

Clivagem

Clivagem

Determinação dos padrões de clivagem (as primeiras divisões do embrião)

O papel dos microtúbulos e microfilamentos: os atores principais na divisão celular

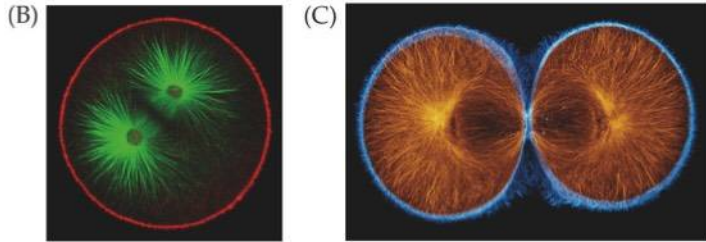
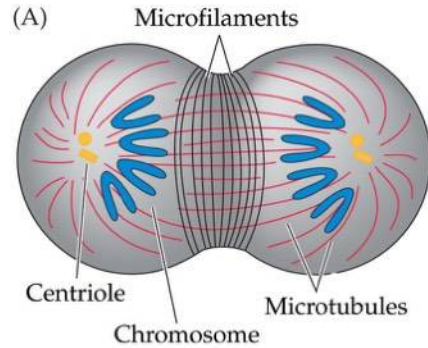


TABLE 8.1 Karyokinesis and cytokinesis

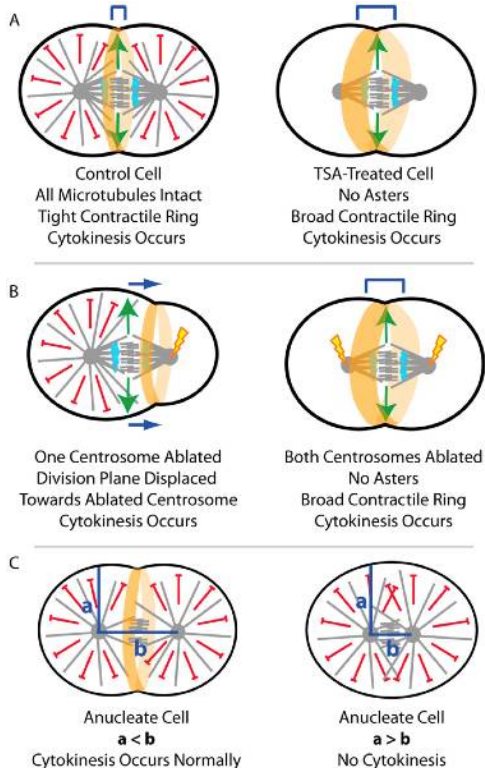
Process	Mechanical agent	Major protein composition	Location	Major disruptive drug
Karyokinesis	Mitotic spindle	Tubulin microtubules	Central cytoplasm	Colchicine, nocodazole ^a
Cytokinesis	Contractile ring	Actin (acto-myosin) microfilaments	Cortical cytoplasm	Cytochalasin B

^aBecause colchicine has been found to independently inhibit several membrane functions, including osmoregulation and the transport of ions and nucleosides, nocodazole has become the major drug used to inhibit microtubule-mediated processes (see Hardin 1987).

Clivagem

Determinação dos padrões de clivagem (as primeiras divisões do embrião)

O papel dos microtúbulos e microfilamentos: uma nova proposta



A especificação do plano de divisão seria independente da maquinaria de microtúbulos e mediada por mecanismos de indução ainda desconhecidos (setas vermelhas).

O contato dos microtúbulos com o córtex celular pode ser afetado ao eliminar seletivamente os microtúbulos astrais com tratamento TSA controlado (A à direita) ou por dupla ablação de centrossomas (B à direita). Em ambos casos aconteceu a citocinese, e pelo tanto os microtúbulos não seriam essenciais para o sucesso da citocinese.

Quando um único centrossoma foi eliminado, o plano de divisão foi deslocado do aster eliminado (B à esquerda); além disso, as células anucleadas só completam a citocinese se a distância entre os centrossomas excede a distância dos centrossomas até o córtex celular (C, $a < b$). Isso sugere que uma sinal inibitória associada aos microtúbulos astrais estaria envolvida na especificação do plano de citocinese.

Clivagem

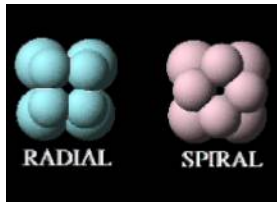
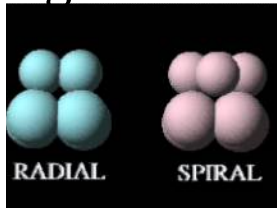
Padrões de clivagem (as primeiras divisões do embrião)

Uma ampla gama de padrões de clivagem pode ser encontrada em diferentes grupos de animais. A clivagem **holoblástica** (divisão completa dos blastômeros) vs. **meroblástica** (divisão incompleta) estão influenciados pelo tamanho do ovo e quantidade de vitelo:

- **Isolécito** = vitelo uniformemente distribuído
- **Mesolécito** = vitelo moderado e ligeiramente deslocado ao polo vegetal
- **Telolécito** = vitelo deslocado para um lado do ovo
- **Centrolécito** = vitelo concentrado no meio do ovo

Clivagem radial vs. espiral

Vista lateral



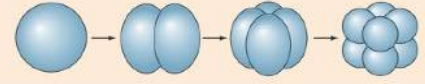
Vista superior (do polo animal)

Para a clivagem espiral, note o arranjo dos blastômeros da camada superior sobre as junções celulares da camada inferior.

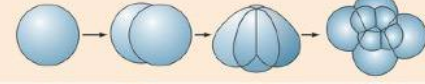
I. HOLOBLASTIC CLEAVAGE

A. Isolecithal

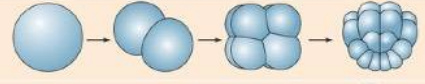
1. Radial cleavage
Echinoderms, amphioxus



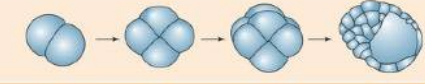
2. Spiral cleavage
Annelids, molluscs, flatworms



3. Bilateral cleavage
Tunicates

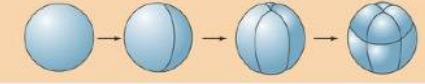


4. Rotational cleavage
Mammals, nematodes



B. Mesolecithal

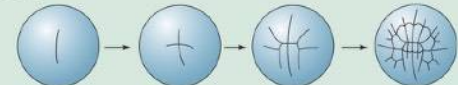
- Displaced radial cleavage
Amphibians



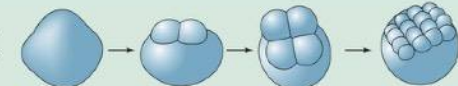
II. MEROBLASTIC CLEAVAGE

A. Telolecithal

1. Bilateral cleavage
Cephalopod molluscs

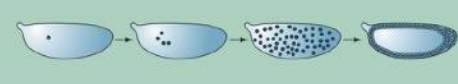


2. Discoidal cleavage
Fish, reptiles, birds



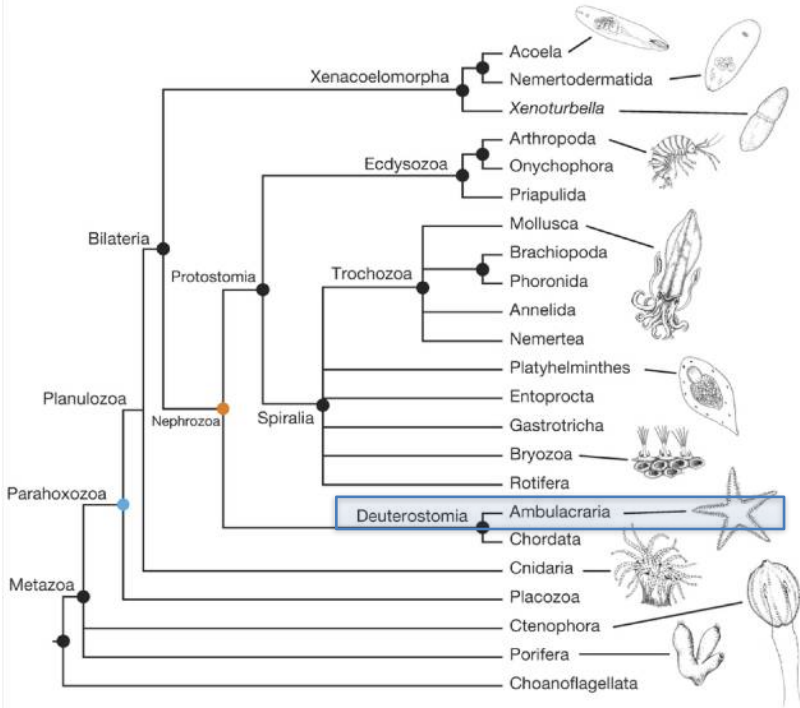
B. Centrolecithal

- Superficial cleavage
Most insects

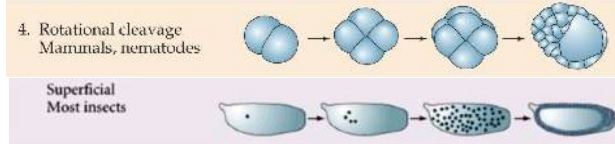


Clivagem

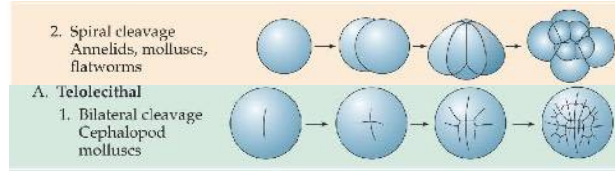
Radial - holoblástico - isolécito



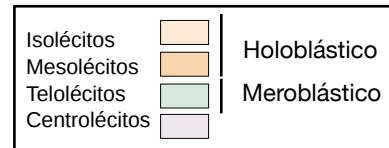
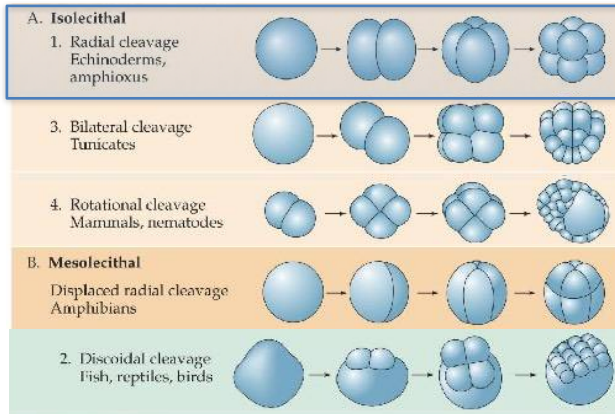
Ecdysozoa:



Spiralia:



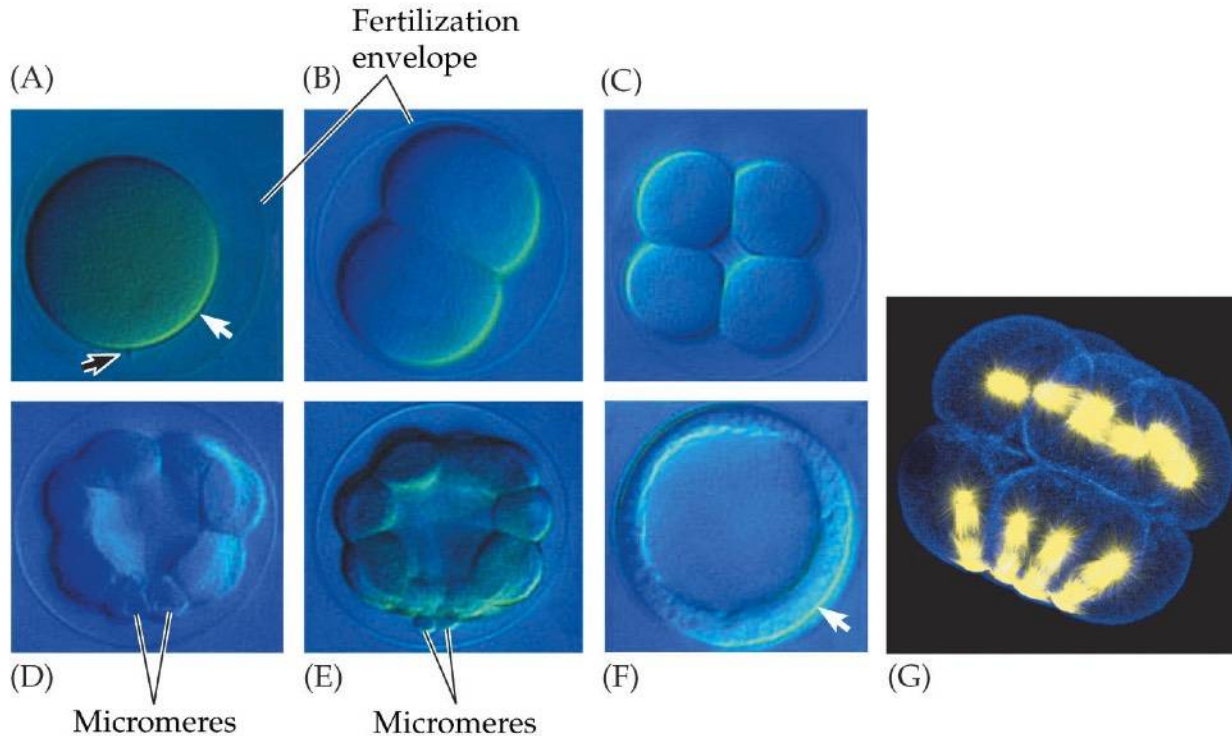
Deuterostomia:



Clivagem

Radial - holoblástico - isolécito

Clivagem em embriões vivos do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*, visto de lado:



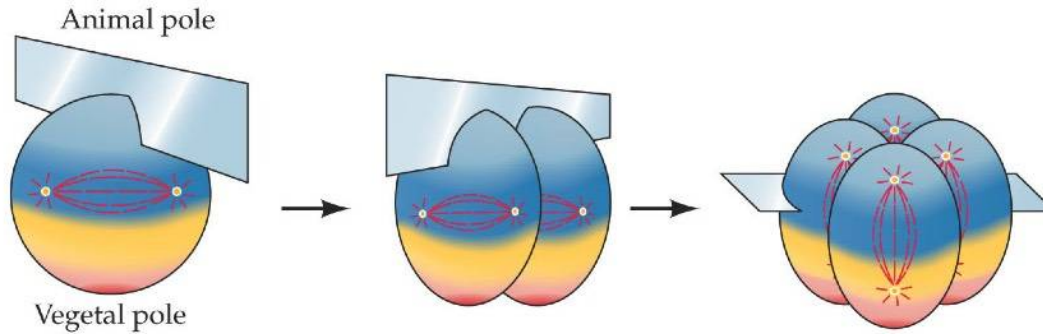
Ovos relativamente pequenos com gema distribuída uniformemente passam por três divisões iguais e radialmente simétricas durante os estágios iniciais de desenvolvimento, formando blastômeros de tamanhos iguais.

