

MÃE, OBRIGADA PELOS MICRORNAs

MOM, THANKS FOR THE MICRORNAs

Amanda de Menezes Mayer¹, Julia Poeta¹, Dennis Maletich Junqueira¹

RESUMO

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA não codificante que têm grande importância nos mais diversos processos celulares, pois atuam na regulação da expressão gênica pós-transcricional. Estima-se que estes RNAs tenham controle de, em média, 30% da regulação de genes codificantes de proteínas em mamíferos. Da mesma forma, na fase zigótica do desenvolvimento embrionário, os miRNAs maternos desempenham funções notáveis e são fundamentais para a degradação dos próprios transcritos maternos. Este evento é determinante para a transição materno-zigótica, momento onde o zigoto passa a expressar completamente e de maneira independente seus próprios mRNAs, e; portanto, são vitais para o desenvolvimento inicial do embrião. O presente estudo, através de uma revisão narrativa de literatura, busca descrever os mecanismos de ação de miRNAs maternos presentes em zigotos de diversas espécies durante o desenvolvimento embrionário. Foram selecionados estudos disponíveis na base de dados PubMed através da busca utilizando palavras-chave descritas pelos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS).

Palavras-Chave: *MicroRNA; oócito; zigoto; embrião; revisão*

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are small molecules of non-coding RNA that have great importance in the most diverse cellular processes, since they act in the post-transcriptional regulation of gene expression. It is estimated that these RNAs have a control of, on average, 30% of the regulation of protein-encoding genes in mammals. Likewise, in the zygotic phase of embryonic development, maternal miRNAs perform remarkable functions and are fundamental for the degradation of the maternal transcripts themselves. This event is determinant for the maternal-to-zygotic transition, at which moment the zygote begins to express completely and independently its own miRNAs, and is therefore vital for the initial development of the embryo. The present study, through a review of the literature, aims to describe the mechanisms of action of maternal miRNAs present in zygotes of different species during embryonic development. We selected only the studies listed in the PubMed database through the search using keywords described by the Health Sciences Descriptors (DeCS).

Keywords: *MicroRNA; oocyte; zygote; embryo; review*

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) que contém em média 22 nucleotídeos. Encontrados em eucariotos, estes RNAs não são codificantes de proteínas; porém, têm um importante papel na regulação da expressão gênica pós-transcricional em diversos organismos¹. O primeiro relato da existência dos miRNAs (*lineage-deficient-4*, ou LIN-4) ocorreu em 1993, através de estudos sobre a regulação do desenvolvimento larval de nematódeos da espécie *Caenorhabditis elegans*. Atualmente, mais de 38.000 miRNAs presentes em mais de 100 espécies foram cadastradas no site miRBase², sendo que mais de 1.900 destas sequências são descritas na regulação de diversos processos celulares em humanos^{3,4}.

Os miRNAs têm grande importância nos processos de regulação biológica, pois se associam a sequências específicas dentro dos RNAs mensageiros (mRNAs), de acordo com sua sequência de nucleotídeos. Esta associação

Clin Biomed Res. 2018;38(4):403-408

¹ Faculdade de Biomedicina, Centro Universitário Ritter dos Reis (UNIRITTER). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Dennis Maletich Junqueira
dennismaletich@hotmail.com
Centro Universitário Ritter dos Reis (UNIRITTER)
Rua Orfanotrófio, 555.
90840440, Porto Alegre, RS, Brasil.

leva à degradação dos mRNAs com a consequente inibição da síntese de proteínas⁵. A síntese dos miRNAs é realizada pela RNA polimerase II, inicialmente, sendo transcritos como moléculas precursoras chamadas pri-miRNAs. Estas moléculas são clivadas pelo complexo DROSHA-DGCR8, que é composto por duas grandes proteínas, ocorrendo a interação da enzima DROSHA com o cofator DGCR8, que auxilia no reconhecimento do substrato para que ocorra o processamento do mesmo. Após a primeira clivagem, é liberado o precursor de miRNA, pré-miRNA que tem, em média, 70 nucleotídeos. No citoplasma, estes são processados pela enzima RNase-III Dicer, uma proteína altamente conservada entre mamíferos, responsável pela clivagem final dos miRNAs, ficando estes com aproximadamente 21 nucleotídeos. Estima-se que os microRNAs tenham participação na regulação de praticamente todos os processos celulares, além do controle de, em média, 30% da regulação dos genes codificantes de proteínas em mamíferos^{1,5}. Recentemente, descobriu-se que os microRNAs também podem ser transferidos entre células, através de secreções celulares, proporcionando uma via de comunicação e auxiliando em diferentes processos celulares⁶.

