

DETERMINAÇÃO SEXUAL E DIFERENCIAÇÃO SEXUAL NO EMBRIÃO E NO FETO*¹

Determinação sexual e seu controle genético

O sexo do indivíduo é determinado no momento da fecundação. Nos mamíferos os machos são heterogaméticos (n+XY) e as fêmeas são homogaméticas (n+XX). Assim, a determinação do sexo, em mamíferos, se estabelece pelo arranjo formado entre o cromossomo X originário da fêmea e o cromossomo X ou Y originário do gameta masculino.

Classicamente, a cronologia da diferenciação sexual cursa com o estabelecimento do sexo cromossômico, seguido do desenvolvimento gonadal que desencadeará o desenvolvimento do sexo fenotípico.

O controle genético e hormonal estabelecido, então, pela expressão de gens localizados nos cromossomos sexuais e em outros *loci* dos cromossomos somáticos.

Apesar de não estar, ainda, completamente estabelecido o mecanismo genético de controle sexual, sabe-se que alguns genes são fundamentais para o processo de diferenciação gonadal e fenotípica. O gene SRY (Sex-Determining Region of Y Chromosome) também denominado TDF (Testis Determining Factor) é implicado na formação do testículo.

As células precursoras das células de Sertoli são o primeiro tipo celular a expressar o SRY, elas são quem formará os cordões seminíferos e iniciarão a diferenciação gonadal do macho.

Além do SRY outros genes são implicados no processo de diferenciação gonadal. O gene WT1 apresenta 50 kb e compreende 10 exons. Os tipos celulares que o expressam são as células de Sertoli e a célula da Granulosa. Ele está implicado na morfogênese do trato genital após a determinação sexual. Como WT-1 e SRY são expressos nas células de Sertoli, isto sugere que WT-1 possui regulação por SRY ou existe interação entre esses dois genes.

O SF-1 (Steroidogenic Factor 1) ou FtzF1 (Fushi Tarazu Factor) é um receptor nuclear que regula a transcrição de um grande número de genes implicados na estereoidogênese e desenvolvimento das gônadas. SF-1 regula *in vitro* e *in vivo* a transcrição de gene do hormônio anti-Mülleriano (AMH) e interage com SOX-9, WT1 e DAX-1.

O SOX-9 é um gene da família SOX (SRY-Related HGM-box). A proteína de SOX-9 é necessária para a transcrição de AMH e portanto participa da manutenção dos níveis elevados de AMH no testículo fetal de todos os mamíferos. A diminuição das taxas de proteína SOX-9 redundam em feminilização das gônadas de indivíduos 46,XY podendo produzir indivíduos hermafroditas.

¹ Seminário apresentado pelo aluno RAFAEL RODRIGUES na disciplina Endocrinologia da Reprodução (VET00169) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no 2º semestre de 2004. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

O gene DAX-1 situa-se no *locus* DSS (Dosage Sensitive Sex Reversal) que está localizado no cromossomo X. Este gene inibe a diferenciação testicular e como consequência a gônada acaba se tornando ovário. A relação entre esses e outros genes que atuam na regulação e determinação sexual é complexa e não bem elucidada, mas sabe-se que o resultado da expressão e/ou inibição desses genes será a diferenciação gonadal e fenotípica do embrião e feto.

Diferenciação sexual

O sexo do indivíduo é determinado no momento da fertilização. Porém, o processo de diferenciação sexual ocorrerá apenas algum tempo depois. Esse período é variável entre as espécies animais, entretanto, bastante precisa dentro da mesma espécie. Em ratos, por exemplo, o processo de diferenciação gonadal começa aos 13,5 dias após a fertilização. Em humanos e bovinos este fenômeno tem início na sétima semana de vida e nos eqüinos por volta do 40º dia *post coitum* (Tabela 1).

