

MECANISMOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA OVOGÊNESE

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL MECHANISM INVOLVED IN OVOGENESIS

*Eliane Gouvêa de Oliveira**, *Juliana Polisseni***, *Martha Oliveira Guerra****, *Vera Maria Peters****

RESUMO

O artigo refere-se a uma atualização sobre os mecanismos fisiológicos e bioquímicos envolvidos na ovogênese de mamífero.

PALAVRAS-CHAVE

Ovogênese. Interrupção da Meiose. Maturação do Ovócito. Retomada da Meiose.

ABSTRACT

The article concern with an up to date about physiologic and biochemical mechanism of ovogenesis in mammals.

KEYWORDS

Oogenesis. Meiotic arrest. Oocyte maturation. Resume meiosis.

1 INTRODUÇÃO

Nas fêmeas de mamíferos a função reprodutiva é dependente de uma série de alterações hormonais, que envolve fatores centrais e periféricos, através de mecanismos ainda não totalmente esclarecidos. É sabido que a ovogênese ocorre nos estádios iniciais do desenvolvimento embrionário e refere-se à seqüência de eventos através dos quais as células germinativas primitivas, as ovogônias, transformam-se em ovócitos maduros. O processo tem início na vida intra-embrionária e término após o fim da maturidade sexual (MOORE; PERSAUD, 2004).

Pode-se dizer que a ovogênese se divide em três fases: multiplicação ou de proliferação, crescimento e fase de maturação (Figura 1).

Durante a fase de multiplicação, as células germinativas se multiplicam por mitoses consecutivas e originam as ovogônias. Logo que são formadas, as ovogônias iniciam a primeira divisão meiótica, a qual é interrompida na prófase I. Esta fase é denominada fase de crescimento devido a um aumento citoplasmático e acúmulo de nutrientes das ovogônias. Terminada a fase de crescimento, as ovogônias transformam-se em ovócitos primários, e se mantêm neste estágio de desenvolvimento, por bloqueio da divisão, até a puberdade (MADERA; MARCELO, 2002).

A fase de maturação ou reinício do processo ocorre através de sinalização bioquímica e hormonal. O ovócito primário completa a primeira divisão da meiose, interrompida na prófase I, originando duas células haplóides: o ovócito secundário e o primeiro corpúsculo polar, que logo se degenera. O ovócito secundário sofre a segunda divisão meiótica, que só se completará caso houver fecundação, promovendo a formação do segundo corpúsculo polar (MOORE; PERSAUD, 2004).

Em humanos, durante a fase embrionária da ovogênese, o processo de multiplicação das células germinativas primordiais, originárias da região do endoderma do saco vitelíneo, ocorre por mitoses sucessivas, que culminam com a diferenciação em ovócitos primários após alcançarem a gônada primitiva, na sétima semana de gestação (MCGEE; HSUEH, 2000). Após a colonização da gônada primitiva a proliferação continua por sucessivas divisões mitóticas chegando na 20ª semana de gestação a um total de 6 a 7 milhões de ovócitos em ambos ovários. Posteriormente, este número reduz, por mecanismos de apoptose e atresia, de maneira que ao nascimento encontra-se 1.000.000 a 2.000.000 de ovócitos (GUERRA, 2001, CAMARGOS; MELO, 2001). Os ovócitos primários iniciam a meiose e a divisão é interrompida no estágio de diplóteno. Após esta fase, o ovócito primário é envolto por uma camada de células granulosas, constituindo-se em folículo primordial. Este processo de englobamento do ovócito se estenderá até a aproximadamente seis meses de vida pós-natal. Os ovócitos permanecem em estágio de dictióteno até a reativação da meiose, na puberdade (MADERA; MARCELO, 2002; COSTA, 2004).

