $\beta$ ), fator de crescimento do fibroblasto (TGF) e de proteínas wnt. Relata também a importância crítica do ácido retinóico para a indução do tipo instrutiva, que resulta na escolha entre dois ou mais destinos de uma célula.

Em camundongos foi demonstrado que os fatores de crescimento TGF $\alpha$ , TGF  $\beta$ , e EGF, promovem o crescimento do pré-embrião de 8 células à blastocisto e a ruptura da zona pelúcida (FARIA; DEY, 1990).

No embrião humano TGF  $\alpha$  e IGF-2 detectados em mórulas podem estar relacionados com sua transformação para blastocisto (HARPER, 1994).

O fator ativador de plaquetas é necessário para que a fase de duas células (camundongos) progrida a blastocisto (O'NEILL, 1998) e, quando adicionado ao meio de cultivo, estimula a divisão celular, produzindo-se blastocisto com mais células que o usual e também aumentando a taxa de implantação de pré-embriões transferidos (RYAN et al., 1990).

Pré-embriões de camundongos, a partir de 8 células, têm receptores para insulina que estimula seu metabolismo e crescimento e a presença de IGF-1 estimula divisões celulares do MCI (HARVEY; KAYE, 1990, 1992). O mesmo foi encontrado para mórula de coelhos, nas quais a insulina e o IGF-1 aumentam a proliferação celular e impede a apoptose (HERRLER; KRUSCHE; BEIER, 1998).

Por estudos *in vitro*, utilizando ovos de camundongo, Kano, Miyano e Kato (1998), mostram que o ácido hialurônico – uma glicosaminoglicana – adicionado ao meio de cultivo, aumenta o número de zigotos que

chegam a blastocistos. O ácido hialurônico parece ser importante, também, em camundongos, para a diferenciação dos tecidos extra-embriônicos (HAMASIMA, 1982 apud KANO; MIYANO; KATO, 1998). Por outro lado, há indicações de que a glutamina reduz o número de células na fase de blastocisto, particularmente as células do trofotoderma (DEVREKER; HARDY, 1997).

O tempo de transporte do pré-embrião pelo oviduto é, em média, de 3 a 4 dias para a maioria das espécies. A migração do pré embrião pelo oviduto e sua transferência para o útero é um processo que depende da contratilidade das fibras musculares lisas, além das células secretoras e ciliadas do oviduto. Depende também de uma intensa interação embrião – mãe, um “diálogo” mediado por hormônios, substâncias parácrinas e outros, que permite uma coordenação perfeita entre o amadurecimento do conceito e condições ideais do meio ambiente que lhe assegurem, ao chegar ao útero, a perfeita sincronização que determina a sua implantação e posterior desenvolvimento.

O transporte tubário não se faz de maneira regular, o zigoto permanece algum tempo, variável com a espécie, “estacionado” na região da ampola, aprisionado que fica pelo fechamento da junção istmo – ampolar. Aí ocorre a fertilização e também a perda das células do cúmulo ooforos. Depois de algumas horas ou dias (no ser humano 95% do tempo de transporte é gasto nesta região e no camundongo 25%), a junção istmo – ampolar abre-se e deixa passar o (s) zigoto(s) para a região do istmo. Em seguida fecha-se de novo e parece só reabrir na próxima ovulação (MOORE; CROXATTO, 1988). Isto parece ser importante para o transporte mecânico dos pré-embriões como também por isolá-los num ambiente especial, provavelmente necessário para o seu desenvolvimento (CROXATTO et al., 1991).

Na etapa seguinte, quando já ocorrem as clivagens sucessivas, o pré-embrião fica no istmo por um tempo variável até que, com a abertura da junção útero – tubária, passa para o útero, onde ocorrerá a implantação.