Formação gonadal

Na quinta semana de desenvolvimento embrionário, em humanos, surgem entre o mesométrio e o mesentério dorsal, dois espessamentos longitudinais, as cristas gonadais. Este espessamento é formado pela proliferação e condensação do epitélio celomático e do mesênquima. A partir dessa proliferação, surgem cordões digitiformes, os cordões sexuais primários, que servirão de sustentáculo para as células que invadirão a gônada primitiva. De acordo com o sexo cromossômico do indivíduo – XX ou XY – as células germinativas primordiais irão se dispor mais na zona cortical ou medular, respectivamente.

Este fenômeno parece estar ligado, pelo menos em parte, a substâncias quimiotáticas liberadas por regiões específicas da gônada em desenvolvimento. A síntese e liberação dessas substância devem estar ligadas a expressão dos genes associados a cromossomos sexuais.

As células germinativas primordiais, ou gonócitos cituam-se na parede do saco vitelino, próximo ao alantóide e através de movimentos amebóides ativos migram, seguindo o mesentério dorsal, para a gônada em formação.

Precisamente o estímulo que inicia a fase de migração celular e o que as guia por esse caminho, ainda não é conhecida. Fatores quimiotáticos liberados pelas células da gônada em formação agindo como guias dessa migração parecem estar envolvidos. Células germinativas primordiais aparentemente mostram locomoção *in vitro* quando fibronectina está presente no substrato.

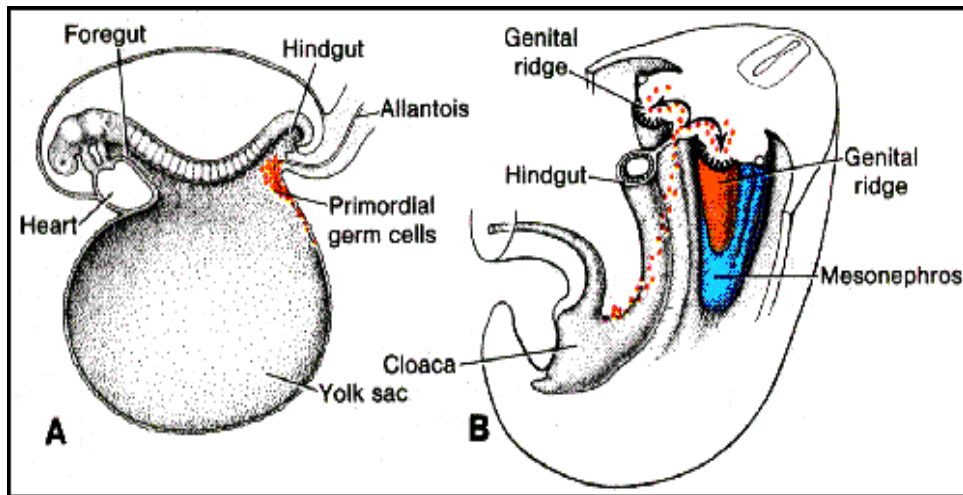


Figura 1. Células germinativas primordiais no saco vitelino e sua migração para o suco genital

Diferenciação gonadal no macho

O evento inicial do processo de diferenciação sexual no macho é a formação do testículo. O desenvolvimento dos cordões seminíferos é o primeiro evento na formação dos testículos.

Os embriões do sexo masculino começam a apresentar uma série de modificações estruturais nos cordões sexuais primários que já estão bem definidos e separados entre si pelo mesênquima. Os cordões que estão na região medular ramificam-se e anastomosam-se, formando a *rete testis*.

As células germinativas que nesta fase já são chamadas de espermatogônias, precocemente são circundadas pelas células somáticas que formam o cordão seminífero. Estas células são as precursoras das células de Sertoli.

Abaixo do epitélio superficial desenvolve-se uma espessa camada e tecido fibroso, a túnica albugínea, formando uma cápsula ao redor do testículo. A cápsula albugínea emite trabéculas dividindo o órgão em lobos. Os cordões seminíferos produzem os túbulos seminíferos, os túbulos retos e a *rete testis*.

Um terceiro tipo celular que se diferencia na formação do testículo é o das células intersticiais ou de Leydig. Este tipo celular se origina das células mesenquimais localizadas entre os cordões seminíferos. Assim, a gônada masculina ou testículo se diferencia.