No estágio de 12 células, ocorre uma clivagem desigual nos blastômeros vegetais que produzem os micrômeros (precursores da linha germinativa).

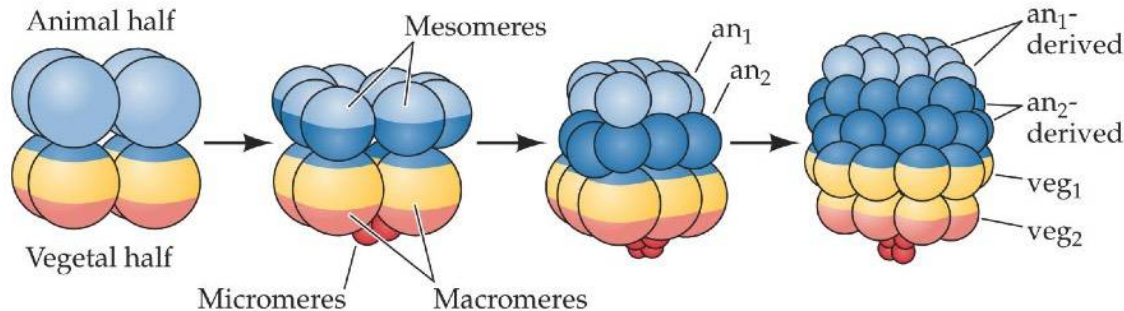
Clivagem

Radial - holoblástico - isolécito

Clivagem no ouriço é holoblástico radial:



A terceira clivagem é equatorial, dividindo as metades animal e vegetal.

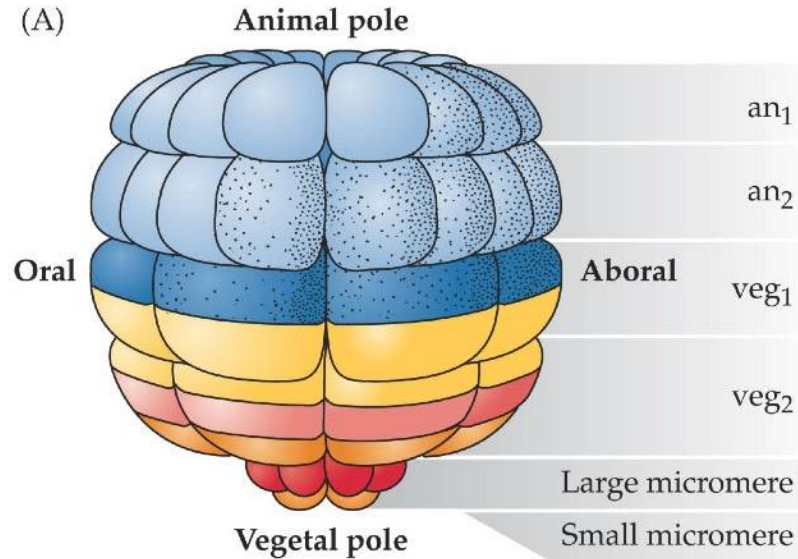


As células vegetais sofrem clivagens desiguais para produzir quatro pequenos micrômeros no pólo vegetal.

Clivagem

Radial - holoblástico - isolécito

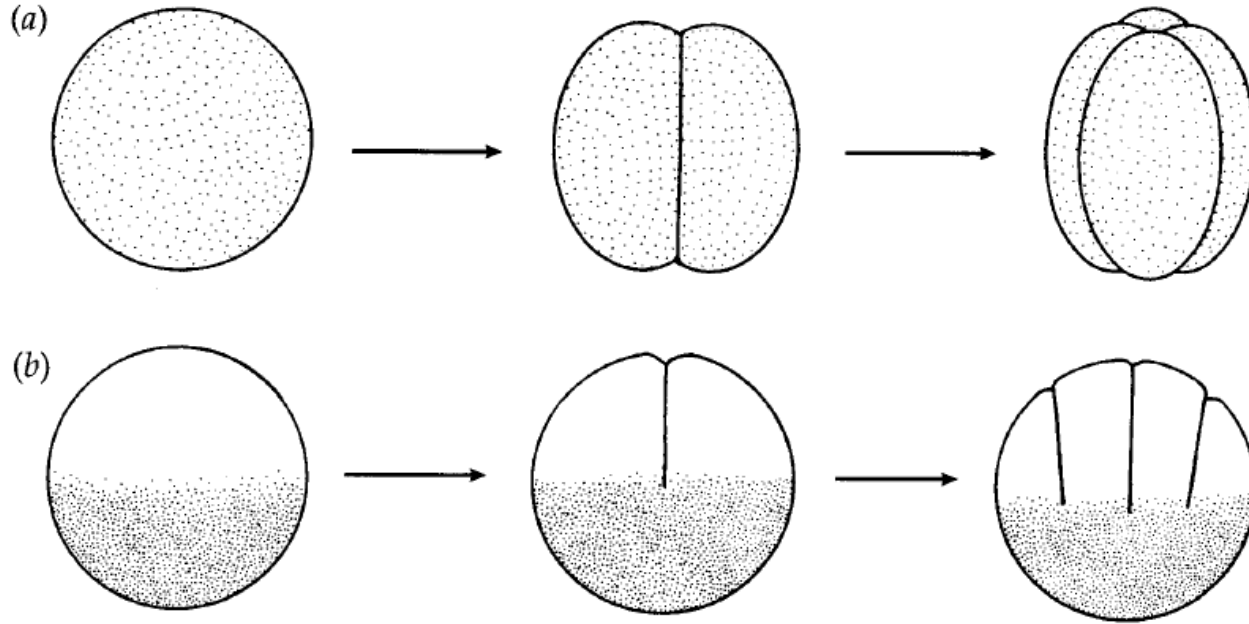
Mapa de destino e linhagem celular do ouriço-do-mar *Strongylocentrotus purpuratus*



	Aboral ectoderm		Secondary mesenchyme
	Oral ectoderm		Skeletogenic cells
	Endoderm		Coelom

Clivagem

Radial - holoblástico - isolécito

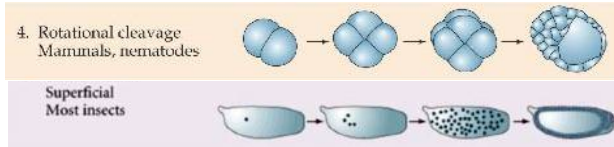


Radial - holoblástico - mesolécito

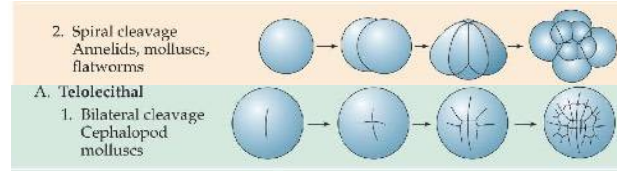
Clivagem

Radial - holoblástico - mesolécito

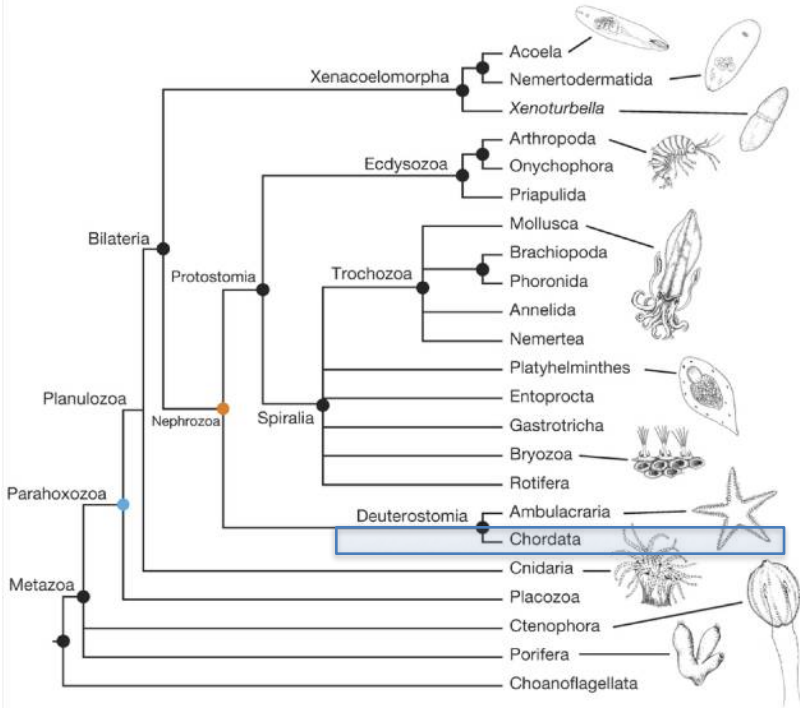
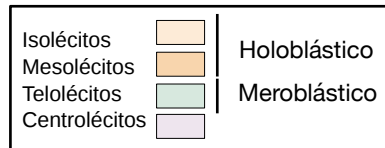
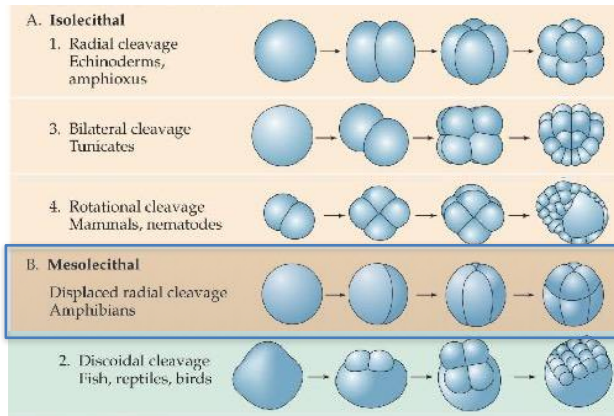
Ecdysozoa:



Spiralia:

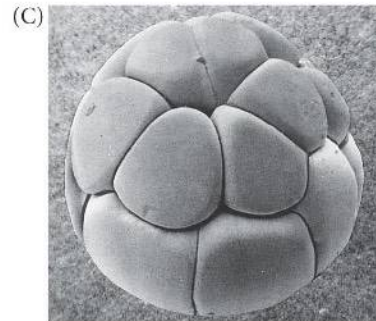
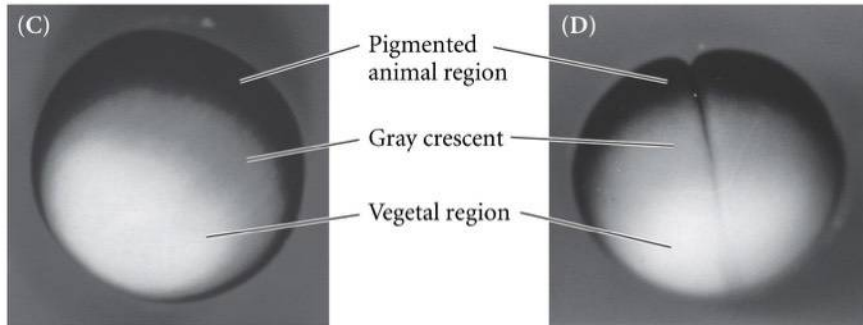
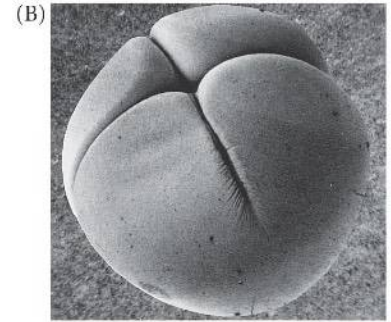
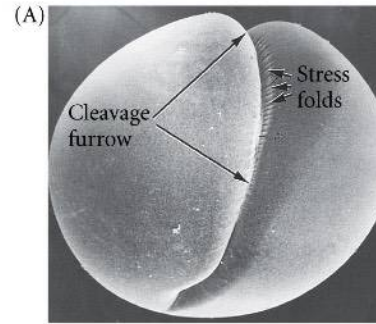
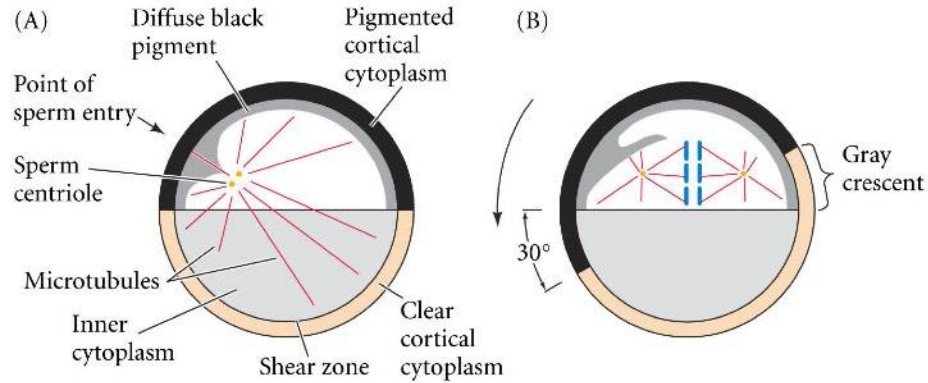


Deuterostomia:



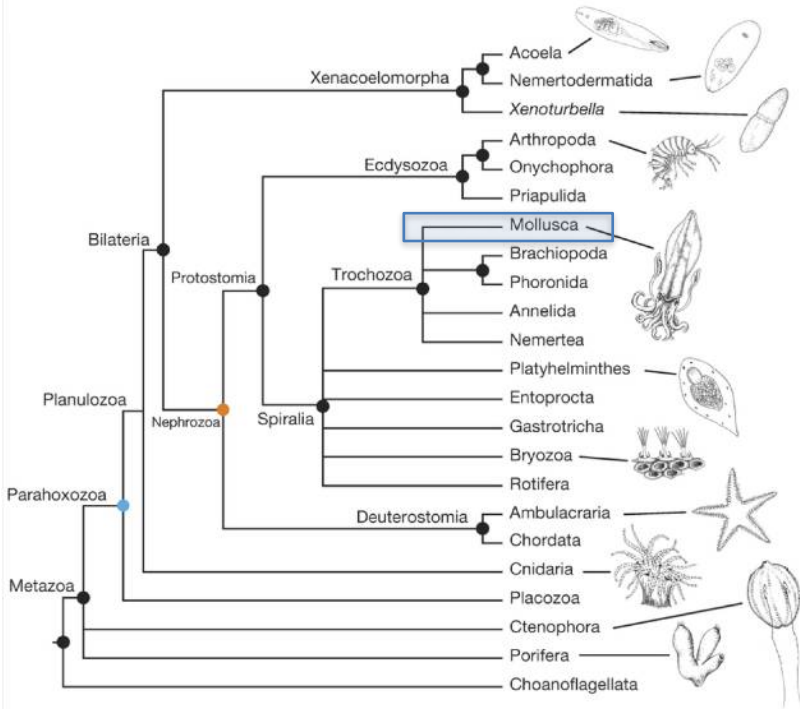
Clivagem

Radial - holoblástico - mesolécito

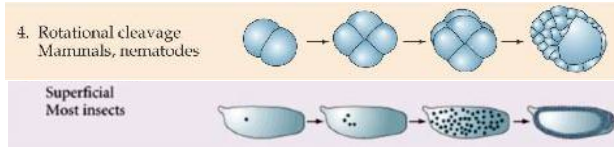


Clivagem

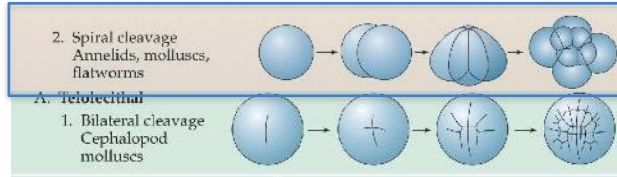
Espiral - holoblástico - isolécito



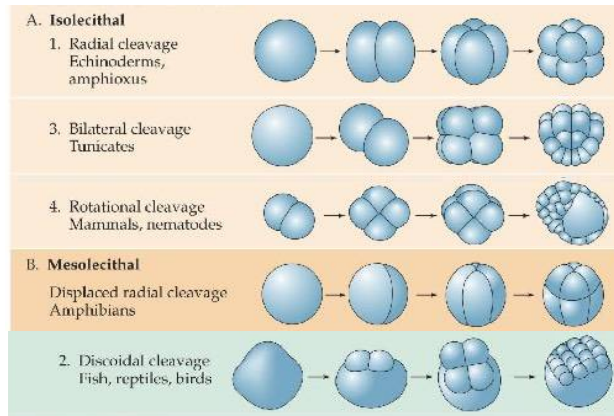
Ecdysozoa:



Spiralia:



Deuterostomia:



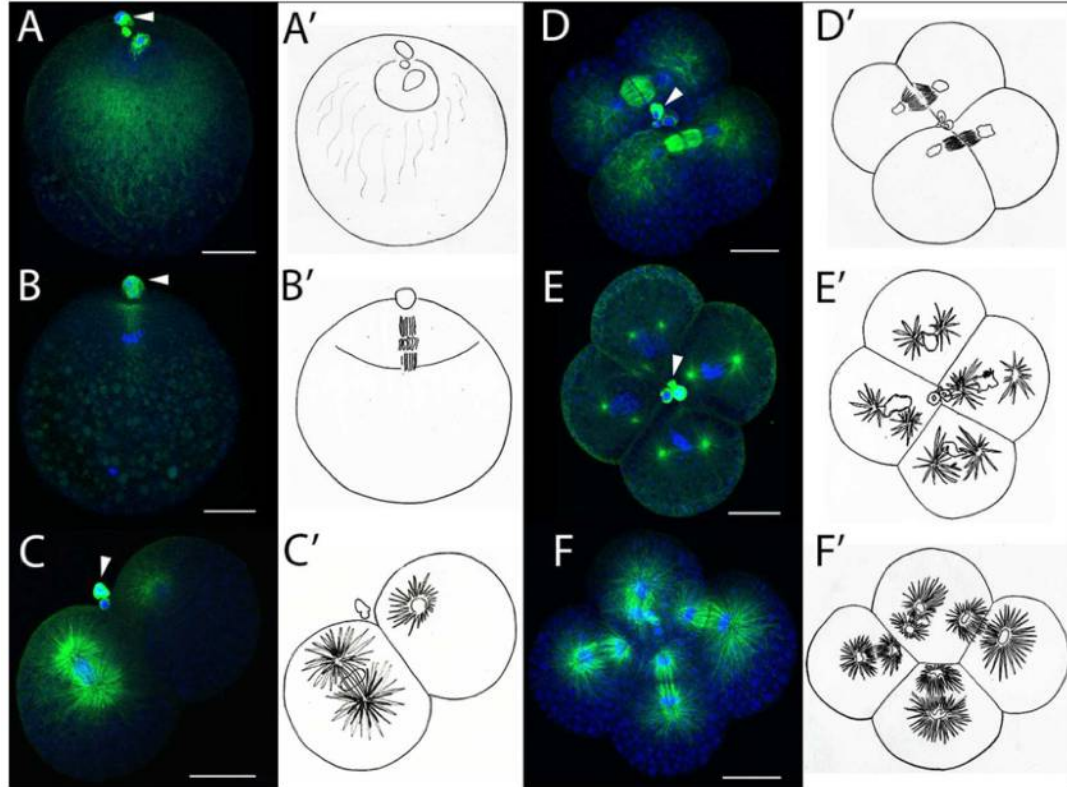
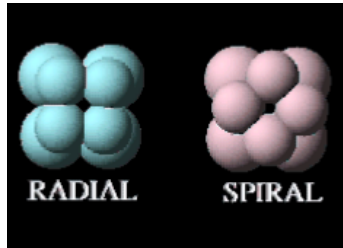
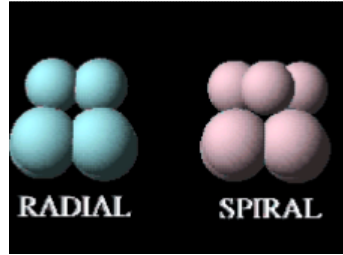
Isolécitos		Holoblástico
Mesolécitos		
Telolécitos		Meroblástico
Centrolécitos		



Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

Opisthobranch *Navanax enigmaticus* (Chavez et al. 2017)



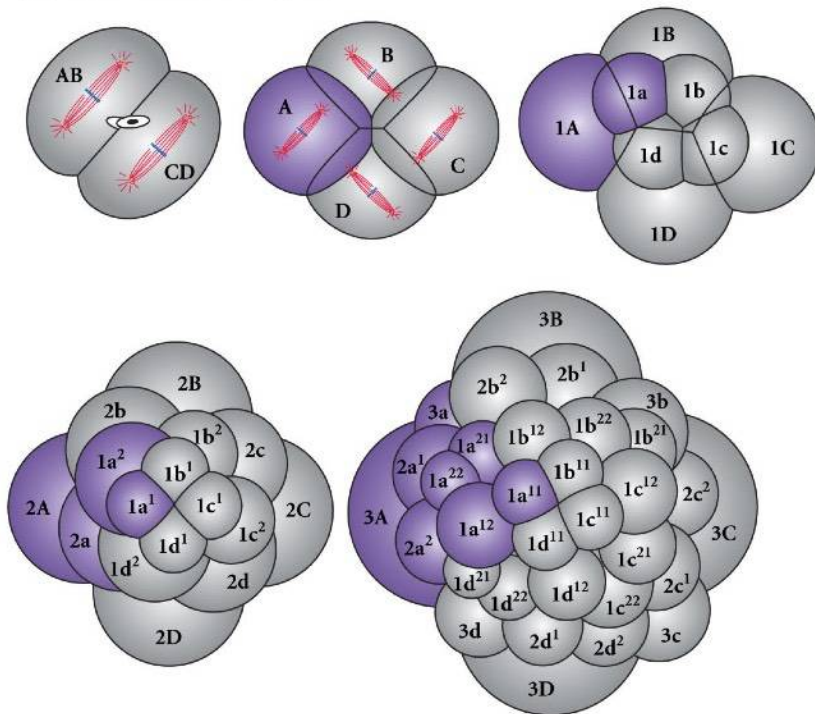


Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

Clivagem em espiral do molusco *Trochus* (Parte 1)

(A) View from animal pole



O desenvolvimento em espiral é característicos em Spiralia, o grupo de animais que inclui vermes segmentados (anélidos) e moluscos. O padrão de clivagem é distintivo pelo arranjo dos blastômeros após cada divisão.

As primeiras duas clivagens produzem 4 macrômeros grandes. Então, cada macrômero brota de um pequeno micrômero.

Cada micrômero é deslocado para a esquerda / direita em relação a sua irmã, produzindo um padrão espiral.

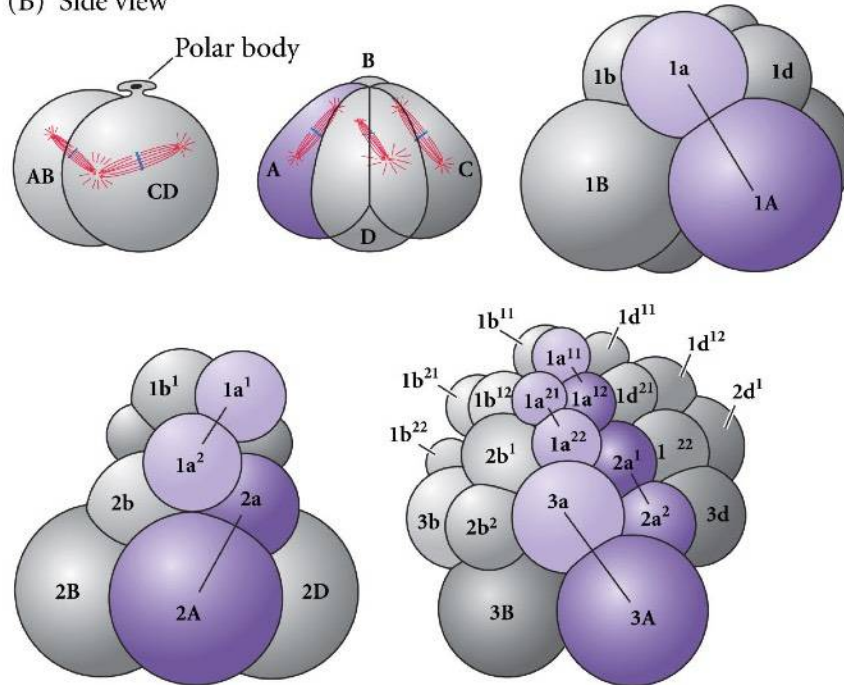


Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

Clivagem em espiral do molusco *Trochus* (Parte 2)

(B) Side view



O deslocamento esquerdo / direito pode ser facilmente visto de lado.



Lymnaea stagnalis

Clivagem

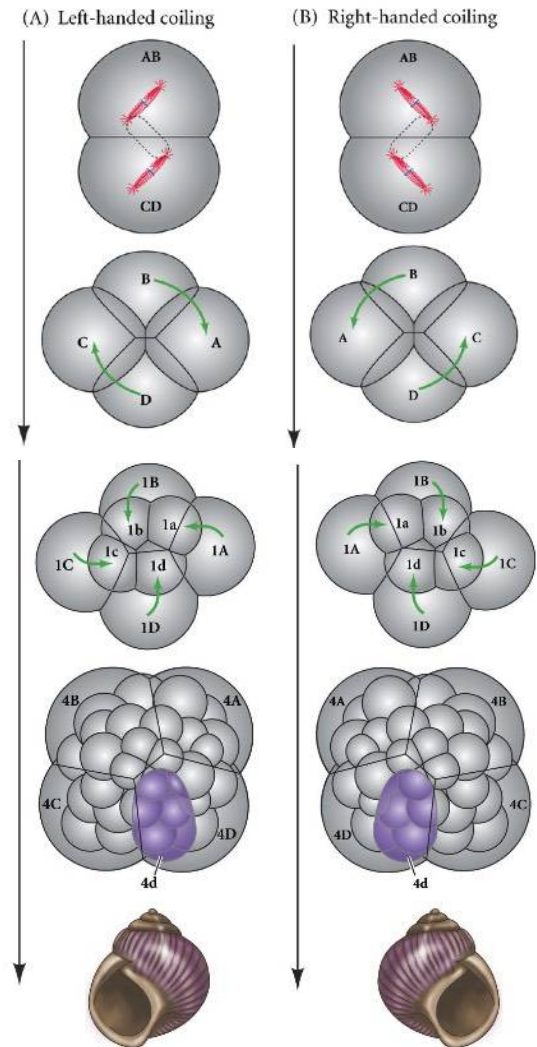
Espiral - holoblástico - isolécito

Olhando para baixo no pólo animal de (A)
caracóis enrolados à esquerda e (B)
caracóis enrolados à direita:

Estudos de quiralidade:

O enrolamento é determinado pela
orientação do fuso mitótico.

A direção da clivagem irá determinar a futura
direção do processo de formação da concha.