Além de regular a produção de determinadas proteínas, os microRNAs estão também relacionados ao desenvolvimento embrionário em mamíferos. Em 2003, Bernstein et al.⁷, utilizando linhagens de camundongos com deficiência na expressão da enzima Dicer, observaram que os homozigotos mutados para este gene (deficientes de Dicer) não sobreviviam, mas apenas camundongos heterozigotos ou selvagens, sugerindo uma importância fundamental desta enzima para o desenvolvimento. Kanellopoulou et al.⁸ demonstrou que os microRNAs executam papéis essenciais em diversos estágios do desenvolvimento embrionário, incluindo a diferenciação celular. Os miRNAs também podem ser uma via de comunicação materno-embrionária nos estágios iniciais⁶. Estas moléculas estão presentes nos tecidos somáticos de forma ubíqua atuando desde o desenvolvimento inicial e durante todo o avanço pós-implantação⁹. Inicialmente, os miRNAs maternos auxiliam no reparo de DNA do embrião, evitando erros genéticos que podem levar a célula à apoptose e ao consequente atraso no desenvolvimento do próprio embrião¹⁰.

O desenvolvimento embrionário nos mamíferos se inicia a partir da fecundação. Neste processo, duas células haploides (espermatozoide e oócito) se unem e formam a primeira célula diploide do novo embrião¹¹. Em humanos, após a fertilização, os núcleos dos gametas se fundem, contribuindo com 23 cromossomos cada, e compartilham moléculas e organelas, essenciais para a replicação celular, com o novo organismo. Segundo o estudo de Sutovsky

e Schatten¹², os gametas carregam estas organelas e moléculas de forma totalmente complementar, o oócito mantém os elementos que não estão presentes no espermatozoide e vice-versa, formando uma combinação chave-fechadura, da qual depende a normalidade do desenvolvimento embrionário. Este mecanismo ajuda a compreender a importância da contribuição de miRNAs por parte materna. Diversos estudos mostraram que os miRNAs presentes no oócito regulam o início da embriogênese para apenas em seguida o desenvolvimento se dar a partir da expressão gênica do próprio embrião¹³. Esta fase inicial é de extrema importância para a formação do indivíduo, pois problemas na fecundação e, principalmente, erros na replicação celular podem acarretar doenças futuras por alterações genômicas. Os miRNAs são cruciais nas fases de pré- e pós-implantação, pois atuam em diferentes vias de reparo de DNA e verificação do ciclo celular nas fases iniciais do desenvolvimento embrionário, protegendo as células da apoptose e de alterações genômicas¹⁰.

OBJETIVO

Descrever os principais mecanismos relacionados à regulação do desenvolvimento embrionário inicial através de microRNAs maternos.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo de revisão narrativa da literatura. A busca de artigos para a elaboração deste estudo foi desenvolvida a partir de pesquisas na base de dados PubMed. Como palavras-chave, foram utilizados descritores padronizados pelos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), sendo estes: “microRNA”, “miRNA”, “oocyte” e “zygote”. Para obtenção de maior especificidade dos resultados encontrados, as pesquisas foram feitas a partir da combinação destas palavras-chave.

As buscas foram filtradas de forma que compreendessem apenas estudos em inglês, publicados entre janeiro/2000 e novembro/2018. Os critérios de inclusão foram: artigos de pesquisa *in-vitro*, *in-vivo* ou *in-silico*, estudos de caso e revisões sistemáticas sobre microRNAs de origem materna e regulação do desenvolvimento embrionário inicial. Após os resultados iniciais, todos os artigos tiveram seus títulos e resumos revisados para que aqueles cujo conteúdo não se enquadrasse nos objetivos do estudo fossem previamente descartados.