As células de Sertoli começam a produzir, então, o Hormônio anti-Mülleriano (AMH) que causa a regressão dos ductos de Muller. As células de Leydig produzem testosterona, hormônio masculino que induz a diferenciação masculina da genitália interna e externa.

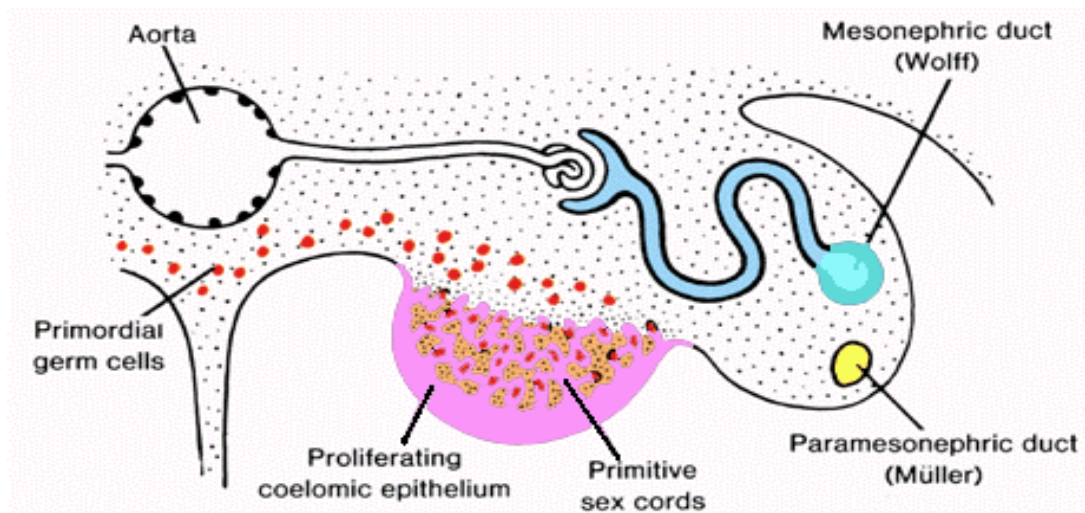


Figura 2. Formação dos cordões sexuais primitivos e proliferação de células epiteliais celomáticas