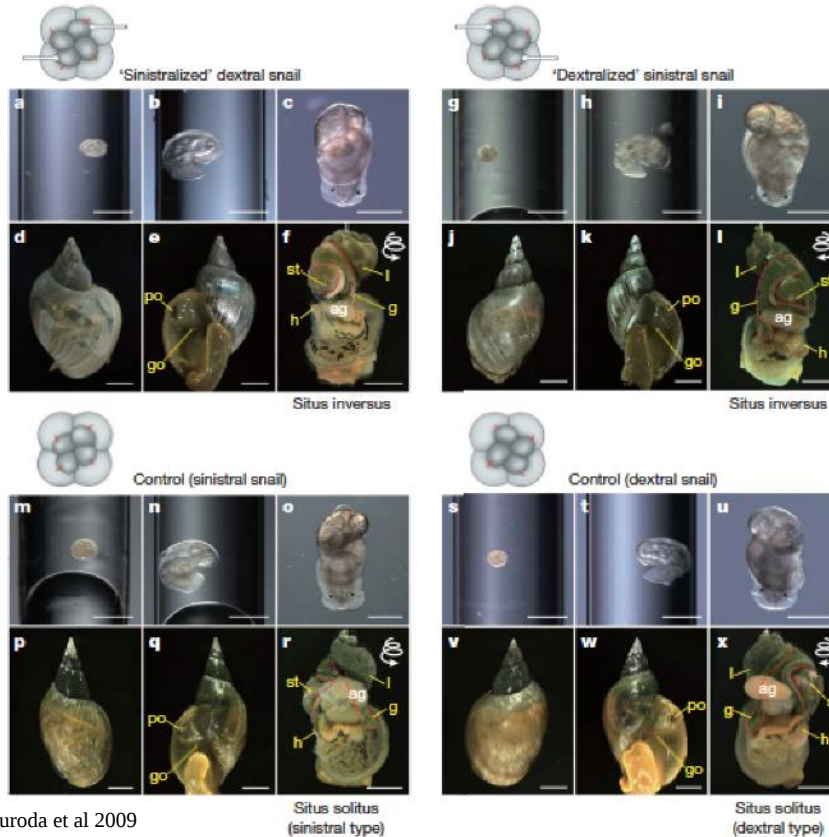


Lymnaea stagnalis

Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

Estudos de quiralidade:



Kuroda et al 2009

Caracóis enrolados à esquerda e à direita:

A quiralidade é determinada matematicamente.

A micromanipulação mecânica da quiralidade leva a uma reversão da lateralidade.

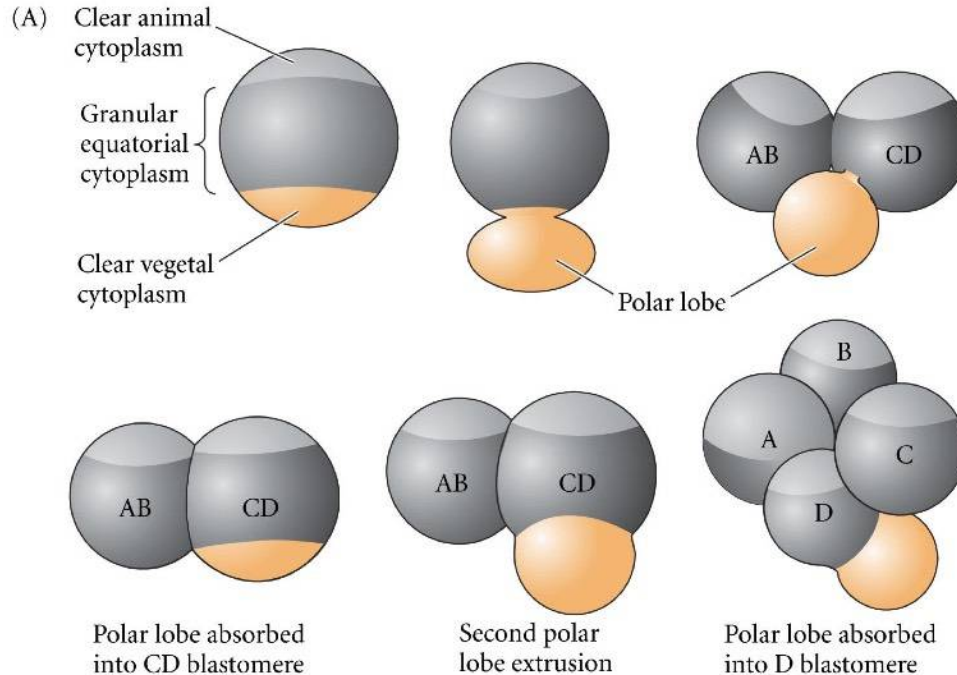
Isso muda a direção da expressão do ligante secretado Nodal que ajuda determinar no estabelecimento do eixo direita-esquerda do animal.

Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

O lóbulo polar - uma estrutura embrionária transitória das primeiras clivagens de algumas espécies de Spiralia.

Formação de lóbulo polar em certos embriões de moluscos



Alguns embriões de moluscos expelem um lóbulo polar antes da primeira clivagem.

O lóbulo é reabsorvido para o blastômero CD e, em seguida, extrudado antes da segunda clivagem, antes de ser absorvido pelo blastômero D.

A remoção do lobo produz uma larva incompleta sem mesoderme intestinal, rim e coração.

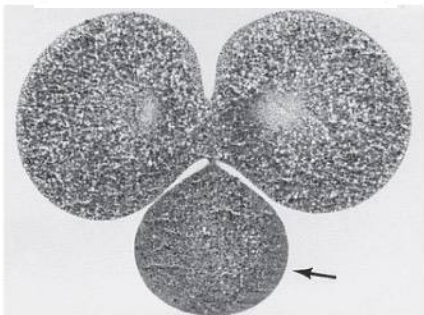
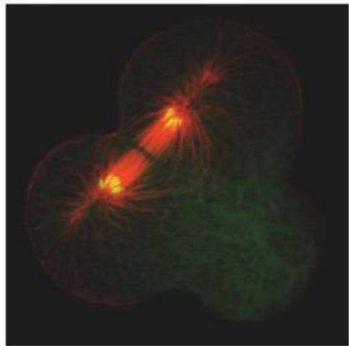


Illyanasa obsoleta

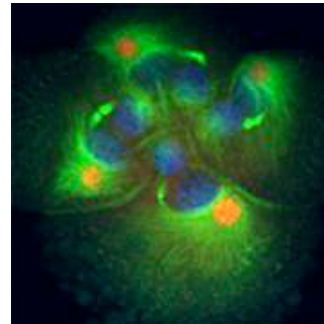
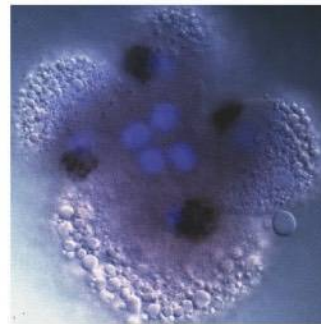
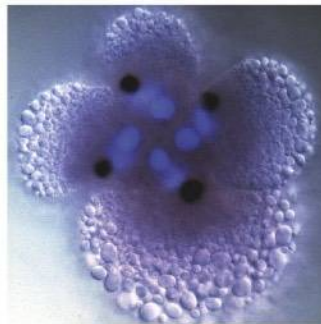
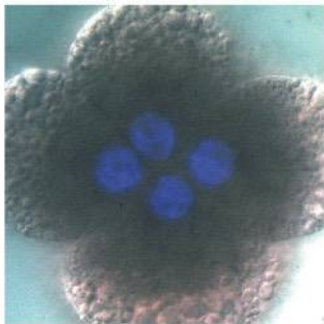
Clivagem

Espiral - holoblástico - isolécito

O lóbulo polar:



Desenvolvimento autônomo/determinado: mRNA de decapentaplégico (dpp) e outros transcritos maternos se associam apenas a um centrossoma (neste caso os macrómeros vegetais):



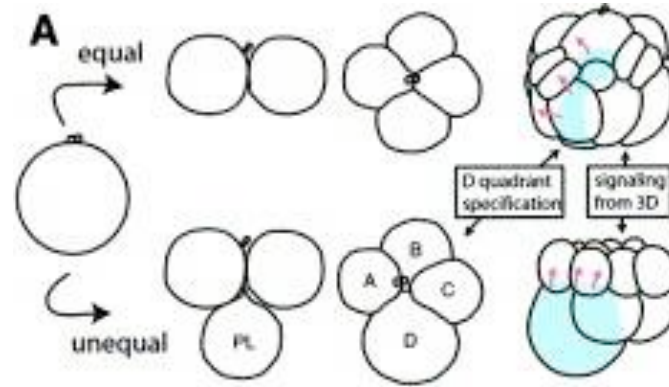
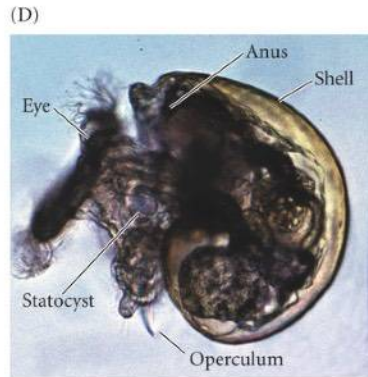
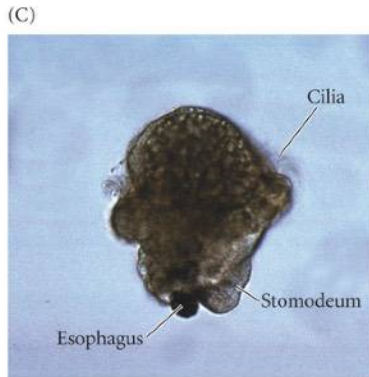
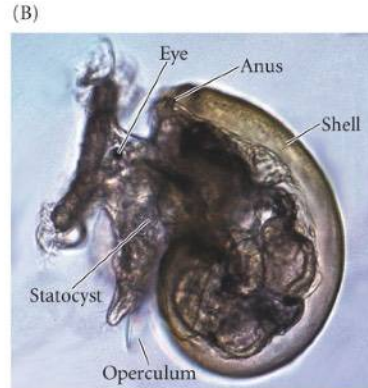
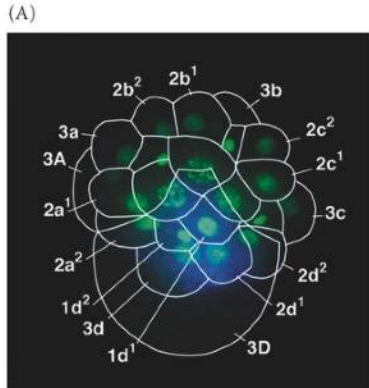


Clivagem

Illyanasa obsoleta

Espiral - holoblástico - isolécito

O “organizador” derivado da linhagem D:



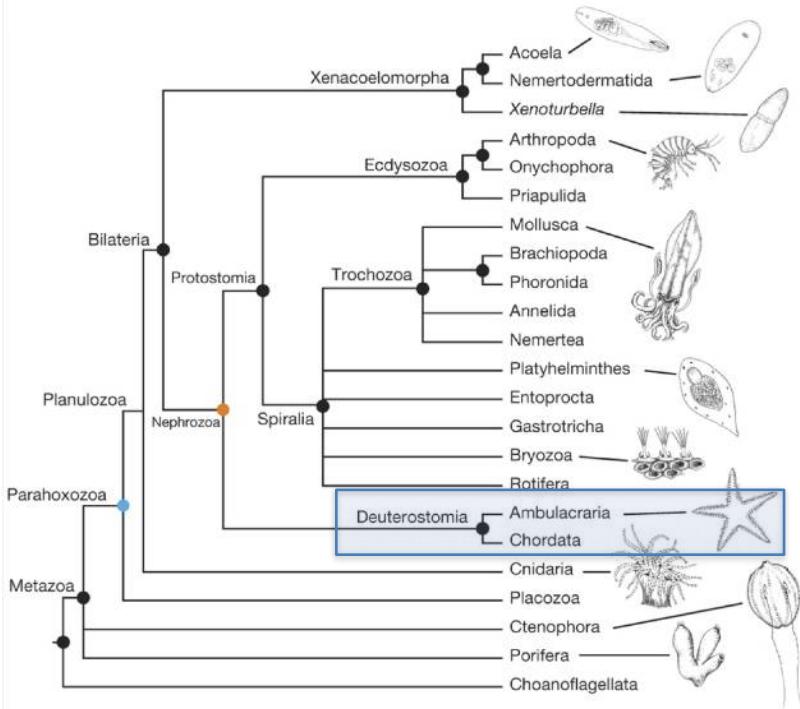
MAPK signalling

D quadrant
→ D/P structures

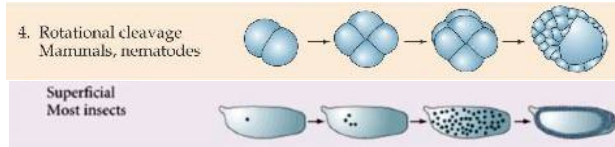
O blastômero 3D ativa a atividade da MAP quinase em micrômeros adjacentes

Clivagem

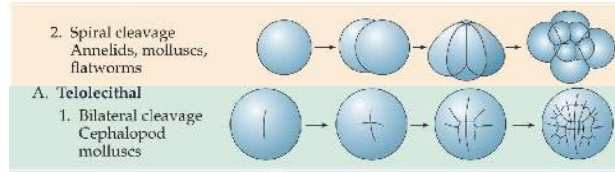
Bilateral - holoblástico - isolécito



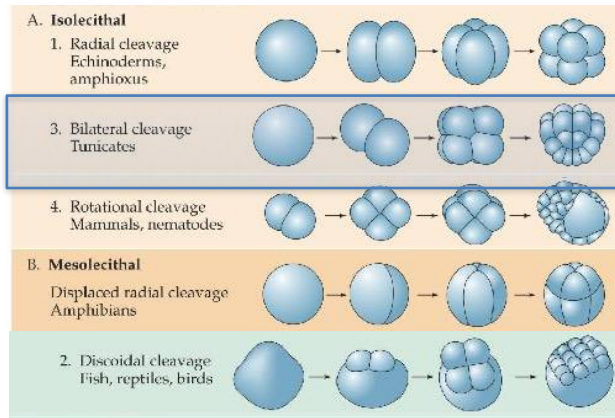
Ecdysozoa:



Spiralia:



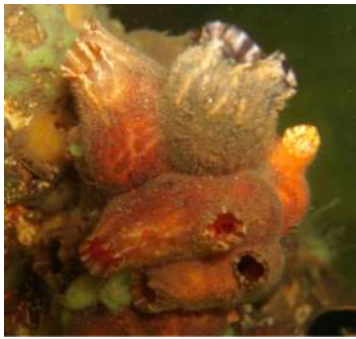
Deuterostomia:



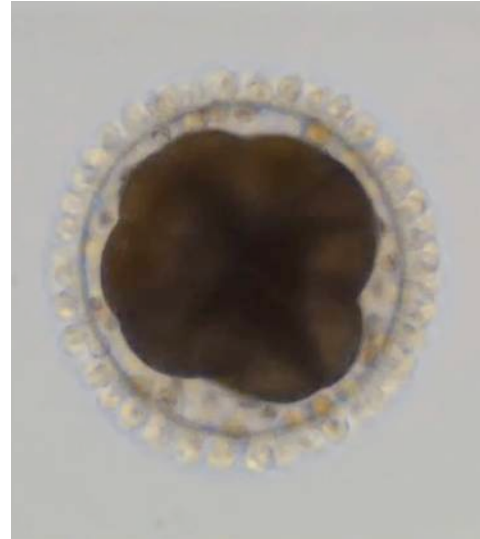
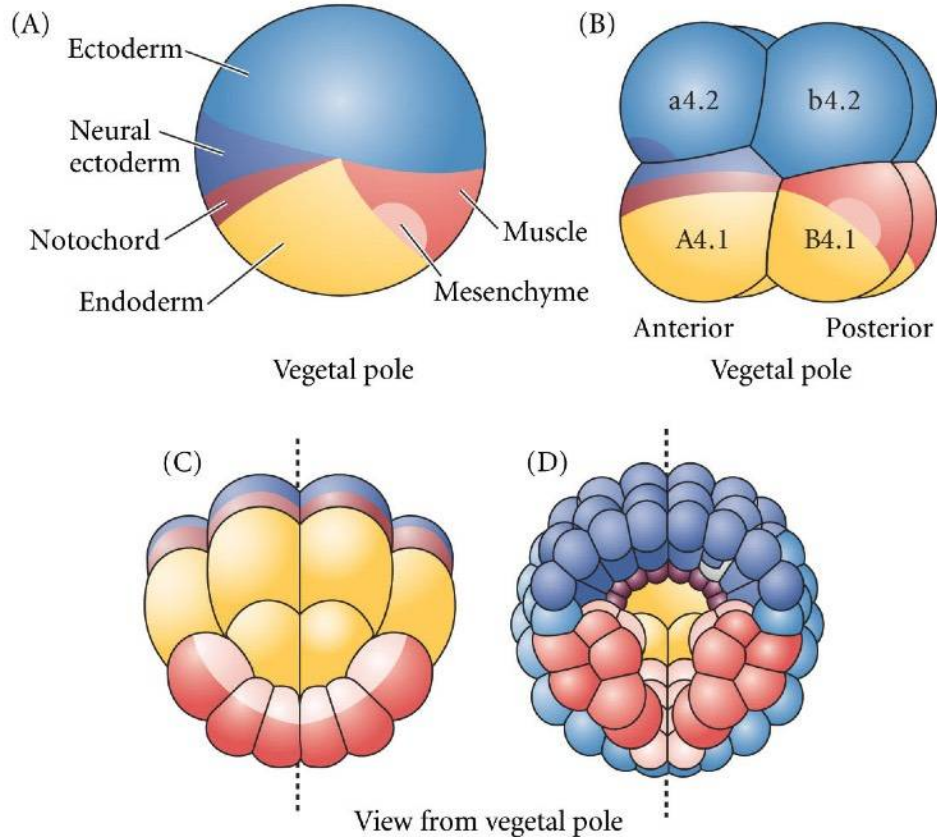
Isolécitos		Holoblástico
Mesolécitos		
Telolécitos		Meroblástico
Centrolécitos		

Clivagem

Bilateral - holoblástico - isolécito

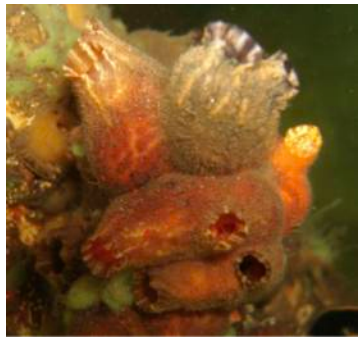


Ascidia Styela canopus

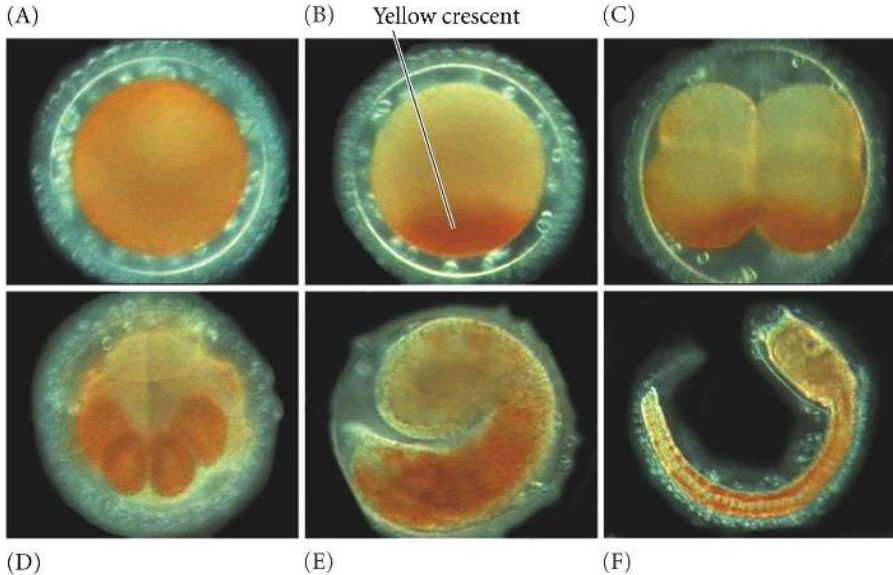
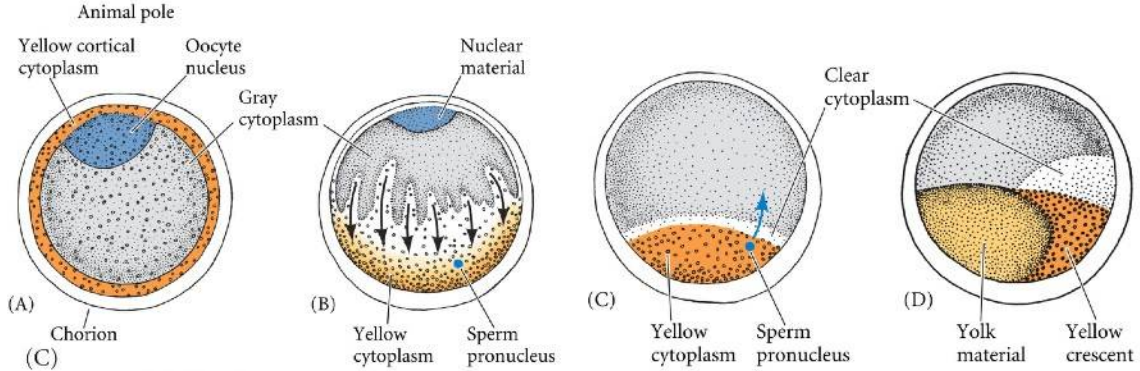


Clivagem

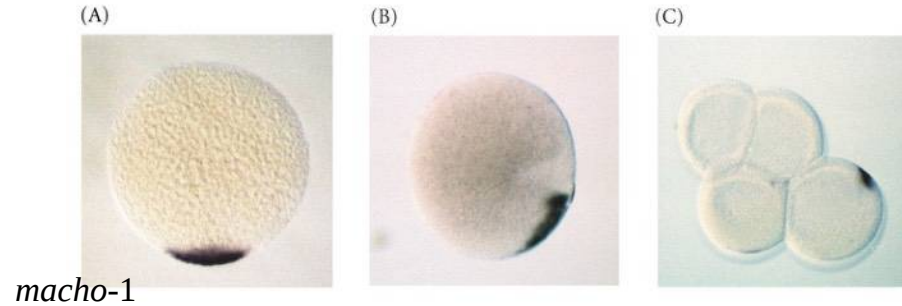
Bilateral - holoblástico - isolécito



Ascidia Styela canopus

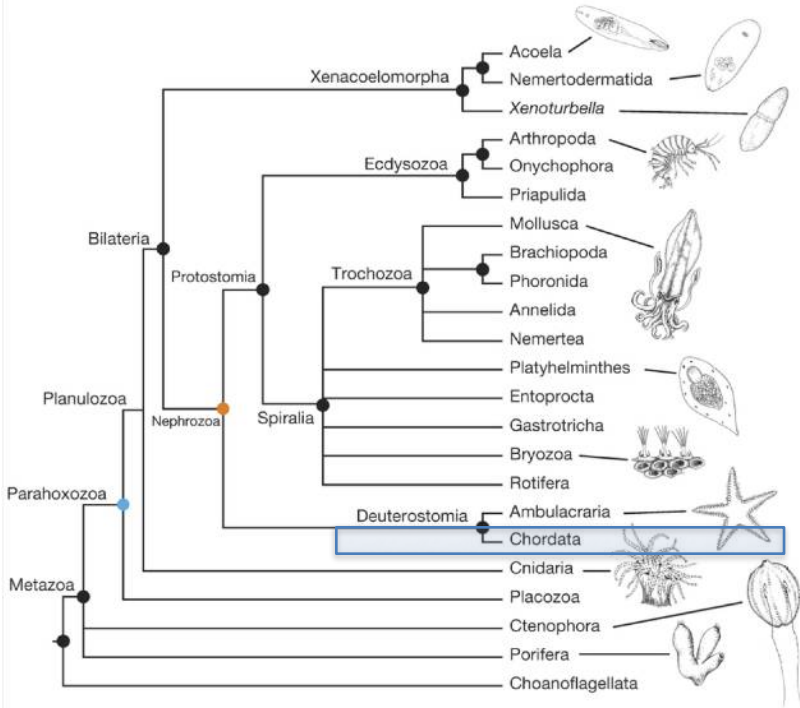


Desenvolvimento autônomo/determinado: transcritos maternos se localizam em distintos blastômeros (neste caso mRNA de *macho-1* se localiza nos precursores de células musculares):

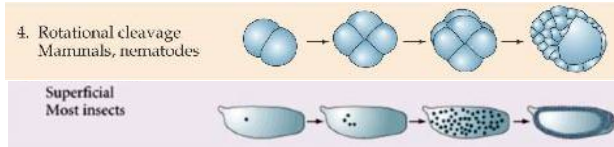


Clivagem

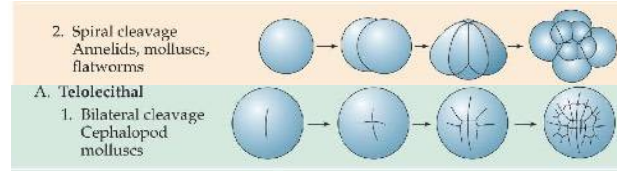
Discoidal - meroblástico - telolécito



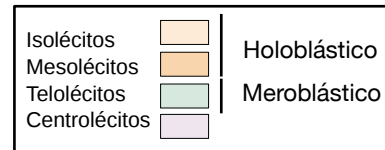
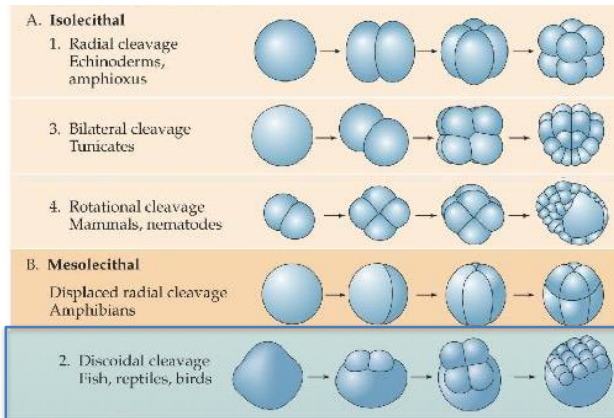
Ecdysozoa:



Spiralia:



Deuterostomia:

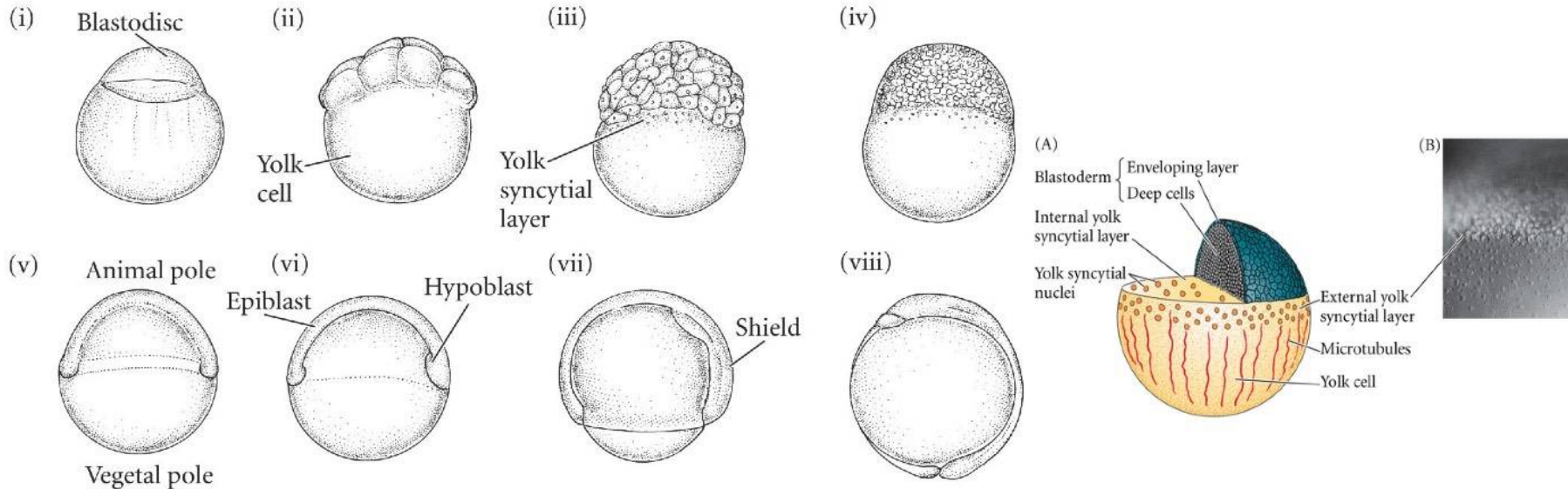


Clivagem

Discoidal - meroblástico - telolécito



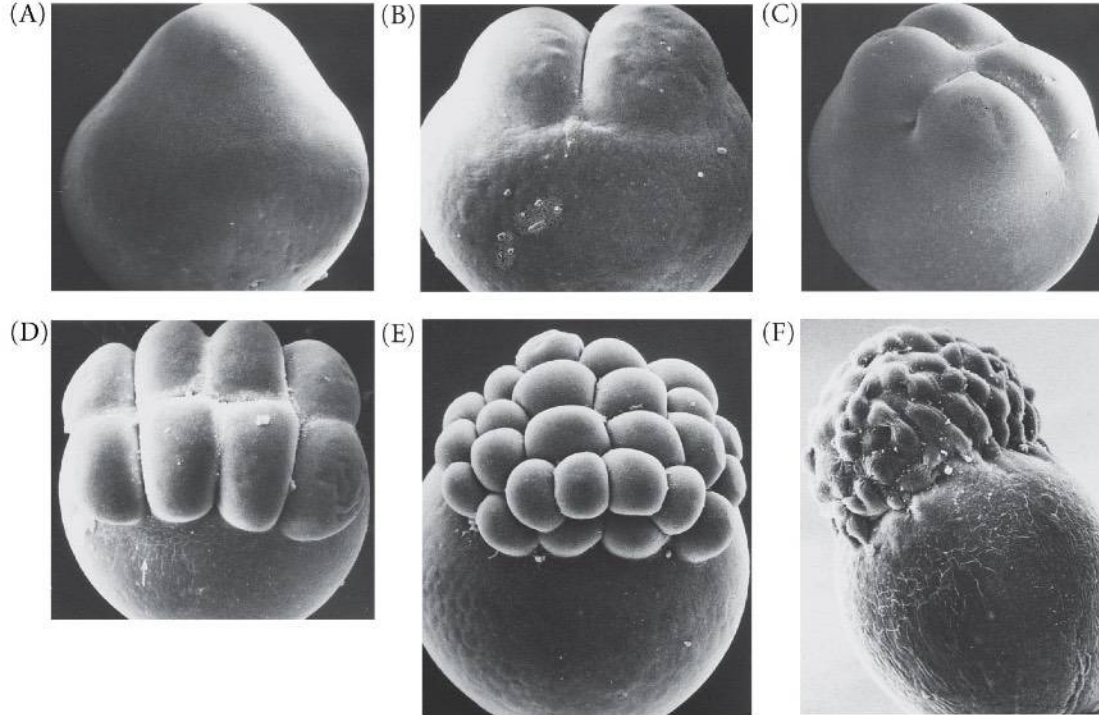
Um ovo maduro de peixe-zebra contém uma região sem gema chamada blastodisco que se divide rapidamente após a fertilização e forma a blastoderme, que é composta por uma camada envolvente de células e células profundas que entram em contato com a camada sincicial da gema.



Clivagem

Discoidal - meroblástico - telolécito

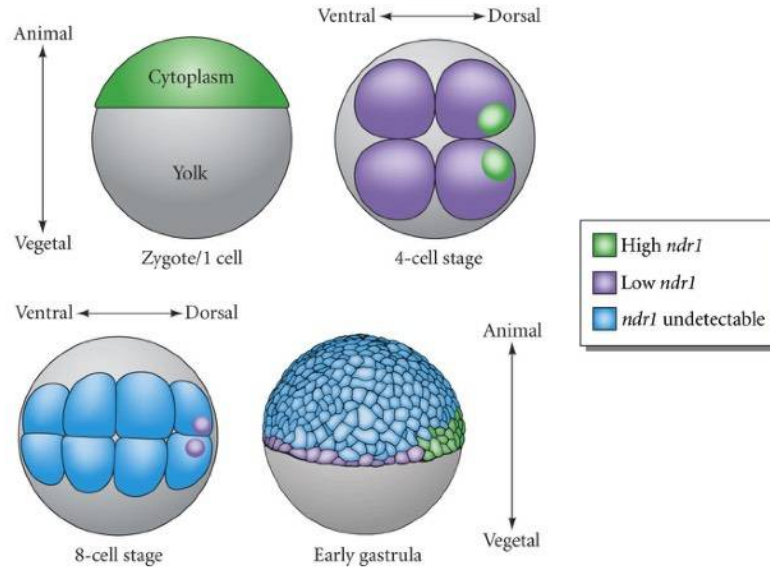
Ovo de peixe-zebra (paulistinha):



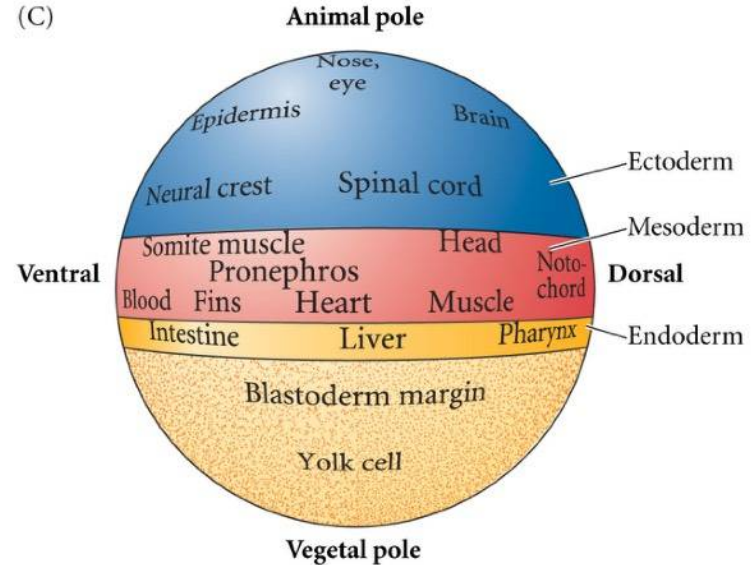
Clivagem

Discoidal - meroblástico - telolécito

Blastula de peixe-zebra:



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 11.11 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

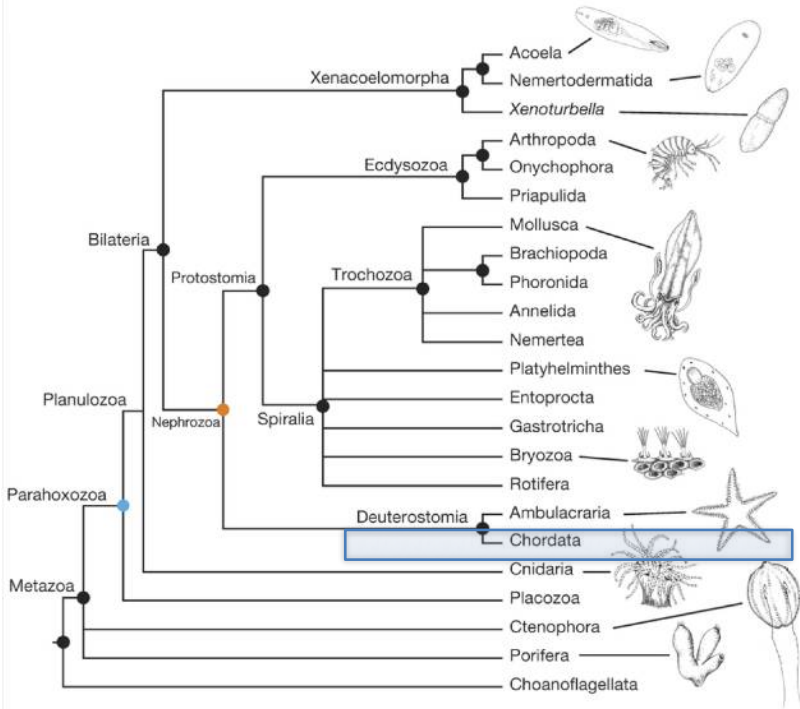


DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 11.5 (Part 2) © 2006 Sinauer Associates, Inc.

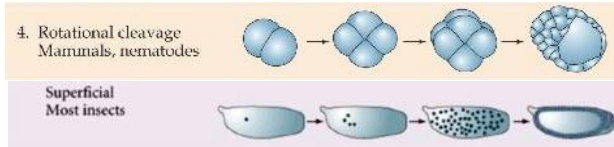
O mRNA materno para a proteína Nodal-related é inicialmente encontrado em todo o citoplasma do ovo, e logo se restringe a expressão numa linhagem celular localizada na região posterior dorsal do embrião.

Clivagem

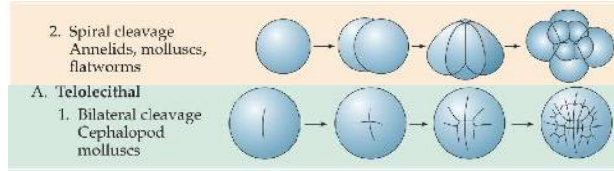
Rotacional (mamíferos) - holoblástico - isolécito



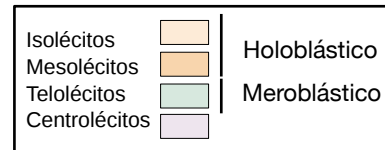
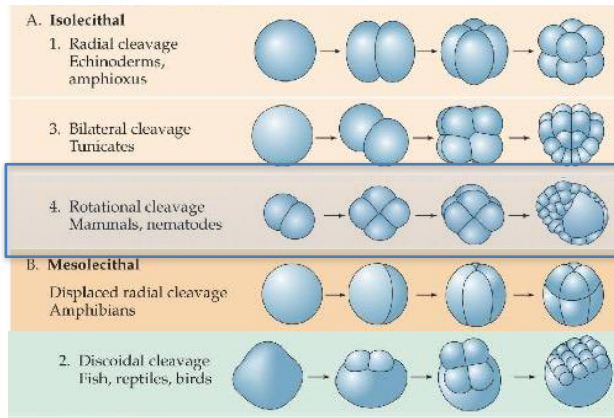
Ecdysozoa:



Spiralia:



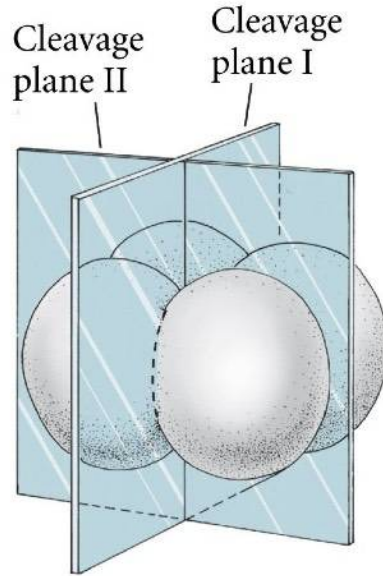
Deuterostomia:



Clivagem

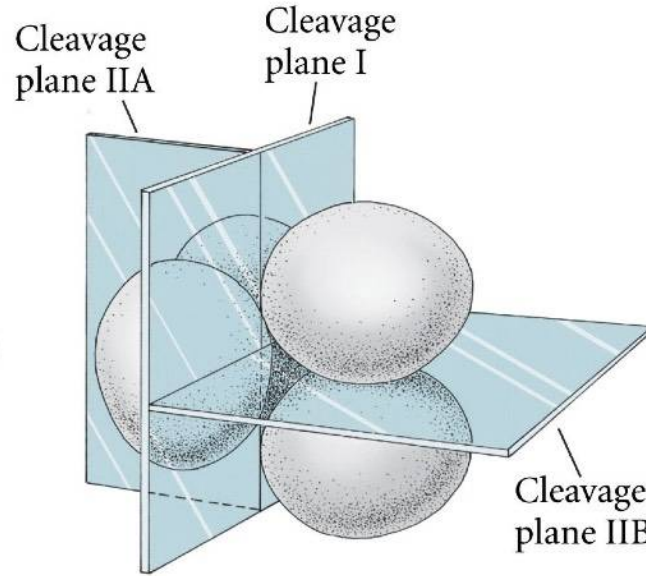
Rotacional (mamíferos) - holoblástico - isolécito

Clivagem holoblástico **radial**:



(A) ECHINODERM
AND AMPHIBIAN

Clivagem holoblástico **rotacional**:



(B) MAMMAL

Características dos
clivagens em mamíferos:

A primeira clivagem passa por uma divisão igual e meridional; no entanto, na segunda clivagem, um dos dois blastômeros se divide meridionalmente e o outro se divide equatorialmente.

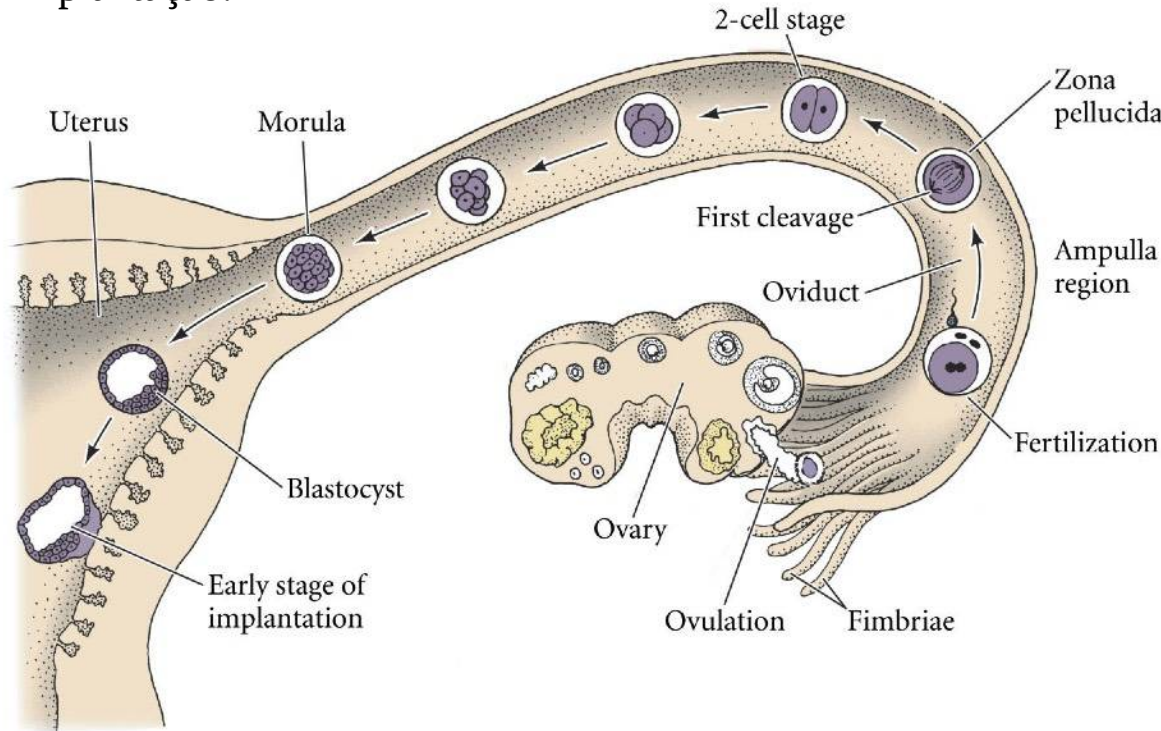
As clivagens são assíncronas.