A contratilidade das fibras musculares lisas do oviduto é importante para a progressão do embrião através do oviduto. As contrações são circulares, progressivas e em direção ao útero (HARPER, 1994), havendo possibilidade de existência de marca-passos ao longo do oviduto, que conduziriam as contrações em direção ao útero. Ocorrem também, contrações aleatórias, sem o sentido progressivo para o útero e que, talvez estejam relacionadas com os movimentos pendulares dos embriões, observados no oviduto de mamíferos (TALO, 1991; VILLALON; VERDUGO, 1991).

As células secretoras de toda a mucosa do oviduto têm papel importante porque a secreção do fluido tubário é necessária para o deslocamento dos pré-embriões, sua nutrição e também para o seu desenvolvimento. O fluxo de secreção pode prevenir a entrada do zigoto no istmo, pela pressão da força reversa do fluxo, e auxiliar o transporte dos pré-embriões para o útero, quando a junção útero-tubária se abre (HARPER, 1994).

Em coelhos, a atividade ciliar parece ser indispensável, para o transporte do pré-embrião. Embora não seja tão importante em ratos e humanos, já que atuaria associada aos movimentos contráteis da célula muscular lisa (HALBERT; BECKER; SZAL, 1989).

Os hormônios têm importância no transporte de pré-embriões. Em ratos, o estrogênio acelera o transporte enquanto que a progesterona retarda o transporte (CROXATTO et al., 1991; FORCELLEDO; CROXATTO, 1988; FORCELLEDO et al., 1982; FUENTEALBA; NIETO; CROXATTO, 1988; ORTIZ; VILLANON; CROXATTO, 1979; VINIJSAMUN et al., 1990).

O pré-embrião de rata produz grande quantidade de Prostaglandina E1, que diminui a contratilidade das fibras musculares e isto poderia implicar em que o pré-embrião poderia influir no seu transporte (VIGGIANO et al., 1992).

A participação do sistema nervoso autônomo no transporte do pré-embrião não é clara. Diferentes estresses a que ratas prenhas foram submetidas não afetaram o transporte de pré-embriões (CARDENAS, 1988).

## IMPLANTAÇÃO

O blastocisto chega ao útero, onde a zona pelúcida começa a ser dissolvida a partir do polo embrionário e inicia o processo de implantação nas paredes do útero, que sofrem profundas modificações, particularmente no endométrio, que passa a ser denominado de **decídua**.

A princípio, há uma adesão das células do pré-embrião às células do epitélio endometrial. Esse contato desencadeia uma reação que leva a camada trofoblástica do blastocisto a se diferenciar em uma camada interna de proliferação ativa, denominada **citotrofoblasto**, e uma camada externa, o **sinciotrofoblasto** que inicia uma erosão dos tecidos materno. Essa erosão ocorre ao mesmo tempo em que a estrutura embrionária vai sendo levada para o interior da parede uterina, desencadeando uma série de modificações no seu desenvolvimento, passando agora a ser considerada como um embrião e não mais como um pré-embrião. Esta

etapa da implantação é considerada como a de **penetração**. Nela as células sinciciais se introduzem cada vez mais profundamente no estroma, auxiliadas por enzimas proteolíticas, formando lacunas sinciciais que se tornam contínuas com os capilares maternos, denominados sinusóides.

À medida que o trofoblasto continua causando a erosão dos sinusóides, o sangue materno começa a fluir para o sistema trofoblástico, estabelecendo-se uma circulação útero-placentária definitiva. A fase final da implantação é tida como **inclusão** quando a estrutura embrionária aloja-se por completo no interior da parede decidual.

Em condições normais, o blastocisto humano se implanta no endométrio, na parede posterior e superior do corpo do útero, onde se fixa entre os orifícios das glândulas. Em ratos, camundongos e hamsters, a implantação dos blastocistos ocorre ao longo dos cornos uterinos, entre o quarto e o sétimo dias do desenvolvimento. Em humanos ao término da primeira semana, oitavo dia do desenvolvimento, o blastocisto encontra-se parcialmente incluído no estroma endometrial (HERTIG; ROCK, 1945 apud SANDLER, 1993), completando a implantação no final da segunda semana. O estroma endometrial adjacente ao local de implantação é edemaciado e muito vascularizado e as glândulas tortuosas e volumosas secretam glicogênio e muco em abundância (SADLER; HUNTER III, 1994).