Entretanto, entre os ovócitos que iniciam o processo de maturação apenas 0,1% atingem o pleno amadurecimento chegando a ovular. O ovócito inicialmente deve atingir um tamanho apropriado,

Correspondence Author: Eliane Gouvêa de Oliveira. Adress: Universidade Federal de Juiz de Fora, Centro de Biologia da Reprodução, Campus Universitário, Caixa Postal 328, CEP 36001-970, Juiz de Fora, MG, Brasil.

* Estagiária do Centro de Biologia da Reprodução – UFJF.

** Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde, área de concentração: Saúde Brasileira – UFJF.

*** Pesquisador do Centro de Biologia da Reprodução – UFJF.

Recebido em: Julho de 2008.

Aceito em: Dezembro de 2008.

Apoio: Os autores agradecem à Rede Mineira de Ensaios Toxicológicos e Farmacológicos de Produtos Terapêuticos – FAPEMIG.

aproximadamente 75 µm em camundongo e 100 µm em humanos, para prosseguir no seu desenvolvimento. Desta forma, aqueles que não atingem tamanho determinado permanecem paralisados ou podem atingir somente a meiose I (GUERRA, 2001; MRAZEK; FULKA, 2003; GEBER et al., 2007).

É importante ressaltar que a maturação de ovócitos de mamíferos é um processo complexo, que envolve maturação nuclear e citoplasmática, eventos que apesar de distintos estão interligados e ocorrem simultaneamente. A maturação nuclear envolve a quebra da vesícula germinativa, condensação e redistribuição dos cromossomos

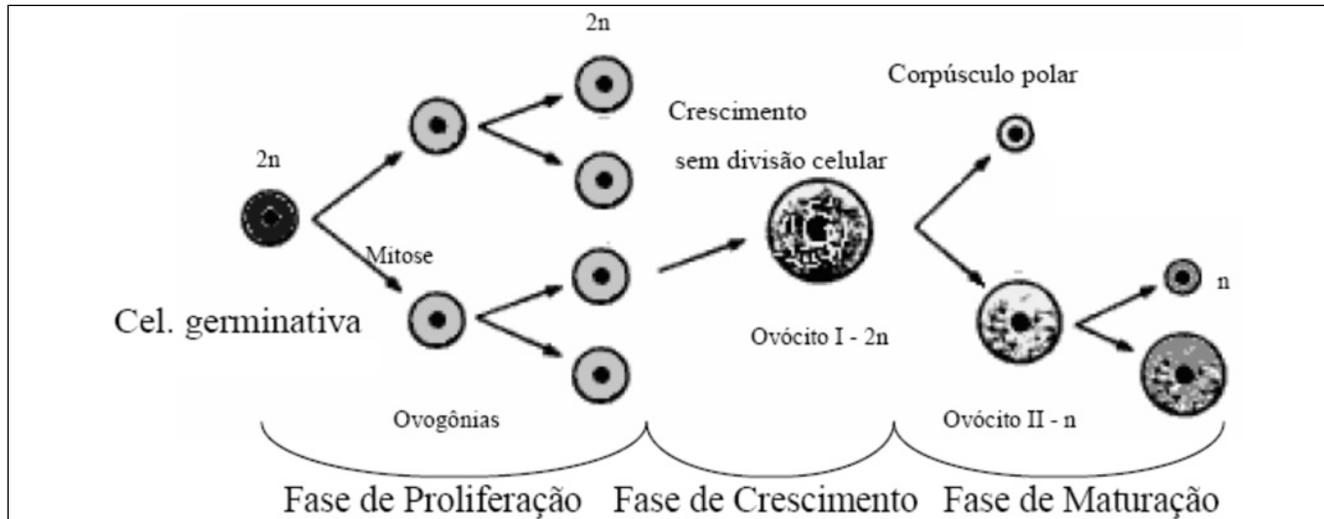


Figura 1: Desenvolvimento de ovogônia a ovócito.