A expressão zigótica começa muito cedo (2 células).

Clivagem

Rotacional (mamíferos) - holoblástico - isolécito

Desenvolvimento de um embrião humano desde a fertilização até a implantação:



Características dos clivagens em mamíferos:

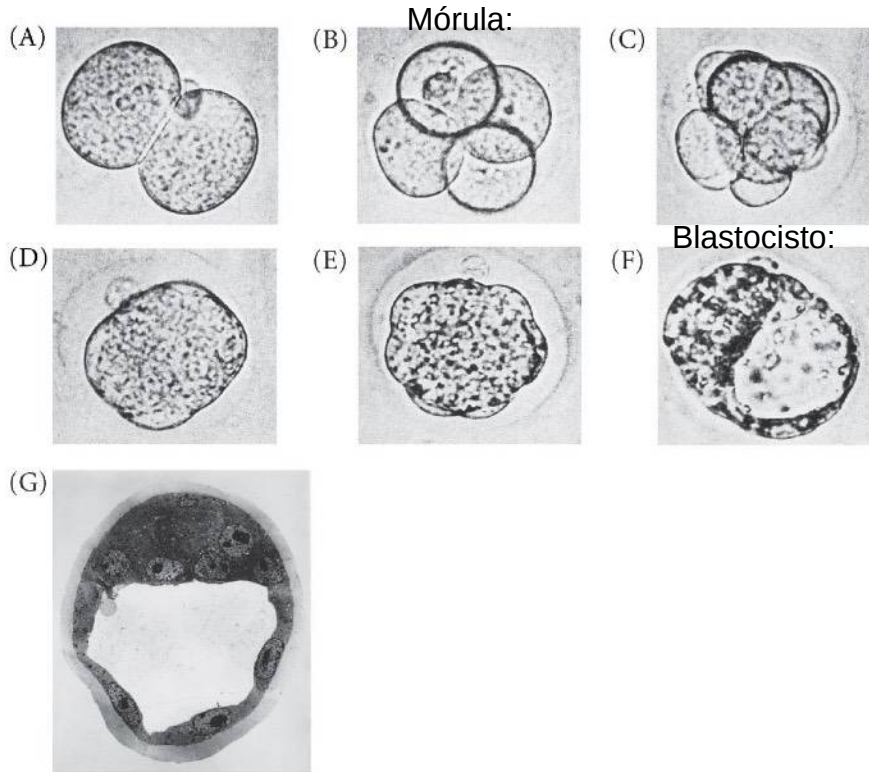
Ovos de mamíferos são muito pequenos (approx. 100 μm)

As clivagens iniciais dos mamíferos ocorrem no oviduto e são muito lentas (12-24h).

Clivagem

Rotacional (mamíferos) - holoblástico - isolécito

Clivagem do embrião de camundongo *in vitro*:



Os precursores celulares do embrião derivam das células internas da **mórula** de células 16-32.

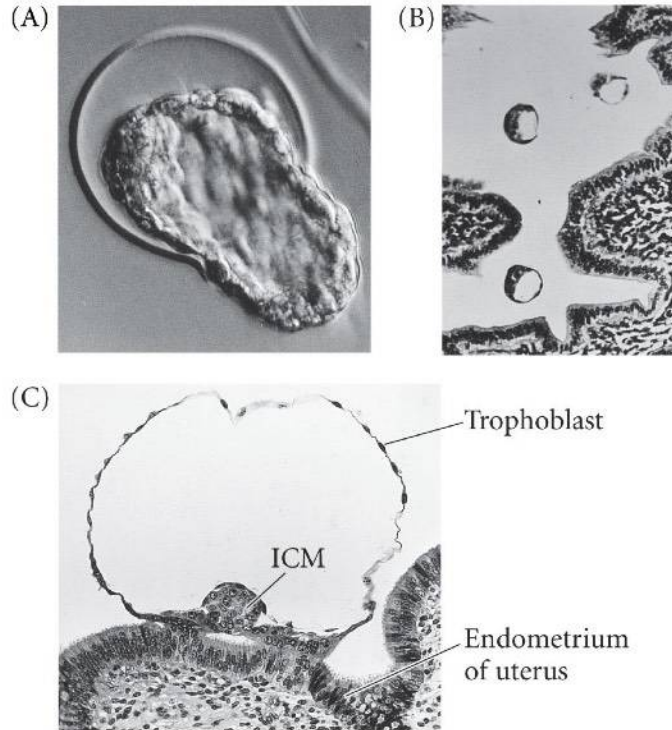
No estágio de 64 células, as células externas formam camadas extraembrionárias e 13 células internas estão comprometidas a formar precursores embrionários.

As células externas da mórula formam o trofoblasto (trophoblast), e as células trofoblásticas secretam um fluido em uma cavidade interna para formar o blastocele (isto é, cavitação). Após a cavitação, o **blastocisto** é formado.

Clivagem

Rotacional (mamíferos) - holoblástico - isolécito

Eclosão do blastocisto da zona pelúcida e
implantação do blastocisto de mamífero no útero:



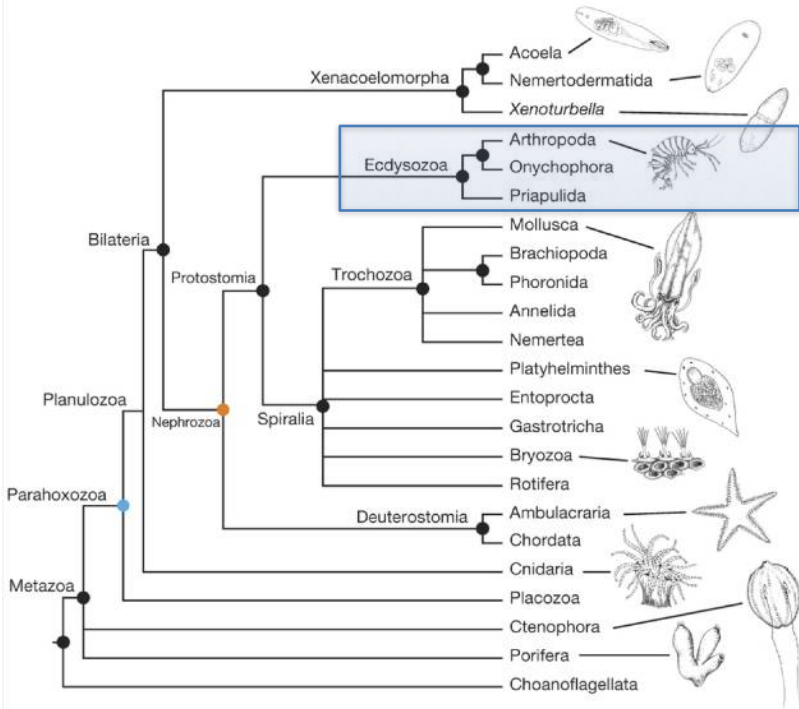
As células do blastocisto secretam uma protease semelhante à tripsina (estripsina) que perfura a zona pelúcida.

Após escapar da zona, o blastocisto entra em contato com a parede do útero.

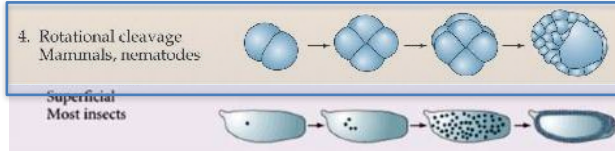
Implantação: as integrinas secretadas do blastocisto são capturadas pela matriz extracelular do epitélio uterino (endométrio), e as enzimas de digestão de proteínas secretadas pelo blastocisto permitem que ele se separe na parede uterina.

Clivagem

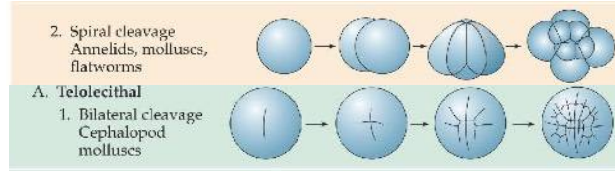
Rotacional (vermes cilíndricos *C. elegans*) - holoblástico - isolécito



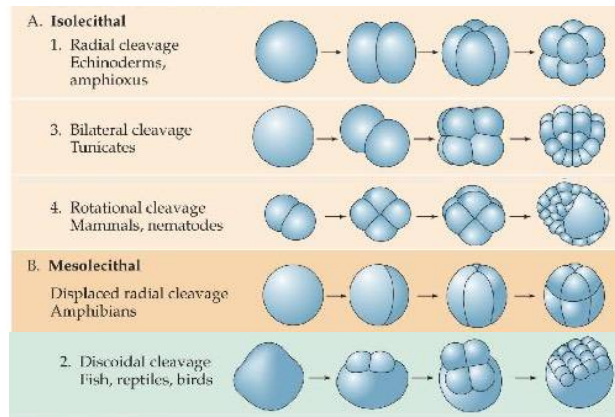
Ecdysozoa:



Spiralia:



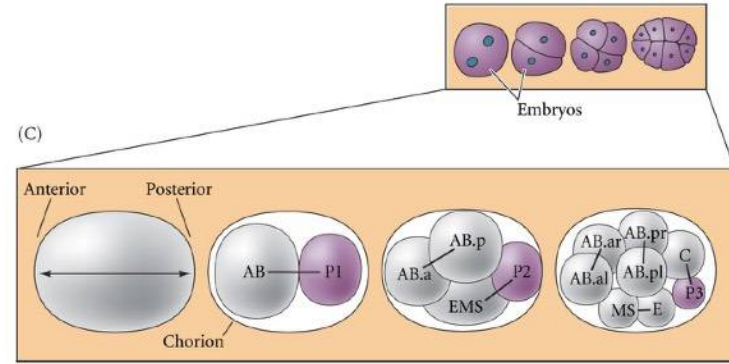
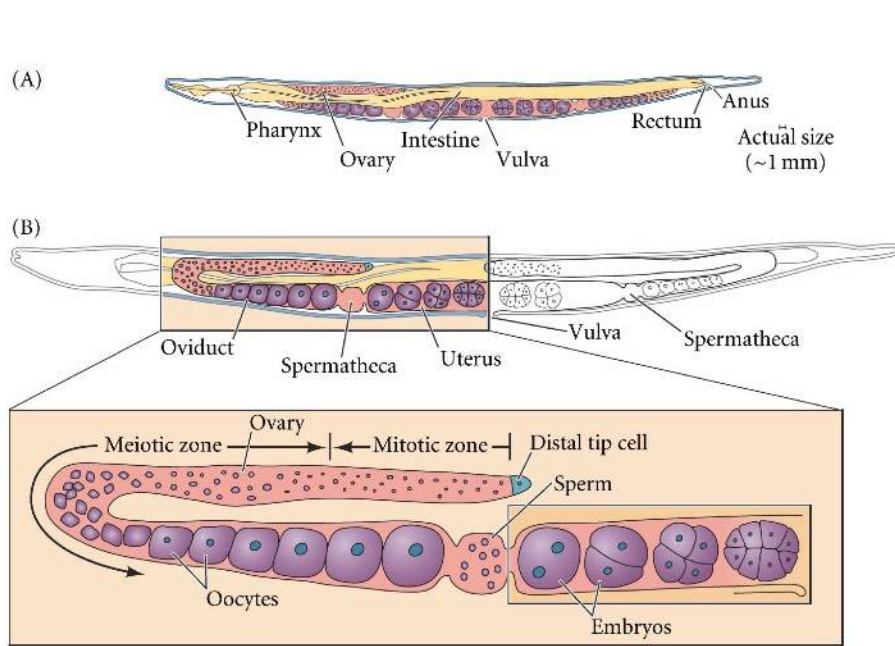
Deuterostomia:



Isolécitos		Holoblástico
Mesolécitos		
Telolécitos		Meroblástico
Centrolécitos		

Clivagem

Rotacional (vermes cilíndricos *C. elegans*) - holoblástico - isolécito



C. elegans tem uma linhagem celular invariável - cada célula dá o mesmo número e tipo de célula em cada embrião.

A primeira clivagem dá AB (célula fundadora anterior) e P (célula-tronco posterior).

O eixo ântero-posterior é determinado na primeira divisão.

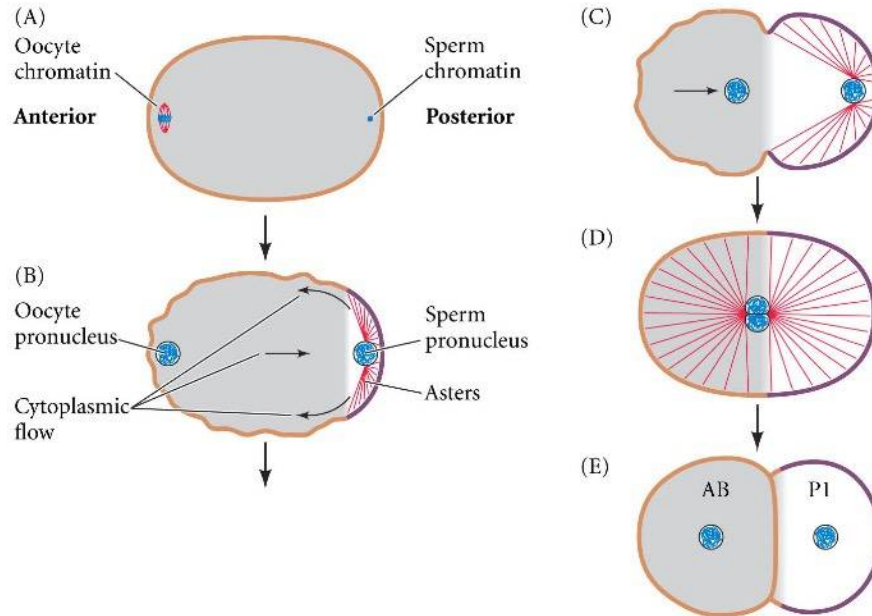
O eixo dorso-ventral é determinado na segunda divisão.