Há evidências crescentes da inter-relação dos tecidos fetais e maternos, necessária, principalmente para a implantação e a manutenção da gestação. O sucesso da nidadação requer a preparação precisa do blastocisto e endométrio, o que é obtido através de comunicações e sinalizações contínuas entre mães e conceito, mesmo antes do início da invasão do trofoblasto (FAZLEABAS; VERHAGE, 1991).

Na rata, se o blastocisto não chegar ao útero em fase de desenvolvimento adequado ocorre a sua expulsão (ORTIZ et al., 1991). Nesta espécie, o pré-embrião em fase de pré-implantação produz alguma forma de sinalização que faz com que seu transporte para o útero seja feito na ocasião precisa (ORTIZ et al., 1991).

Pré-embriões de várias espécies secretam substâncias que contribuem para a implantação. Assim o blastocisto de porco secreta estrogênio que age como fator luteotrófico e regulador da síntese de proteínas, pelo endométrio, necessárias ao processo de adesão do blastocisto (HEAP; FLINT; GADSBY, 1979).

Em ovinos, o blastocisto secreta a proteína trofoblástica 1 (o TP-1) que suprime a liberação de prostaglandina F2- $\alpha$  pelo endométrio (BAZER; ROBERT, 1983) e altera a secreção endometrial (VALLET; BAZER; ROBERT, 1987).



Por fim, existem relatos de que pré-embriões de babuínos podem regular a expressão celular local da proteína ligadora de IGF-1 (IGFBP-1) e que poderiam, deste modo modular o complexo IGF/IGFBP-1. Isto pode ser de importância crítica para promover a proliferação celular nos estágios iniciais de adesão do blastocisto e para controlar o potencial invasivo do trofoblasto (FAZLEABAS; VERHAGE, 1991).

Outro fator, objeto de estudos na implantação, é a regularidade do local dos implantes e do espaço mantido entre eles em animais politocos. Em camundongos, o estrogênio e a progesterona, produzidos pelo embrião, poderiam estar associados com o espaçamento do embrião no útero, com a sua orientação e sua implantação (WU, 1988; WU; LIU, 1990). Também podem contribuir as contrações das fibras musculares, produzidas pela eliminação local de prostaglandinas pelos embriões no interior do lume uterino (FORCELLEDO; CROXATTO, 1988). Há indícios de que a PGE-2 produzida no quarto dia após a inseminação de ratas, modifique a expressão de glicoconjugados nas células endometriais superficiais e através desse mecanismo contribua de maneira importante para que a implantação ocorra e também para que ela se faça de maneira organizada ao longo do corno uterino (KINOSHITA; HAYAISHI; YAMAMOTO, 1985).

Torna-se claro, portanto que o processo da implantação do blastocisto envolve a regulação hormonal endógena materna, realizada durante a fase progesterônica, mas que depende de muitos outros fatores locais, PEinduzidos pelo próprio pré-embrião que, de alguma forma ainda não bem estabelecida, parece ser capaz de regular tanto o seu transporte quanto a sua implantação no útero.

Concluindo-se é possível afirmar que com o desenvolvimento atual do processo de fertilização in vitro e de toda tecnologia envolvida com a manipulação de gametas, compreende-se melhor, a cada dia que passa, os eventos relacionados com as primeiras fases do desenvolvimento de um ser. Eventos que são geridos por uma programação codificada, envolvida em expressões de proteínas e a secreção de substâncias parácrinas e endócrinas que regulam a interação do conceito e seu meio ambiente de tal forma a estabelecer os requisitos precisos para o desenvolvimento preciso de cada etapa até a implantação do blastocisto e o início da fase embrionária.