RESULTADOS

Na base de dados PubMed, no período entre 2000 e 2018, foram identificados 130 artigos relacionados aos microRNAs e/ou regulação do desenvolvimento

embrionário inicial, mas apenas 14 se encaixavam nos critérios de inclusão definidos neste estudo e foram selecionados (Figura 1). Os principais motivos para exclusão dos artigos foram o não enquadramento dos mesmos na temática do estudo, artigos em idiomas que não fossem a língua inglesa (sendo estes nos idiomas francês e chinês) e a indisponibilidade de obtenção dos estudos.

Dos 14 artigos analisados, 8 (57%) foram estudos baseados em análises computacionais, 5 (36%) estudos apresentaram uma abordagem *in-vitro* e 1 (7%) apresentou uma abordagem *in-vivo*. Entre os artigos que apresentaram estudos *in-vitro*,

4 (80%) utilizaram oócitos provenientes de ratos ou camundongos e 1 (20%) utilizou oócitos provenientes de seres humanos. Dentre os estudos selecionados, 8 foram realizados na América do Norte, 3 na Europa e apenas 1 realizado na Ásia. Nenhum dos estudos considerados foi realizado na América do Sul.

Cinco diferentes miRNAs foram catalogados a partir dos estudos analisados (Tabela 1). Dentre os principais miRNAs encontrados, são descritos o miR-430 (encontrado em embriões de Peixes-zebra), miR-427 e miR-18 (encontrados em embriões de Rãs *Xenopus*), o grupo miR-309 (encontrado em embriões de Moscas *Drosophila*) e miR-135a.

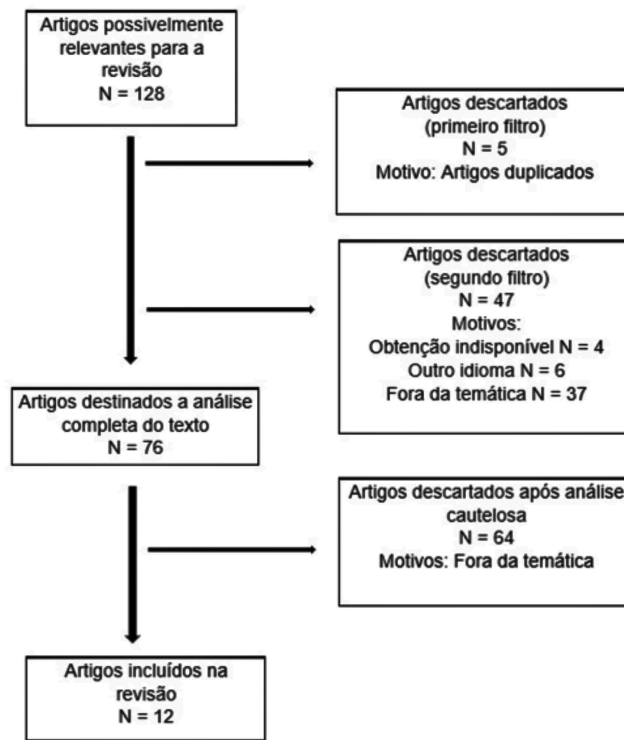


Figura 1: Síntese do processo de obtenção dos artigos selecionados para a revisão narrativa sobre a regulação do desenvolvimento inicial embrionário humano através de microRNAs maternos.