A fertilização (predominantemente autofertilização) e interna, e os primeiros estágios do desenvolvimento (até a gástrula) acontecem na região do útero do hermafrodita.

Clivagem

Rotacional (vermes cilíndricos *C. elegans*) - holoblástico - isolécito

Primeira divisão é assimétrica e marca o eixo Antero-posterior:



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 8.43 (Part 1) © 2006 Sinauer Associates, Inc.

O núcleo do espermatozóide marca a parte posterior do embrião. Os microtúbulos do espermatozóide iniciam as contrações do zigoto.

As contrações superficiais cessam na parte posterior e uma área cortical mais lisa se expande anteriormente até aproximadamente 50% do comprimento do zigoto.

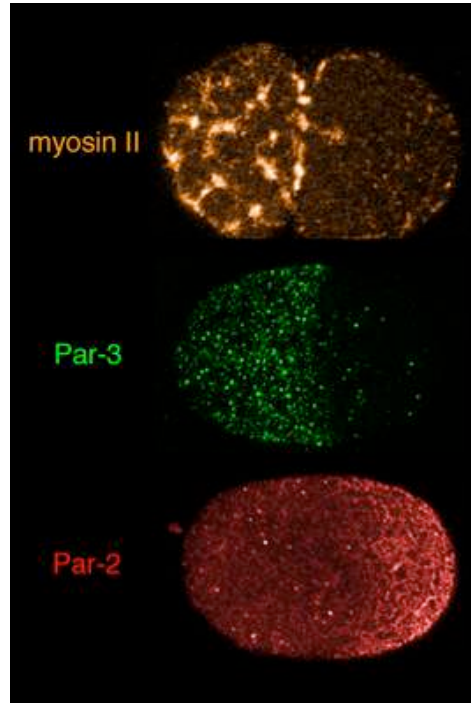
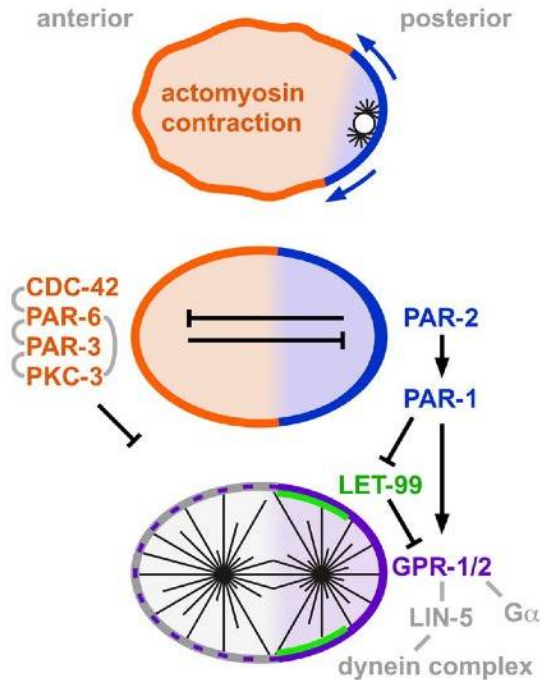
Após a migração e o encontro pronuclear, os centríolos e os pronúcleos se movem como uma unidade em direção ao centro da célula, enquanto giram 90° de modo que os centríolos fiquem alinhados com o eixo antero-posterior.

Durante este processo, Par-2 (branco) se expande em direção anterior, enquanto Par-6 (cinza) se retrai da parte posterior, ambos em aprox. 50% do comprimento do ovo. Observe que os centríolos se duplicaram neste estágio e que organizaram numerosos microtúbulos astrais.

Clivagem

Rotacional (vermes cilíndricos *C. elegans*) - holoblástico - isolécito

Primeira divisão é assimétrica e marca o eixo Antero-posterior:



O núcleo do esperma marca a parte posterior do embrião. Os microtúbulos do esperma iniciam a contração superficial.

A região posterior é definida por Par-2 e Par-1, e a anterior por Par-3 e Par-6. Par-1 regula fatores críticos do desenvolvimento nessa região.

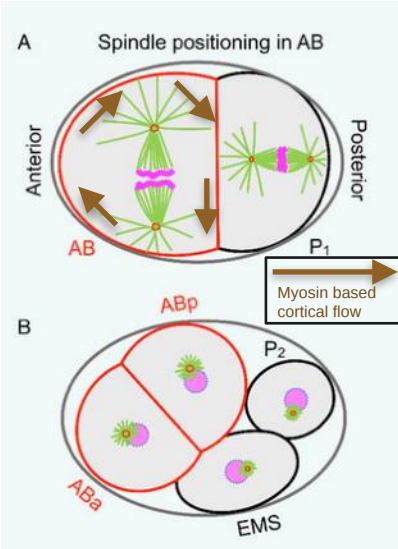
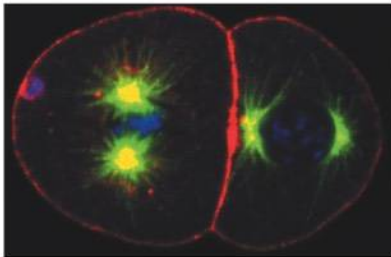
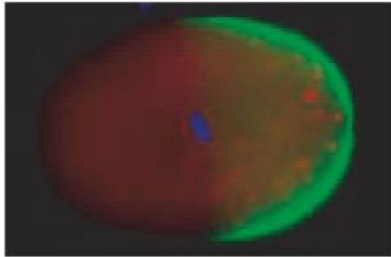
Par-2 e Par-3 modulam as forças corticais de tração dos microtúbulos em ambos os lados do embrião durante o movimento do fuso mitótico, e atuam para regular a localização assimétrica – por exemplo, mediante GPR-1/2– de proteínas que atuam na associação de proteínas motoras do cortex e microtúbulos, como LIN-5.

Clivagem

Rotacional (vermes cilíndricos *C. elegans*) - holoblástico - isolécito

Orientação típica dos fusos mitóticos na clivagem rotacional

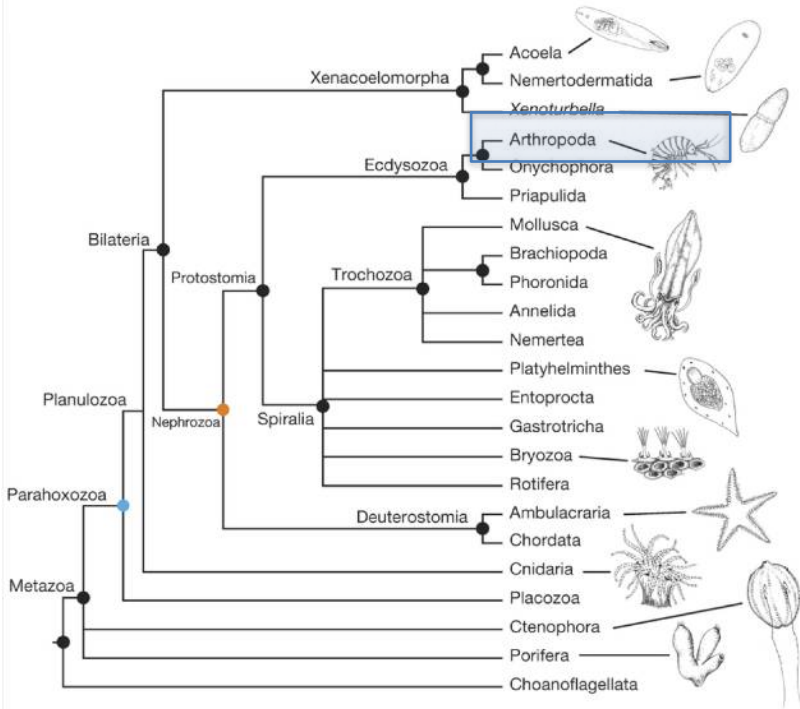
Os fusos mitóticos no embrião de 2 células alinham-se paralelamente e perpendicularmente ao plano antero-posterior do embrião:



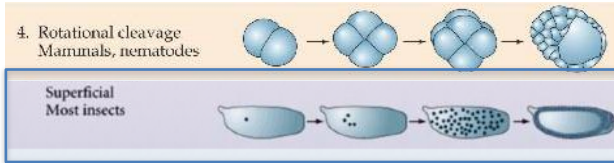
O alinhamento do fuso mitótico e do plano de clivagem na célula AB é independente de GPR-1/2 / dineína e microtúbulos, mas depende do fluxo cortical conduzido por miosina desigual que gera força para especificar a posição do plano de clivagem.

Clivagem

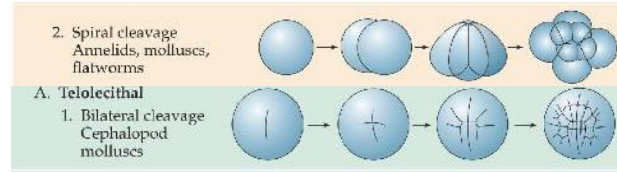
Superficial - meroblástico - centrolécito (insetos)



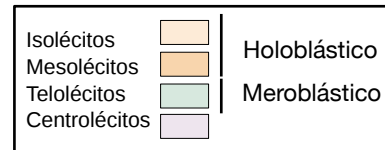
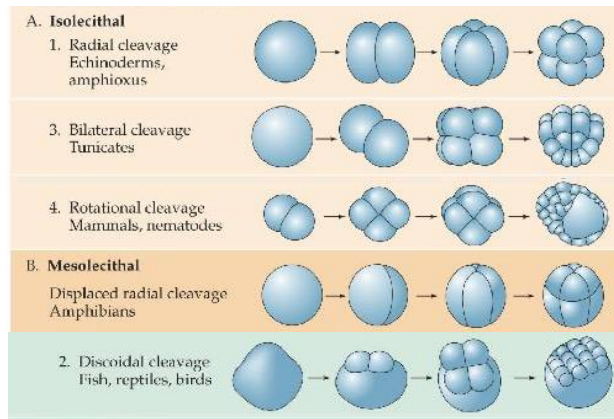
Ecdysozoa:



Spiralia:



Deuterostomia:



Clivagem

Superficial - meroblástico - centrolécito (insetos)

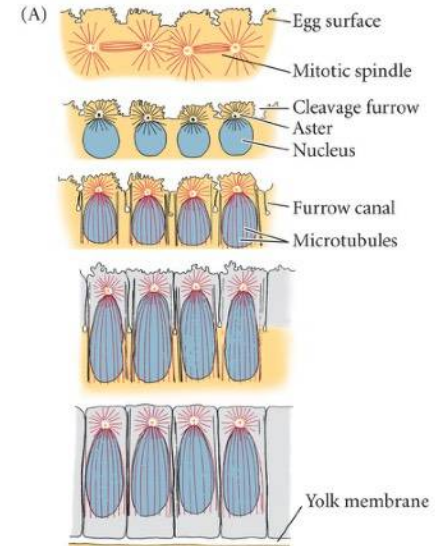
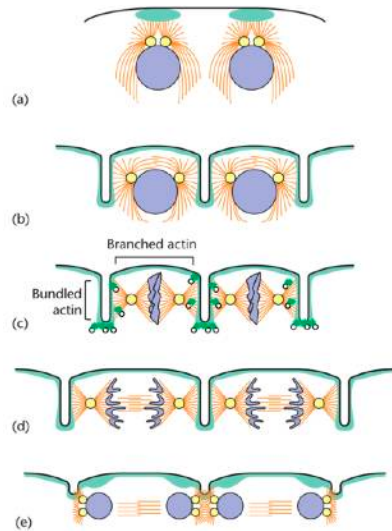
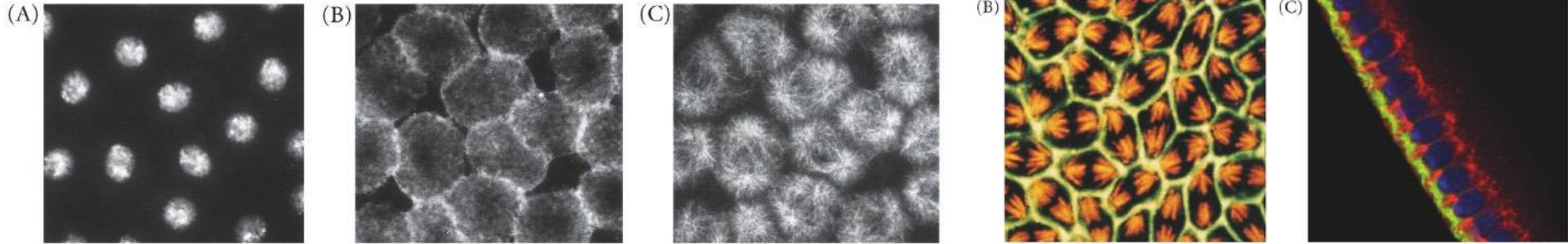
Micrografias confocais a laser da cromatina corada, mostrando clivagem superficial num embrião de *Drosophila*



Clivagem

Superficial - meroblástico - centrolécito (insetos)

Micrografias confocais: actina cortical, tubulina e cromatina coradas, mostrando clivagem superficial num embrião de *Drosophila*



Conclusões - Clivagem

- A clivagem inclui a cariocinese (divisão nuclear) e citocinese (divisão celular). Na cariocinese atuam os microtúbulos no citoplasma central, e na citocinese atuam os microfilamentos (actomiosina) do cortex celular.
- A especificação do plano de divisão seria independente da maquinaria de microtúbulos e mediada por mecanismos de indução (inibição).
- Os padrões de clivagem são muito variáveis nos animais e são influenciados pelo tamanho do ovo e quantidade de vitelo (gema): isolécitos, mesolécitos, telolécitos, e centrolécitos.
- A clivagem pode ser holoblástica (divisão completa) ou meroblástica (divisão incompleta).
- A simetria da clivagem pode ser radial, bilateral, discoidal, rotacional.
- Os insetos apresentam uma clivagem superficial, seguida pela formação celular (blastoderme).