## REFERÊNCIAS

ASCH, R. H.; PATRIZIO, P.; SILBER, S. J. Ultrastructure of human sperm in men with congenital absence of the vas deferens: clinical implications. **Fertil. Steril.**, v. 58, n. 1, p. 190-3, 1992.

BANDOH, R. et al. Effect of sperm-immobilizing antibodies on the acrosome reaction of human spermatozoa. **Fertil. Steril.**, v. 57, n. 2, p. 387-92, 1992.

BAZER, F. N.; ROBERT, R. M. Biochemical aspects of conceptus-endometrial interactions. **J. Exp. Zool.**, v. 228, p. 373-382, 1983.

BENOFF, S. et al. Human sperm fertilizing potential in vitro is correlated with differential expression of a head-specific mannose-ligand receptor. **Fertil. Steril.**, v. 59, n. 4, p. 854-862, 1993.

BERGER, T. et al. Zona pellucida-induced acrosome reaction in boar sperm. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 525-530, 1989.

BESSOUDO, E.; KRAEMER, D. C. Scanning electron microscopy of the morphological changes on the surface of the rabbit ovum at zygote. **Therigenology**, v. 25, n. 1, p. 138, 1986.

BIGGER, J. D.; BORLAND, R. M. Physiological aspects of growth and development of the pre-implantation mammalian. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 38, p. 95-119, 1976.

BOLDT, J. et al. Carbohydrate involvement in sperm-egg fusion in mice. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 887-896, 1989.  
BRAUDE, P.; BOLTON, V.; MOORE, S. Human gene expression in the mouse 2-cell embryo. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, v. 79, p. 139-163, 1984.

BROWN, N. A. Normal development. Mechanisms of early embryogenesis. In: KIMMEL, C. A.; BULKER-SAM, J. **Developmental toxicology**. New York: Raven Press, p. 15-49, 1994.

CARDENAS, H. **El transporte ovular en condiciones de estrés**. 1988. Tese (Doutorado) -- Universidad Católica de Chile, Santiago, 1988.

CHANG, C. C.; WANG, W. C.; BARDIN, C. W. Post coital use of anordiol and RU 486 for prevention of implantation in the rat. **Contraception**, v. 47, p. 413-419, 1993.

COOPER, T. G. In defense of a function for the human epididymis. **Fertil. Steril.**, v. 54, n. 6, p. 965-975, 1990.