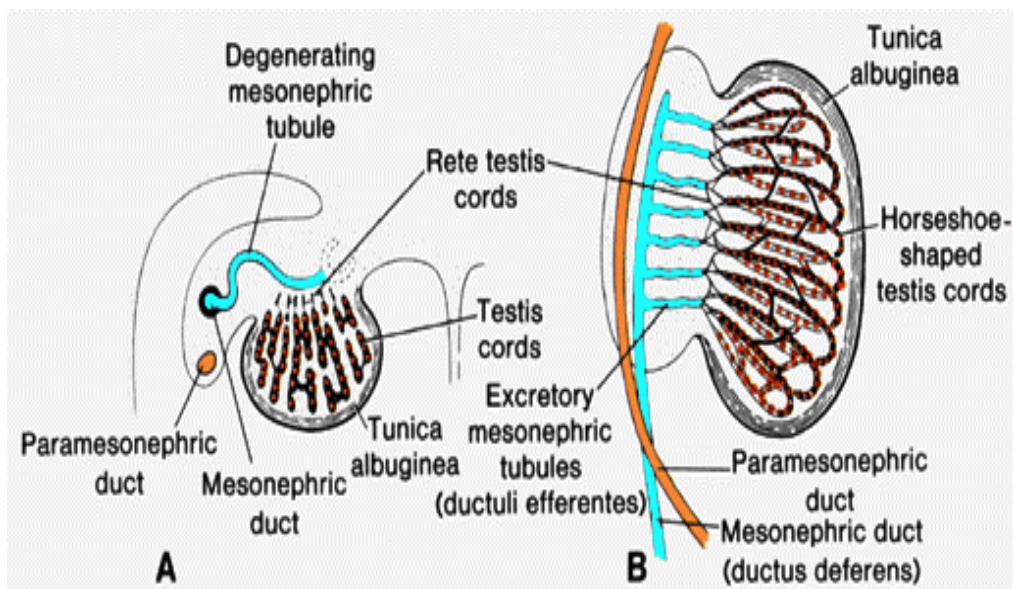


Figura 3. Diferenciação testicular

Diferenciação gonadal na fêmea

O desenvolvimento do ovário ocorre mais tardiamente do que o do testículo, permanecendo, na fêmea, a gônada indiferenciada mais tempo. Assim como nos testículos, os cordões sexuais primitivos são formados a partir do epitélio celomático. Estes cordões chegam a formar uma *rete ovarii* rudimentar, que se desintegra em pequenos ninhos, cada um com um gonócito, neste caso, oogônia, circundado por células do epitélio celomático semelhantes as células de Sertoli. Essas estruturas são os folículos primordiais.

Diferentemente do que ocorre no testículo, onde os gonócitos estão fixos aos cordões seminíferos, as oogônias são capazes de se mover entre as células somáticas. Nesta fase também estas oogônias estão em processo ativo de multiplicação.

O aspecto característico do desenvolvimento ovariano nesta fase é o fato de que as ovogônias entram em prófase meiótica e cessam sua divisão. Só completarão esse processo na vida adulta, na ovulação.

Tabela 1. Cronologia da diferenciação das gonodas

Principais eventos*	Estágio de desenvolvimento		
	Rato	Bovino	Humano
Migração das células germinativas para a crista genital (M e F)	11- 12 dias	30 – 35 dias	4 – 5 semanas
Diferenciação dos cordões seminíferos (M)	14 dias	40 dias	7 semanas
Diferenciação das células de Leydig (M)	15 dias	45 dias	8 semanas
Início da prófase meiótica (F)	17 dias	70 dias	9 semanas
Início da foliculogenese (F)	1 – 2 dias pn	90 dias	14 semanas

* M: macho; F: fêmea

Condutos genitais

Fase indiferenciada

Na fase indiferenciada os embriões de ambos os sexos apresentam simultaneamente dois pares de condutos: Os ductos mesonéfricos ou de Wolff e os ductos paramesonéfricos ou de Müller. Os ductos mesonéfricos através do estímulo adequado, testosterona e hormônio anti-mülleriano, desenvolverão a genitália masculina. Os ductos paramesonéfricos, não havendo o estímulo anteriormente citado, darão origem a genitália feminina.

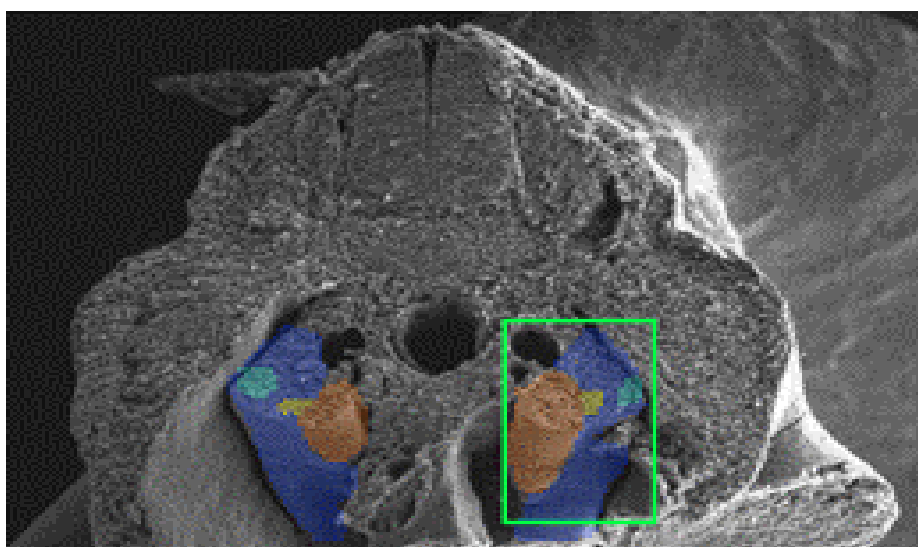


Figura 4. Fase indiferenciada do trato genital (azul escuro: mesonefron, amarelo: duto de Müller, marrom: gônada, azul marinho: duto de Wolff).