Fonte: www.sobiologia.com.br/conteudos/figuras/Citologia2/Ovogenese.gif – adaptado

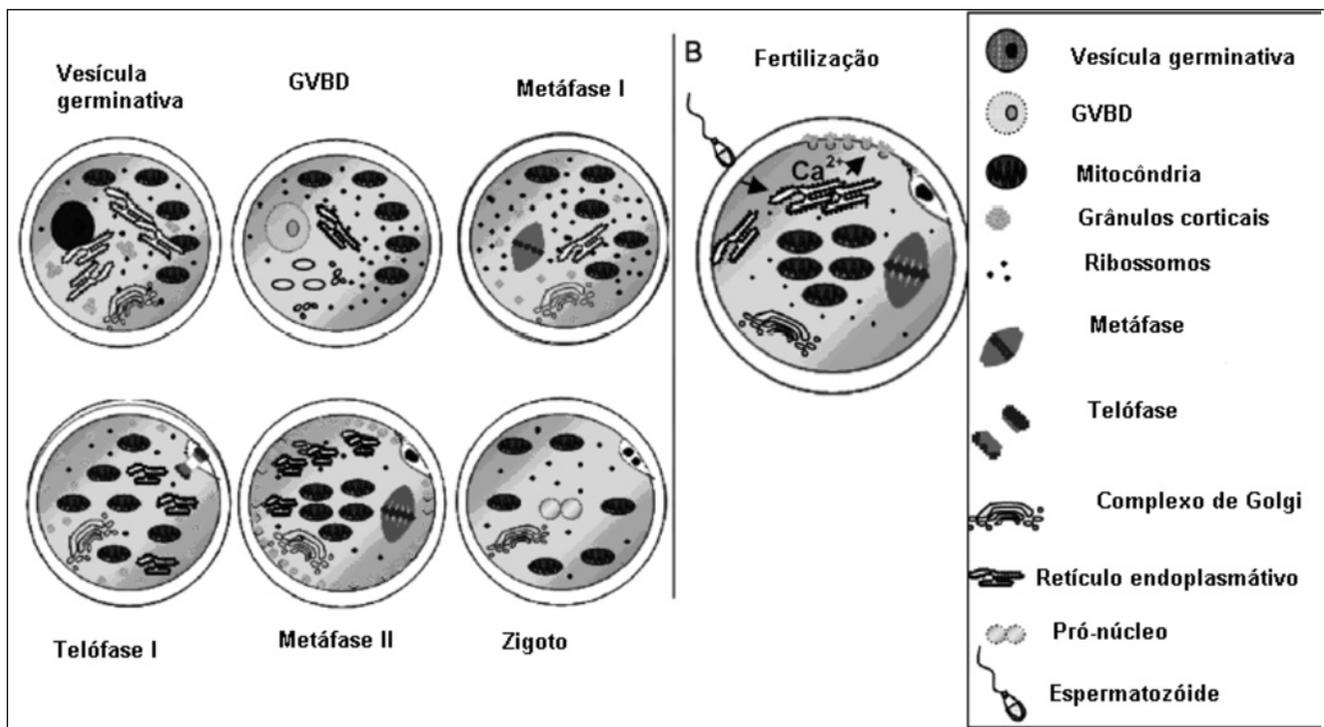


Figura 2: Modificações das organelas celulares de acordo com a fase da maturação ovocitária.

Fonte: Ferreira et al., 2008 – adaptado.

e emissão do primeiro corpúsculo polar. Já o processo de maturação citoplasmática pode ser dividido em três eventos: redistribuição das organelas citoplasmáticas, modificações na dinâmica dos filamentos do citoesqueleto, os quais estão envolvidos na segregação cromossômica, e maturação molecular (FERREIRA et al., 2008; LIU et al., 2009).