- CROXATTO, H.B. et al. Hormonal control of ovum transport through the rat oviduct. **Arch. Biol. Med. Grap.**, v. 24, p. 403-410, 1991.
- CROSS, N. L. et al. Induction of acrosoma reaction by the human zona pellucida. **Biol. Reprod.**, v. 38, p. 235-244, 1988.
- CUASNICU, P. S.; BEDFORD, J. M. The effect of moderate epididymal aging on the kinetics of the acrosoma reaction an fertilizing ability of hamster spermatozoa. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 1067-1073, 1989.
- DEVREKER, F.; HARDY, K. Effects of glutamine and taurine on preimplantation development and cleavage of mouse embryos *in vitro*. **Biol. Reprod.**, v. 57, p. 921-928, 1997.
- EDDY, E. M. et al. Imunodissection of sperm surface modifications during epididymal maturation. **Am. J. Anat.**, v. 174, p. 235-237, 1985.
- FAZLEABAS, A. T.; VERHAGE, H. G. Embryos maternal dialogue in the primate: regulation of Insulin-growth binding protein (IGFBP-1). **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 24, p. 311-315, 1991.
- FLORMAN, H. M.; WASSARMAN, P. M. The mouse egg's receptor for sperm: involvement of O-linked carbohydrate. **J. Cell. Biol.**, v. 97, p. 26, 1983.
- FORCELLEDO, M. L.; CROXATTO, H. B. Effects of 4-hydroxyandrostenedione and exogenous testosterone on blood concentration of oestradiol and oviductal embryo transport in the rat. **J. Endocrinol.**, v. 118, p. 93-100, 1988.
- FORCELLEDO, M. L.; VERA, R.; CROXATTO, H. B. Ovum transport in pregnant, pseudopregnant, and cyclic rats and its relationship to estradiol and progesterone blood levels. **Biol. Reprod.**, v. 24, p. 760-765, 1981.
- FORCELLEDO, M. L. et al. Role of ovarian and adrenal progesterone in the regulation of ovum transport in pregnant rats. **Biol. Reprod.**, v. 27, p. 1033-1041, 1982.
- FUENTEALBA, B.; NIETO, M.; CROXATTO, H. B. Progesterone abbreviates de nuclear retention of estrogen receptor in the rat oviduct and counteracts action on egg transport. **Biol. Reprod.**, v. 38, p. 63-69, 1988.
- HAGGERTY, J. G.; JACKSON, R. C. Effects of proteolysis on the calcium-stimulated release of granule contents from the cell surface complex of sea urchin eggs. **J. Cell Biol.**, v. 97, p. 26, 1983.
- HALBERT, S. A.; BECKER, D. R.; SZAL, S.E. Ovum transport in the rat oviductal ampulla in the absence of muscle contractility. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 1131-1136, 1989.
- HARPER, M. J. K. Gamete and zygote transport. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D. **The physiology of reproduction** 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press, p. 123-187, 1994.
- HARVEY, M. B.; KAYE, P. L. Insulin stimulates mitogenesis of the inner cell mass and morphological development of mouse blastocyst. **Development**, v. 110, p. 963-967, 1990.
- HARVEY, M. B.; KAYE, P. L. Insulin-like growth factor-I stimulates growth of mouse preimplantation embryos *in vitro*. **Mol. Reprod. Dev.**, v. 31, p. 195-199, 1992.
- HEAP, R. B.; FLINT, A. P. F.; GADSBY, J. E. Embryonic signals that establish pregnancy. **Br. Med. Bull.**, v. 34, p. 129-135, 1979.
- HERRLER, A.; KRUSCHE, C. A.; BEIER, H. M. Insulin and insulin-like growth factors-1 promote rabbit blastocyst development and prevent apoptosis. **Bio. Reprod.**, v. 59, p. 1302-1310, 1998.
- HOSHI, K. et al. Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by human zona pellucida and effect of cervical mucus ou zona-induced acrosome reaction. **Fertil. Steril.**, v. 60, n. 1, p. 149-153, 1993.
- HUANG Jr., T. T. F.; YANAGIMACHI, R. Inner acrosomal membrane of mammalian spermatozoa: its properties and possible functions in fertilization. **Am. J. Anat.**, v. 174, p. 244-268, 1985.
- IUSEN, N. D. et al. Identification of a major secretory glycoprotein from rat epididymis interaction with spermatozoa. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 307-316, 1989.
- IVANI, K. A.; SEIDL Jr., G. E. Low doses of calcium ionophore A 23187 stimulate motility in murine spermatozoa. **Theriogenology**, v. 33, n. 1, p. 255, 1990.