Diferenciação do trato genital

No caso de embriões masculinos, sua diferenciação começa logo após o início a diferenciação testicular. Ao nível de mesonefron, ela compreende dois processos distintos: em um primeiro momento, a degeneração do ducto de Muller; e a um segundo tempo a estabilização dos ductos de Wolff que se transformarão nos canais deferentes e suas estruturas anexas.

Quando o mesonefron entra em degeneração, alguns de seus tubos de excreção também desaparecem, com exceção de 5 a 12 destes tubos dispostos cranialmente, na gônada. Estes tubos se encurtam, perdem seus glomérulos e se transformam nos ductos eferentes que ligarão, por intermédio da *rete testis*, os túbulos seminíferos, que estão na região central da gônada, ao canal deferente. A partir da cauda do epidídimo até a desembocadura das vesículas seminais, o ducto mesonéfrico adquire uma espessa camada muscular lisa e forma o canal deferente.

Na região posterior do mesonefron, na parte lateral externa do epitélio do ducto de Wolff, são emitidos brotos que irão formar as vesículas seminais. De forma semelhante o epitélio de seio urogenital irá formar a uretra prostática.

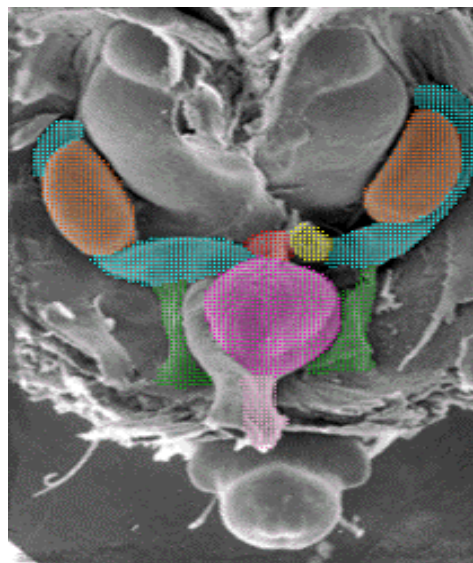


Figura 5. Trato genital masculino diferenciado: ducto de Wolff desenvolvido (marrom: testículo, azul: ducto de Wolff, lilás: bexiga, verde: gubernaculum, amarelo: ducto de Müller).

Em humanos, no final da oitava semana, a maior parte dos ductos paramesonéfricos terão degenerado no embrião masculino. Um resquício de sua porção anterior forma o apêndice do testículo, enquanto sua porção posterior formaria o utrículo prostático. A origem desta estrutura é, no entanto discutida, sendo que alguns autores citam que ela deriva de uma evaginação do seio urogenital.

Em embriões femininos, os ductos de Wolff entrarão em regressão e os ductos de Müller irão se desenvolver. Eles se desenvolverão Antero-posteriormente em tuba uterina, cornos e corpo do útero.

Assim, a parte vertical anterior cuja abertura desemboca no celoma constituirá o orifício abdominal e a porção cranial da tuba uterina e uma parte horizontal que cruza o ducto mesonéfrico formará o restante da tuba uterina. A parte vertical posterior que se funde com o primórdio útero-vagina.

Os ligamentos largos esquerdo e direito formam-se por ocasião da fusão dos ductos paramesonéfricos. Estes ductos são suspensos de mesonefron por um curto mesentério de cada lado. Tais mesentérios acabam por constituir septos, os septos urogenitais. Estes septos são os precursores dos ligamentos largos do útero. Entre as camadas dos ligamentos largos, ao longo de todo o útero, o mesênquima prolifera e origina tecido conjuntivo frouxo e tecido muscular liso, constituindo o paramétrio. O local de fusão dos dois ductos paramesonéfricos determina o fundo do útero.