Através de análises estruturais constatou-se que mitocôndrias, ribossomos, retículo endoplasmático, grânulos corticais e complexo de golgi sofrem modificações estruturais e morfológicas, além de assumirem diferentes posições durante a transição do estágio de vesícula germinativa para metáfase II (Figura 2). A mitocôndria, por exemplo, componente responsável por suprir a energia que é consumida durante o processo de maturação, migra para áreas que utilizam mais energia durante períodos críticos do ciclo celular. Além disso, o número de organelas presentes no citoplasma de ovócitos de mamíferos varia de acordo com o estágio de desenvolvimento da célula, chegando a 100.000 mitocôndrias durante a maturação do ovócito. Já os ribossomos e o complexo de golgi, apresentam-se em grande número durante a metáfase I, fase com alta síntese proteica indispensável para maturação do ovócito (FERREIRA et al., 2008; LIU et al., 2009).

A maturação molecular corresponde à fase de crescimento do ovócito. Envolve transcrição, armazenamento, processamento do RNAm expresso pelos cromossomas, e tradução de proteínas, as quais estão envolvidas na maturação e eventos celulares subsequentes como fertilização e formação dos pró-núcleos (LIU et al., 2009).

É importante ressaltar que a maturação do ovócito de mamíferos é interrompida em dois momentos: na fase de diplóteno da prófase I até a puberdade, e em metáfase II até o momento da fertilização. Os mecanismos responsáveis pelo bloqueio e ativação da divisão meiótica permanecem obscuros, mas acredita-se que o principal mecanismo molecular de controle do ciclo celular meiótico e mitótico baseia-se na regulação e ativação do fator promotor da maturação (MPF), além da correlação com outros fatores, como adenosina monofosfato cíclica (AMPc), inibidor da maturação do ovócito (OMI), íons cálcio produzidos por células foliculares, e das proteínas C-MOS e MAPK (mitogen-activated kinase protein) (GUERRA, 2001; HAN; CONTI, 2006).

O MPF encontra-se em uma forma complexa fosforilada inativa em ovócitos imaturos, com uma subunidade catalítica, a *cdc2* e uma subunidade reguladora, a ciclina B. No ciclo celular, a atividade do MPF é regulada de acordo com o acúmulo ou degradação da ciclina e por proteínas inibidoras, como *p21^{cip}* e *p27^{kip}*. Sua fosforilação é controlada pelas proteínas *Wee 1* e *Myt 1*, as quais promovem a fosforilação de dois resíduos da subunidade *cdc2*, o Thr14 e o Tyr15. A *Wee 1* atua inibindo a atividade da subunidade *cdc2* pela fosforilação do Tyr15 no núcleo. Já a *Myt 1* promove a ligação e seqüestro da *cdc2*/ciclina B no citoplasma bem como a fosforilação da Thr14/Tyr15. Já a desfosforilação é promovida pela enzima *Cdc25* (Figura 3) (MRAZEK; FULKA, 2003; HAN; CONTI, 2006; ARAÚJO et al., 2007).

Desta forma, a concentração de MPF oscila entre as divisões celulares. O MPF apresenta atividade acentuada em ovócitos nas fases