- KANO, K; MIYANO, T.; KATO, S. Effects of glycosaminoglycans on the development of in vitro-matured and fertilized porcine oocytes to the blastocyst stage in vitro. **Biol. Reprod.**, v. 58, p. 122, 1998.
- KAPLAN, P; NAZ, R. K. The fertilization antigen-1 does not have proteolytic acrosin activity, but is monoclonal antibody inhibits sperm capacitation and acrosome reaction. **Fertil. Steril.**, v. 58, n. 2, p. 396-402, 1992.
- KINOSHITA, K. et al. Involvement of prostaglandins in the pregnant mouse. In: HAYAISHI, O.; YAMAMOTO, S. **Advances in Prostaglandins, thromboxane and leukotriene research**. New York: Raven Press, 1985, v. 15, p. 605-607.
- LACHAPELLE, M. H. et al. Effect of lysoplatelet-activating factors on human sperm fertilization ability. **Fertil. Steril.**, v. 59, p. 863-868, 1993.
- LASSALLE, B.; TESTARI, J. Sequential transformations of human sperm nucleus in human egg. **J. Reprod. Fertil.**, v. 91, p. 393-402, 1991.
- LI, J. et al. Rabbit oviduct epithelial cell culture as a possible model for capacitating sperm. **Theriogenology**, v. 33, n. 1, p. 274, 1990.
- LIU, D.Y.; BAKER, H. W. G. Inducing the human acrosome reaction with a calcium ionophore A 23 187 decreases sperm-zona pellucida binding with oocytes that failed to fertilize in vitro. **J. Reprod. Fertil.**, v. 89, p. 127-134, 1990.
- MATHIEU, C. et al. Motility and fertilization capacity of epididymal human spermatozoa in normal and pathological cases. **Fertil. Steril.** v. 57, n. 4, p. 871-876, 1992.
- MEIZEL, S. Molecules that initiate or help stimulate the acrosome reaction by their interaction with mammalian sperm surface. **Am. J. Anat.**, v. 174, p. 285-302, 1986.
- METZ, K. W.; BERLER, T.; CLEGG, E. D. Adsorption of seminal plasma proteins by boar spermatozoa. **Theriogenology**, v. 34, n. 4, p. 691-700, 1990.
- MOORE, G. D.; CROXATTO, H. B. Effects of delayed treatment with estrogen on the transport of microspheres by the rat oviduct. **J. Reprod. Fertil.**, v. 83, p. 795-802, 1988.
- MORALES, P. Gonadotropin-releasing hormone increase ability of the spermatozoa to bind to the human zona pellucida. **Biol. Reprod.**, v. 59, p. 426-30, 1998.
- OLIPHANT, G.; REYNOLDS, A.; THOMAS, T. S. Sperm surface components involved in the control of the acrosome reaction. **Am. J. Anat.**, v. 174, p. 269-283, 1985.
- O'NEILL, C. Autocrine mediators are required act on the embryo by the 2-cell stage to promote normal development and survival of mouse preimplantation embryos in vitro. **Biol. Reprod.**, v. 58, p. 1303-1309, 1998.
- ORTIZ, M. E. et al. Differential transport of fertilized and unfertilized eggs. **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 24, p. 393-401, 1991.
- ORTIZ, M. E.; VILLANON, M.; CROXATTO, H. B. Ovum transport and fertility following post ovulatory treatment with estradiol in rats. **Biol. Reprod.**, v. 21, p. 1163-1167, 1979.
- PARIA S. C.; DEY, S. K. Pre-implantation embryo development *in vitro*. Cooperative action among embryos and role of growth factors. **Proc. Natl. Acad. Sci, USA**, v. 87, p. 4756-4760, 1990.
- PARRISH, J. J. et al. Capacitation of bovine spermatozoa by oviduct fluid. **Biol. Reprod.**, v. 40, p. 1020-1025, 1989.
- PATRIZIO, P. et al. Testicular origins of immunobead-reactin antigens in human sperm. **Fertil. Steril.**, v. 57, n. 1, p. 183-186, 1992.
- PERREAULT, S. D.; ZIRKIN, B. R. Mechanisms of sperm nuclear decondensation in mammalian oocytes. **J. Cell. Biol.**, v. 97, p. 26, 1983.
- PRATT, H. P. M.; BOLTON, V. N.; GUDGEON, K. A. The legacy from the oocyte and its role in controlling early development of the mouse embryo. In: PORTER, R.; WHEALAP, J. (Ed.). **Molecular Biology of Egg Maturation**. London: Pitman, 1983, p.197- 227.
- RYAN, J. P. et al. Implantation potential and fetal viability of mouse embryos cultured in media supplemented with platelet-activating factor. **J. Reprod. Fertil.**, v. 89, p. 309-315, 1990.