Dependendo da espécie, a porção terminal do ducto de Muller participa em maior ou menor proporção da formação da região anterior da vagina. O contato do primórdio uterovaginal com o seio urogenital induz a formação de uma saliência maciça, que se estende do seio urogenital para a extremidade caudal do primórdio uterovaginal. Posteriormente a porção sólida da extremidade caudal dos ductos de Müller fundidos e a placa vaginal (originado do seio urogenital) canalizam-se, formando a vagina. Cerca de 4/5 da vagina, na sua porção mais cranial, são originários dos ductos de Muller, enquanto apenas o 1/5 caudal é derivado do seio urogenital.

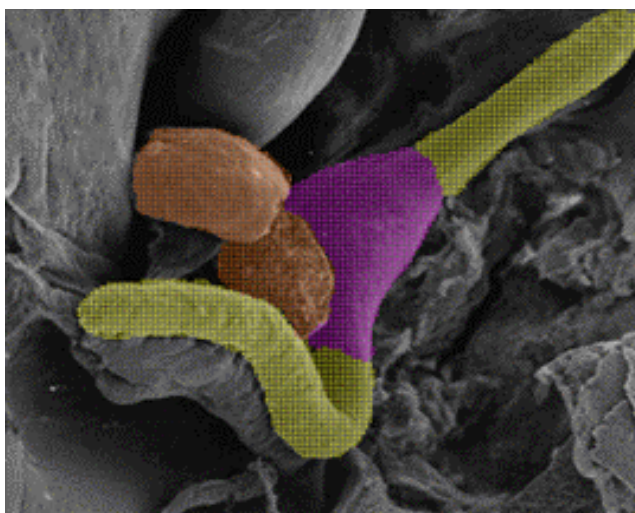


Figura 6. Trato genital feminino diferenciado (marrom: ovário, amarelo: tuba uterina, lilás: corpo do útero).

Genitália externa

Assim como as gônadas e a genitália interna, a genitália externa também passa por um período indiferenciado. Seguindo uma coerência cronológica a diferenciação da genitália externa ocorre próximo ao final do primeiro terço da gestação. Então é possível a realização da sexagem em bovinos próximo ao 56º dia *post coitum* e em humanos na 11ª semana de vida fetal.

Na fase indiferenciada, notam-se em ambos os sexos as seguintes estruturas: circundando o orifício cloacal: (a) tubérculo genital; (b) pregas urogenitais; (c) eminências lábioescrotais (Figura 7). Estas estruturas são formadas precocemente no embrião e se desenvolvem a partir do mesênquima que rodeia a membrana cloacal.