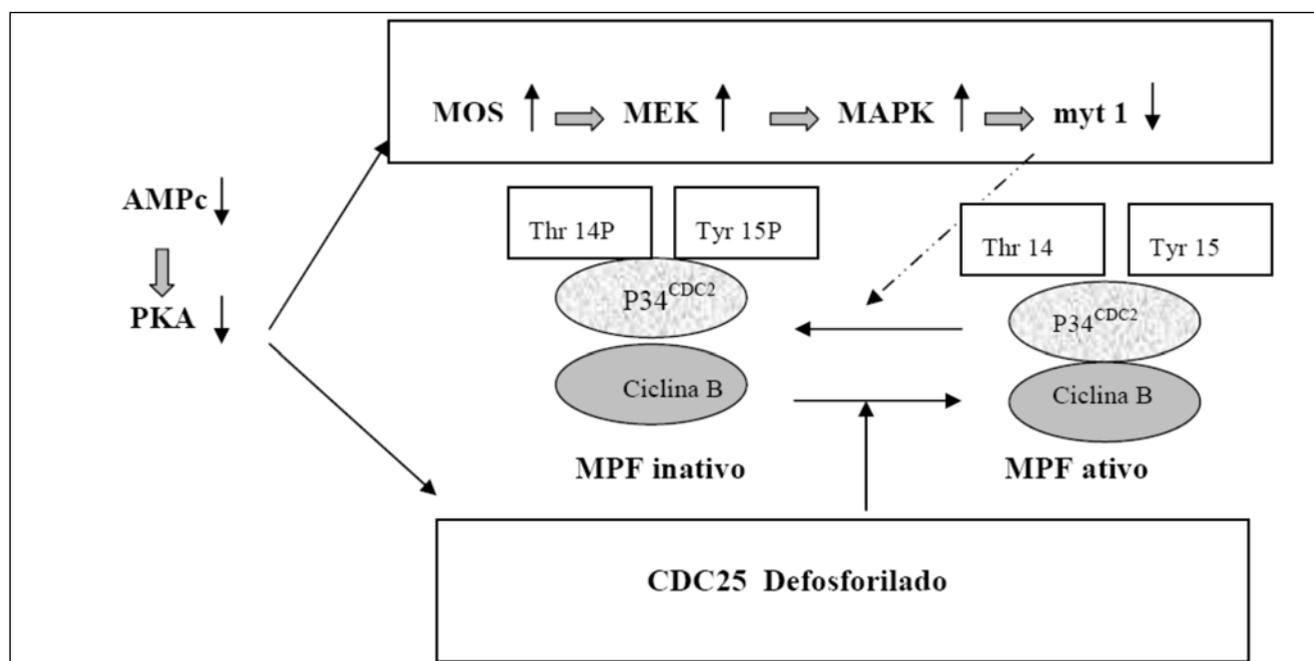


Figura 3: Esquema demonstrativo do processo de ativação do Fator Promotor de Maturação. CAMP: adenosina monofosfato cíclica; PKA: proteína *Kinase A*; Mos: proteína do pro-oncogene *c-mos*; MEK: específico MAP-Kinase; MAPK: proteína *Kinase* ativada por mitógeno; myt 1: *Kinase*; Thr 14/Tyr 15: resíduos da subunidade *cdc25*; P34^{cdc2}: proteína *Kinase*; MPF: fator promotor de maturação e Cdc25: fosfatase de dupla especificidade.

Fonte: Van der HURK; ZHAO, 2004 - adaptado

de reinício das divisões meióticas, alcançando seu maior nível na meiose I. Já o decréscimo na concentração deste componente é observado durante a transição da anáfase para a telófase, antes da liberação do primeiro corpúsculo polar. Após a fertilização ou quando ativado, paternogeneticamente, o MPF é degradado (KOVO et al., 2006).

As MAPKs (mitogen-activated kinase protein) são outras proteínas envolvidas na maturação do ovócito. Em ovócitos de mamíferos duas isoformas de MAPKs estão presentes, ERK1 e ERK2, sendo ativadas por MEK, que por sua vez, é diretamente regulada por MOS, produto do *c-mos* protooncogene, que é codificada pelo RNA materno e estocada durante o crescimento do ovócito (Figura 3). O momento de ativação do MAPK durante a maturação do ovócito varia em diferentes espécies, mas acredita-se que a atividade da MAPK é requerida para manutenção da atividade do MPF, formação dos fusos e manutenção da parada na metáfase II (Van der HURK; ZHAO, 2004).

A diminuição da concentração de AMPc, identificado em 1978 em ratos, também está diretamente relacionado com a ativação do fator MPF (Figura 3). O AMPc, originário das células foliculares, alcança o ovócito por meio das junções *gap*, mantendo-se em alta concentração, via proteína quinase A (PKA). Entretanto, o decréscimo deste componente será causado pelo LH, o qual induz a degradação da vesícula germinativa, impedindo a comunicação entre as células foliculares e o ovócito. Este processo, então, promove a diminuição da concentração de AMPc dentro do ovócito, levando a inativação da PKA, o que possibilita a reativação da divisão celular (DEKEL, 2005).