Tabela 1: Principais microRNAs maternos encontrados em zigotos de diferentes espécies.

microRNAs	Família	Alvo	Efeito Biológico	Referência
miR-430	Peixe-zebra	Transcritos maternos	Degradação de mRNAs maternos	14,15
miR-427	<i>Xenopus</i>	Transcritos maternos	Degradação de mRNAs maternos	15
miR-18	<i>Xenopus</i>	mRNAs do plasma germinativo materno	Degradação de mRNAs maternos	15
Grupo miR-309	<i>Drosophila</i>	Transcritos maternos	Degradação de mRNAs maternos	15
MiR-135a	Camundongos	Siah1	Atua na primeira clivagem zigótica; supressão do Siah1	14

DISCUSSÃO

Os miRNAs são agentes no controle pós-transcricional da expressão gênica da grande maioria dos processos biológicos desde o início do desenvolvimento embrionário. Alguns estudos sugerem que o papel dos miRNAs junto ao embrião no período pré-implantação é questionável, tendo sua função iniciada apenas a partir do período pós-implantação^{9,14}. Segundo diferentes estudos, zigotos de camundongos e peixes-zebra provenientes de oócitos carentes da proteína Dicer, cujo principal papel está relacionado ao processamento de miRNAs, não passam da primeira clivagem, devido aos desequilíbrios na divisão celular, morfogênese e ordenação dos cromossomos. Enquanto isto, blastocistos de camundongos com deficiência da enzima DGRC8, que também desempenha grande importância no processamento de miRNAs, se mostram normais, ainda que estes embriões não sobrevivam logo em seguida^{14,16}.

Além disto, os miRNAs atuam na reparação celular embrionária, visto que, devido ao curto ciclo celular, podem ocorrer erros genéticos durante a clivagem do zigoto. Estes eventos podem levar à apoptose celular e prejudicar o embrião em desenvolvimento inicial. Nos embriões em fase inicial, quem atua neste reparo celular são os mRNAs, porém, após a ativação do genoma embrionário, quem passa a regular este processo são os miRNAs. Possivelmente as vias de reparo ao DNA não sejam completamente operantes em embriões pré-implantados, porém foi visto que diversos genes ligados a estas vias são regulados pelos miRNAs e expressos durante e pré-implantação¹⁰.

Foi observado que oócitos maduros de camundongos e embriões em desenvolvimento inicial possuem níveis semelhantes de expressão de miRNAs¹⁷. A hipótese mais provável para esta explicação é a manutenção destes miRNAs no zigoto após a fecundação do oócito. Com base nos resultados obtidos, também pode-se afirmar que diversos miRNAs são ativos na transição materno-zigótica, controlando e eliminando transcritos maternos, sendo estes de extrema importância no desenvolvimento inicial do embrião^{14,17}. Um exemplo, é o mRNA C-MOS, que está presente em oócitos de rãs do gênero *Xenopus* e trabalha na regulação meiótica, sendo degradado logo após a fecundação. Caso este mRNA esteja presente no embrião de duas células, há o impedimento da próxima clivagem, o que faz deste mRNA um fator prejudicial ao desenvolvimento do embrião¹⁸. Diversos mRNAs alvos dos miRNAs também são transcritos durante a ativação do genoma embrionário, fazendo com que os miRNAs regulem a expressão e diminuam a ativação destes mRNAs zigóticos para que haja a manutenção da homeostase¹⁹.

Os miRNAs herdados da mãe são fundamentais no desenvolvimento inicial do embrião e na transição

materno-zigótica, porém, são degradados após a primeira clivagem, para que a síntese de miRNAs zigóticos ocorra¹¹. Esta afirmação se mostra coerente, visto que em embriões de camundongos a expressão de miRNAs decai em até 60% entre os estágios de 1 e 2 células, justamente quando cerca de 90% dos mRNAs maternos são degradados. Por volta do estágio de 4 células, a expressão de miRNAs volta até duas vezes maior em relação ao estágio de 2 células, devido a síntese de novos miRNAs. Um exemplo são os miRNAs zigóticos da família miR-290, que têm como principais alvos os transcritos zigóticos, e iniciam sua transcrição no estágio de 2 células, porém os miRNAs maduros são vistos apenas no estágio de 4 células^{4,10,18}. Além disto, foram encontradas em zigotos de camundongos e embriões de duas células, modificações capazes de proteger os miRNAs de degradações, o que sugere que haja uma repressão destes miRNAs durante os estágios iniciais, sendo os miRNAs protegidos reativados após a clivagem, no estágio de 4 células⁶.