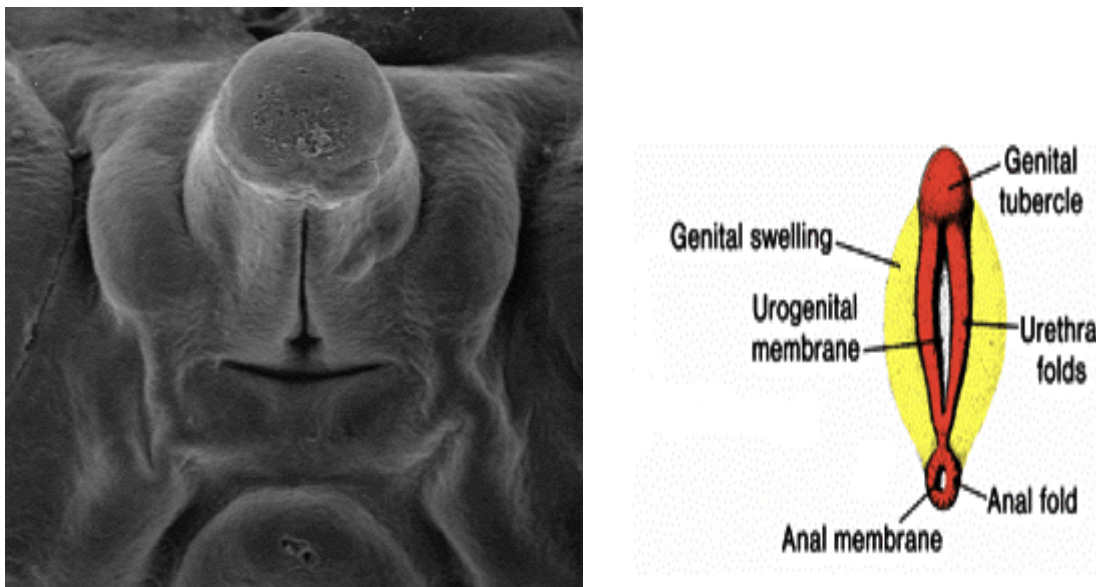


Figura 7. Genitalia externa indiferenciada.

Em humanos, na sexta semana, a membrana cloacal está dividida em membrana urogenital ventral, anal e dorsal, em decorrência da formação do septo urorretal. Após uma semana, estas membranas se rompem, formando respectivamente o orifício urogenital e o ânus. Nos machos, o desenvolvimento da genitália externa é caracterizado por um rápido crescimento do tubérculo genital, o *phallus*, o qual leva consigo as pregas genitais. Estas pregas formam as paredes laterais do sulco uretral situado na superfície ventral do pênis em formação. A porção cefálica do *phallus* origina a glândula peniana, enquanto a parte resultante da união das pregas genitais origina o corpo do pênis.

As eminências lábioescrotais fundem-se na linha média e migram caudalmente, formando as bolsas escrotais.

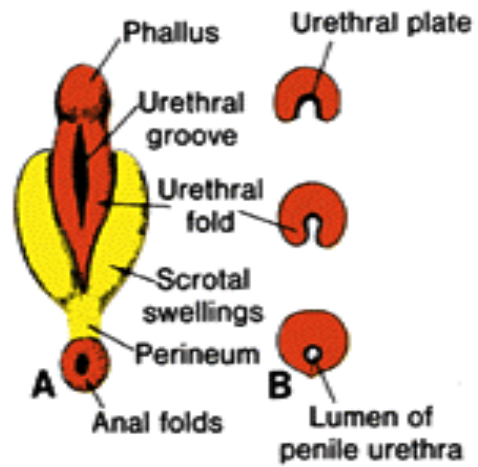
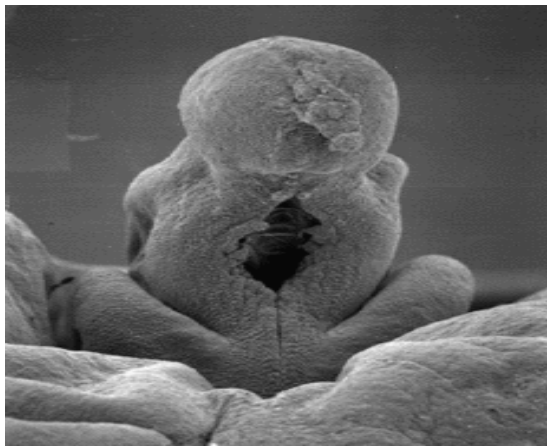


Figura 8. Genitália externa masculina diferenciada .

A genitália externa feminina sofre modificações menos significativas. O tubérculo genital cresce pouco e forma o clitóris. As pregas urogenitais não se fusionam como ocorre no macho, e dão origem aos pequenos lábios e as eminências lábioescrotais, que também não apresentam fusão, originam os grandes lábios.