A ativação do ovócito também é influenciada pelo aumento intracelular de cálcio, induzido pela ativação do receptor inositol 1,4,5-trisfosfato (IP₃R) presente na membrana do retículo sarcoplasmático. A mobilização intracelular de cálcio é seguida por influxo de cálcio do ambiente extracelular, o qual parece ser regulado através da estimulação antagonista do LH ou da adenilato ciclase. É importante ressaltar que a ativação do ovócito está diretamente relacionada com a perda da membrana nuclear, desintegração da vesícula germinativa, condensação da cromatina em cromossomos bivalentes, separação dos cromossomos homólogos. A interrupção na metáfase II ocorrerá logo após a fertilização, devido o aumento dos níveis de cálcio, o que irá induzir a degradação da ciclina e, conseqüentemente, do MPF. Com o progresso da metáfase II ocorre a divisão desigual do citoplasma e liberação do segundo corpúsculo polar (WILLIAMS, 2002; TSAFRIRI; MOTOLA, 2007).

O OMI, um peptídeo de baixo peso molecular, também atua na interrupção da meiose por impedir a atividade transcripcional fundamental na retomada do ciclo celular. Este componente sensível ao calor, produzido pelas células da granulosa, atinge o ovócito por meio das junções comunicantes presentes nas células da corona radiata (GUERRA, 2001).

É importante ressaltar que as pesquisas que se desenvolveram até o momento não conseguiram responder satisfatoriamente sobre todos os mecanismos envolvidos na ovogênese. Atualmente, estudos têm

apontado à participação de determinados genes em todo o processo. O gene *Rnf24*, por exemplo, é expresso durante todos os estádios de desenvolvimento do ovócito, e parece desempenhar importante função no seu crescimento e maturação. O gene *Slc39a10*, por sua vez, parece estar relacionado com a homeostasia, podendo também induzir a migração do ovócito para a periferia do ovário (MALCUIT, 2009; MONTI; REDI, 2009). O gene *Bbs7* também apresenta grande importância no processo de maturação, já que apresenta maior expressão dentro das células do *cumulus* e menor concentração nos ovócitos em metáfase II, o que sugere sua participação no transporte de moléculas da granulosa para o interior do ovócito em crescimento (MALCUIT, 2009). O germ-cell-specific kinase (*c-mos*), participa da formação do primeiro corpúsculo polar e fusos mitóticos, durante a primeira divisão meiótica, e previne clivagens partenogenéticas durante a meiose II (EXTRAVOUR, 2009). Outros genes parecem, também, estar envolvidos na primeira divisão, como as subunidades *Camk2a*, *-2b* e *-2g*, e na segunda divisão II, como o *Tnfsf5ip* (SPILLER; WILHELM; KOOPMAN, 2009). Por último, os genes *Shc1*, *E2f6* e *Sesn3* destacam-se no controle da apoptose na população de células germinativas (SPILLER; WILHELM; KOOPMAN, 2009).

Em conclusão pode-se dizer que o entendimento completo do processo de ovogênese ainda não está suficientemente esclarecido, sendo necessários mais estudos para sua elucidação.

3 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, C. H. M.; ARAÚJO, M. C. P.; MARTINS, W. P., et al., Gametogênese: Estágio fundamental do desenvolvimento para reprodução humana. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 4, p. 551-558, 2007.
- CAMARGOS, A. F.; MELO, V. H., Ginecologia Ambulatorial. **Coopmed**, Belo Horizonte, Brasil, p. 185-190, 2001.
- COSTA, L. F. S., **Expressão de Anexina II em oócitos e no desenvolvimento embrionário bovino**. Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração de Fisiopatologia da Reprodução, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), 2004.
- DEKEL, N., Cellular, biochemical and molecular mechanisms regulating oocyte maturation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 234, p. 19-25, 2005.
- EXTRAVOUR, C. Oogenesis: Marking the Mos of Meiosis. **Current Biology**, DOI: 10.1016/j.cub. 2009.05.015, 2009.
- FERREIRA, E. M.; VIREQUE, A. A.; ADONA, P. R. et al., Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: Structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. **Theriogenology**, 2008. DOI:10.1016/j.theriogenology2008.10.023.