Apesar de transcricionalmente ativos, embriões de ratos no estágio de uma célula ainda não apresentam produção de mRNAs viáveis, por isto que o término da degradação dos transcritos maternos ocorre de forma sincrônica à ativação do genoma embrionário. É pouco provável que os miRNAs do zigoto tenham participação na degradação dos mRNAs da mãe, visto que sua atividade inicia após a maior parte destes mRNAs já estarem degradados⁴. Já em moscas, peixes e rãs é visível que a degradação dos mRNAs maternos ocorre durante a transição materno-zigótica, pois, devido ao rápido desenvolvimento destas espécies, os miRNAs zigóticos surgem enquanto ainda há grande quantidade de transcritos maternos ativos; logo, a partir da combinação da atividade de miRNAs maternos e zigóticos, ocorre a eliminação dos mRNAs da mãe^{4,15}. Apesar de os mecanismos para a degradação dos transcritos maternos e transição materno-zigótica não serem completamente compreendidos em humanos, observa-se que em outras espécies, como o Peixe-zebra, a alteração esta relacionada à atividade dos miRNAs²⁰.

O grupo de miRNAs zigóticos miR-309 (miR-6-1 a miR-6-3, miR-5, miR-4, miR286, miR-3 e miR-309), encontrados em embriões de moscas *Drosophila sp.*, degradam centenas de transcritos maternos, mas necessitam de uma proteína de origem materna denominada Smaug para iniciar sua transcrição. Esta é uma proteína altamente conservada na escala evolutiva e auxilia no controle da ativação do genoma zigótico, reprimindo a tradução e auxiliando na remoção de transcritos maternos, pois, ao se ligar a centenas de mRNAs, serve como fator de especificidade para que ocorra a degradação dos mesmos. Após a transição materno-zigótica, ocorre a degradação da proteína e dos mRNAs de Smaug

maternos, provavelmente para que os transcritos alvos desta proteína, que são expressos novamente pelo zigoto, não sejam degradados por engano^{15,21,22}.

Dentre os miRNAs que contribuem para a degradação dos transcritos maternos, também estão os ortólogos miR-430 (presente em embriões de Peixes-zebra) e miR-427 (presente em embriões de rãs *Xenopus*), que estimulam a degradação de transcritos maternos a partir da deadenilação (remoção da cauda poli-A) dos mesmos. O miR-430 tem seus níveis elevados ao início da transição materno-zigótica, e, através de sua ligação complementar na zona UTR 3', atinge centenas de transcritos maternos^{15,16}. Já o miR-18 atua em embriões de *Xenopus* eliminando mRNAs do plasma germinativo materno, que se encontram inoperantes no embrião¹⁵. O miR-135a tem sua expressão significativamente maior no estágio de zigoto, sendo responsável pela regulação da primeira clivagem embrionária. Esta hipótese foi confirmada por Pang et al.¹⁴ quando administrado em zigotos pronucleados um inibidor de miR-135a, fazendo com que mais de 30% dos zigotos que receberam este inibidor não se desenvolvessem para o estágio de 2 células. Além disso, este miRNA também tem ligação com expressão da enzima Siah1, que tem importante papel no desenvolvimento embrionário inicial, por estar envolvida com os processos de ubiquitinação e apoptose. A expressão demasiada de Siah1 em mamíferos leva à falta de proliferação celular e apoptose; provavelmente por este motivo, a expressão desta proteína, que atinge elevados níveis no oócito, diminua no zigoto, a partir da elevação dos níveis do miR-135a, nos estágios iniciais do embrião. Ao que tudo indica, o miR-135a também deve regular indiretamente outras proteínas relacionadas a ubiquitinação, assim como a Siah1¹⁴.

Recentemente, observou-se que os miRNAs podem ser transferidos entre células, através de fluidos, servindo como um meio de comunicação entre as mesmas. Grande parte dos fluidos corporais contém miRNAs, incluindo soro, plasma, saliva, urina, sangue, líquido amniótico, leite materno, entre outros, sendo que os miRNAs encontrados nestes fluidos podem suportar condições extremas, como pH

baixo, ebulição ou congelamento. Estes miRNAs são transportados através dos fluidos biológicos através da ligação a proteínas, lipoproteínas ou dentro de vesículas extracelulares, o que evita a degradação e auxilia na estabilidade dos miRNAs. Além disto, os miRNAs provenientes destes fluidos podem colaborar em diversas etapas da fertilização, desde a formação das células germinativas, até a sinalização fetal-mãe durante o desenvolvimento embrionário e mediação dos processos de implantação embrionária⁶.