- SADLER, T. W.; HUNTER III, E. S. Principles of abnormal development. Past, present and future. In: KIMMEL, C. A.; BUELKE-SAM. **Developmental toxicology**. 2 nd. New York: Raven Press, 1994. p. 53-63.
- SANDLER, T.W. **Langman Embriologia Médica**. 6. ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1993.
- SMITH, T. T.; YANAGIMACHI, R. The viability of hamster spermatozoa stored in the isthmus of the oviduct: the importance of sperm epithelium contact for sperm survival. **Biol. Reprod.**, v. 42, p. 450-457, 1990.
- STOCK, C. E.; FRASER, L. R. Divalent cations, capacitation and the acrosome reaction in human spermatozoa. **J. Reprod. Fert.**, v. 87, p. 463-478, 1989.
- SUELDO, C. et al. Effect of progesterone on human zona pellucida sperm binding and oocyte penetrating capacity. **Fertil. Steril.**, v. 60, n. 1, p. 137-140, 1993.
- TAKAHASHI, K. et al. The kinetics of the acrosome reaction of human spermatozoa and its correlation with in vitro fertilization. **Fertil. Steril.**, v. 57, n. 4, p. 889-894, 1992.
- TALBOT, T. Sperm penetrating through oocyte investments in mammals. **Am. J. Anat.**, v. 174, p. 331-346, 1985.
- TALO, A. How the myosalpix works in gamete and embryo transport. **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 24. p. 332-343, 1991.
- TESAVRIK, J.; MENDOZA, O.; TESTART, J. Effect of the human cumulus oophorus on movement characteristics of human capacitated spermatozoa. **J. Reprod. Fert.**, v. 88, p. 665-675, 1990.
- UHLER, M. L. et al. Direct effect of progesterone on human hiperactivated motility and acrosome reaction. **Fertil. Steril.**, v. 58, n. 6, p. 1191-1198, 1992.
- VALLET, J. L.; BAZER, F. W.; ROBERT, R. M. The effect of ovine trophoblast protein-1 on endometrial protein secretion and cyclic nucleotides. **Biol. Reprod.**, v. 37, p. 1307-1316, 1987.
- VIGGIANO, M. et al. Probable influence of ova and embryo prostaglandins in the differential transport in pregnant and cycling rats. **Prostaglandins Leukot Essent. Fatty Acid.**, v. 45 p. 211-215, 1992.
- VILLALON, M.; VERDUGO, P. Control of ciliary movement in mammalian oviductal ciliated cells. **Arch. Biol. Med. Exp.**, v. 24, p. 344-350, 1991.
- VINIJSAMUN, A. et al. Effects of monoclonal antibody against progesterone on embryo transport, development and implantation in laboratory mice. **Reprod. Fertil. Develop.**, v. 2. p. 395-405, 1990.
- YAO, Y-Y; HO, P-C; YEUNG, W. S-b Effects of human oviductal cell coculture on various functional parameters of human spermatozoa. **Fertil. Steril.**, v. 71, n. 2, p. 232-239, 1999.
- YANAGIMACHI, R. Mammalian fertilization. In: KNOBIL, E. et al. **The physiology of reproduction**. New York: Raven Press, 1988. Cap. 5, p. 135-185.
- YANG, Y. Q.; WU, J. T. RV 486 interferes with egg transport and retards the in vivo and in vitro development of mouse embryos. **Contraception**, v. 41, n.5, p. 550-557, 1990.
- WASSARMAN, P. M. Fertilization in mammals. **Sci Am.**, v. 259, p. 52-58, 1988.
- WU, J.T. Changes in the 17  $\beta$  -hydroxysteroid dehydrogenase activity of mouse blastocysts during delayed implantation. **Biol. Reprod.**, v. 39, p. 1021-1026, 1988.
- WU, J. T.; LIU, Z. H. Conversion of pregnenolone to progesterone by mouse morulae and blastocysts. **J. Reprod. Fert.**, v. 88, p. 93-98, 1990.