- GEBER, S.; MEGALE, R.; PRATES, L. F. V. S. et al., Avaliação da densidade folicular em ovários de fetos humanos. **Revista Brasileira Ginecologia e Obstetrícia**, v. 29, n. 12, p. 614-618, 2007.
- GUERRA, M. O., **Reprodução Feminina Fisiologia de Hipotálamo, Hipófise e Ovário**. Editar, Juiz de Fora, p. 1-96, 2001.
- HAN, S. J.; CONTI, M., New Pathways from PKA to the Cdc2/cyclin B Complex in Oocytes Wee 1B as a Potential PKA Substrate. **Cell Cycle**, v. 5, n. 3, p. 227-231, 2006.
- KOVO, M.; KANDLI-COHEN, M.; BEN-HAIM, M. et al. An activeprotein kinase A (PKA) is involved in meiotic arrest of rat growing oocytes. **Society for Reproduction and Fertility**, v. 132, p. 33-43, 2006.
- LIU, S.; LI, Y.; GAO, X. et al., Changes in the distribution of mitochondria before and after in vitro maturation of human oocytes and the effect of in vitro maturation on mitochondria distribution. **Fertility and Sterility**, 2009. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.03.050
- MADERA, I. V.; MARCELO, I., **Reproducción Humana e Infertilidad: Boutique Creativa**. Quito, Ecuador, p. 1-30, 2002.
- MALCUIT, C.; TRASK, M. C.; SANTIAGO, L. et al., Identification of novel oocyte and granulosa cell markers. **Elsevier**, v. 9 p. 404-410, 2009.
- MCGEE, E. A.; HSUEH, A. J. W., Initial and Cycle Recruitment of Ovarian Follicles. **Endocrine Reviews**, v. 21, n. 2, p. 200-214, 2000.
- MRAZEK, M.; FULKA JR, J., Failure of oocyte maturation: Possible mechanisms for oocyte maturation arrest. **Human Reproduction**, v. 18, n. 11, p. 2249-2252, 2003.
- MONTI, M.; REDDI, C. A., Oogenesis Specific Genes (*Nobox*, *Oct4*, *Bmp15*, *Gdf9*, *Oogenesis1* and *Oogenesis2*) are Differentially Expressed During Natural and Gonadotropin-Induced Mouse Follicular development. **Molecular Reproduction e Development**, p. 1-10, 2009.
- MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N., **Embriologia Clínica**. Tradução Ithamar Vulgman. 6ª. Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, Brasil, p. 15-30, 2004.
- Sobiologia: < [http:// www.sobiologia.com.br/conteudos/figuras/Citologia2/Ovogenese.gif](http://www.sobiologia.com.br/conteudos/figuras/Citologia2/Ovogenese.gif)> Acessado em [www. Google.com.br](http://www.Google.com.br). 2009.
- SPILLER, C.; WILHELM, D.; KOOPMAN, P., Cell cycle analysis of fetal germ cells during sex differentiation in mice. **Biology of the Cell Immediate Publication**, 2009. DOI: 10.1042/BC20090021.
- TSAFRIRI, A.; MOTOLA, S., Are steroids dispensable for meiotic resumption in mammals? **TRENDS in Endocrinology and Metabolism**, v. 18, n. 8, p. 321-327, 2007.
- VAN DER HURK, R.; ZHAO, J., Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, n. 63, p. 1717-1751, 2005.
- WILLIAMS, C. J. Signalling mechanisms of mammalian oocyte activation. **Human Reproduction Update**, v. 8, n. 4, p. 313-321, 2002.