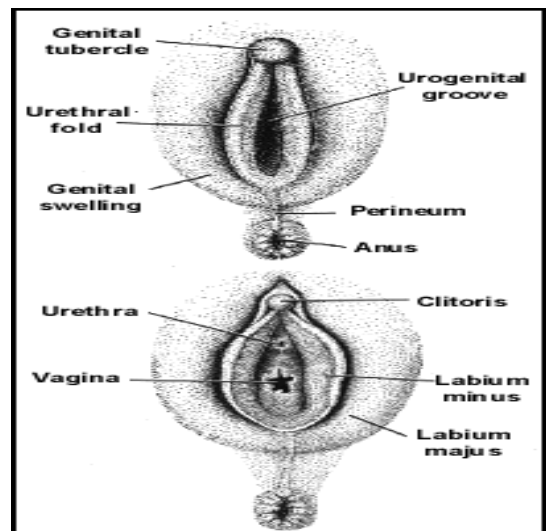
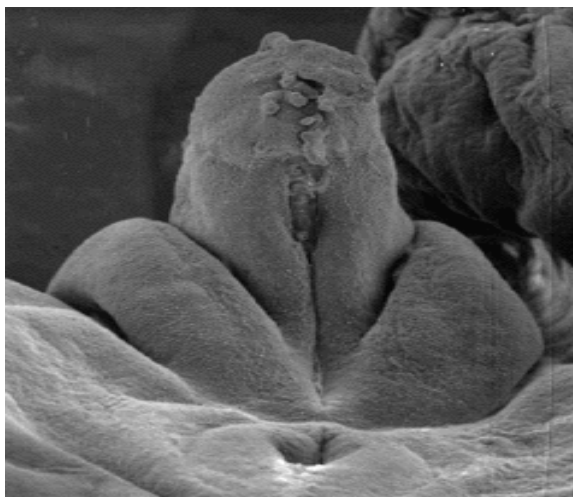


Figura 9. Genitália externa feminina diferenciada .

Tabela 2. Cronologia da diferenciação do trato genital

Principais eventos*	Idade fetal		
	Rato	Bovino	Humano
Regressão do ducto de Muller (M)	14,5 dias	50 dias	8 semanas
Masculinização dos órgãos genitais externos aumento da distância anu-genital (M)	18,5 dias	47 dias	9-10 semanas
Vesículas seminais	17,5 dias	56 dias	
Regressão do ducto de wolff (F)	17,5 dias	70 dias	10 semanas
Fim da migração testicular (M) intra-abdominal e intra-escrotal.	20 dias	105-140 dias	12-28 semanas

* M: macho; F: fêmea

Bibliografia consultada

- CATTELAN, J.W.; BARNABÉ, P.A.; TONIOLLO, G.H.; Criptorquidismo em eqüinos .**Revista do CFMV** v.10, nº32, p.44 –54 2004..
- COTINOT, C.; McELREAVEY, K.; FELLOUS, M. Sex Determination: Genetic Control. *In*: C. Thibault, M.C., Levassuer, R.H.F. Hunter. **Reproduction in mammals and man.** Paris Ellipses. 1993.
- COTINOT, C.; PAILHOUX, E.; OTTOLENGHI, C.; VEITIA, R.; FELLOUS, M. Le Déterminisme du Sexe: son contrôle génétique. *In* Thibaut, C., Levasseur, M.C. **Le Reproduction chez les Mammifères et L’Homme.** Paris, Ellipses, 2001.
- GARCIA, S.M.L. Sistema Urogenital. *In*: GARCIA,S.M.L; JECKEL, E.; FERNANDEZ, C.G. **Embriologia**, Ed. Artes médicas Porto Alegre 1991.
- HUNTER, R.H.F. **Sex determination, differentiation and intersexuality in placental mammals.** Cambridge, Cambridge University Press. 1995.
- JOST, A.; MAGRES, S. Sexual differentiation *In* : C. Thibault, M.C. Levassuer, R.H.F. Hunter. **Reproduction in mammals and man.** Paris Ellipses. 1993.
- MAGRE, S.; VIGIER, B. Développement et Différenciation Sexuelle de L’appareil Genital *In* Thibaut, C., Levasseur, M.C. **Le Reproduction chez les Mammifères et L’Homme.** Paris, Ellipses, 2001.
- UNIVERSITY OF NORTH CAROLINE. Embryologic development . Disponível em <http://www.med.unc.edu/embryo_images/unit-welcome_https/contacts.htm>. Acesso em 25/08/2004.