Os microRNAs são expressos nos mais diversos organismos eucariotos, inclusive em humanos. Foi verificado que há a expressão de miRNAs tanto em células germinativas quanto em embriões humanos²³. Desde o final da década de 1970, quando ocorreu o nascimento do primeiro "bebê de proveta", já é discutida a utilização de embriões remanescentes de técnicas de fertilização in vitro, e até então, esta prática é vetada. Hoje em dia, já é discutida a possibilidade de incluir embriões até o décimo quarto dia pós-fertilização em pesquisas, o que mostra um possível avanço no ramo científico²⁴. Devido a estas questões éticas, o estudo de microRNAs em zigotos humanos se torna difícil, sendo mais viável a utilização de zigotos de animais.

CONCLUSÃO

É indiscutível a importância do miR-135a no desenvolvimento inicial do embrião, principalmente por estar envolvido na primeira clivagem zigótica e na expressão do gene Siah1. Já os outros miRNAs encontrados (miR-430, miR-427, miR-18 e grupo miR-309) são indispensáveis na transição materno-zigótica, por degradarem os transcritos maternos, o que é primordial para o desenvolvimento saudável do embrião. Os miRNAs maternos são de grande importância no desenvolvimento embrionário, principalmente nos estágios iniciais, pois contribuem com a transição materno-zigótica, degradando transcritos maternos. Além disto, os miRNAs maternos auxiliam no processo de clivagem e regulação gênica no embrião, evitando problemas no desenvolvimento.

Os autores declaram que não possuem conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2005;6(5):376-85. <http://dx.doi.org/10.1038/nrm1644>. PMID:15852042.
- Griffiths-Jones Lab. *miRBase*. Manchester: University of Manchester; 2018 [citado 2018 Out 02]. Disponível em: <http://www.mirbase.org/>
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993;75(5):843-854. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y). PMID:8252621.
- Svoboda P, Flehr M. The role of miRNAs and endogenous siRNAs in maternal-to-zygotic reprogramming and the establishment of pluripotency. *EMBO Rep.* 2010;11(8):590-7. <http://dx.doi.org/10.1038/embor.2010.102>. PMID:20651740.
- Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008;9(2):102-14. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2290>. PMID:18197166.

6. Gross N, Kropp J, Khatib H. MicroRNA signaling in embryo development. *Biology (Basel)*. 2017;6(3):34. <http://dx.doi.org/10.3390/biology6030034>. PMID:28906477.
7. Bernstein E, Kim SY, Carmell MA, Murchison EP, Alcorn H, Li MZ, et al. Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet*. 2003;35(3):215-7. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1253>. PMID:14528307.
8. Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, Ganesan S, Drapkin R, Jenuwein T, et al. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev*. 2005;19(4):489-501. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.1248505>. PMID:15713842.
9. Suh N, Blueloch R. Small RNAs in early mammalian development: from gametes to gastrulation. *Development*. 2011;138(9):1653-61. <http://dx.doi.org/10.1242/dev.056234>. PMID:21486922.
10. Tulay P, Sengupta SB. MicroRNA expression and its association with DNA repair in preimplantation embryos. *J Reprod Dev*. 2016;62(3):225-34. <http://dx.doi.org/10.1262/jrd.2015-167>. PMID:26853522.
11. Li L, Lu X, Dean J. The maternal to zygotic transition in mammals. *Mol Aspects Med*. 2013;34(5):919-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2013.01.003>. PMID:23352575.
12. Sutovsky P, Schatten G. Paternal contributions to the mammalian zygote: fertilization after sperm-egg fusion. *Int Rev Cytol*. 2000;195:1-65. PMID:10603574.
13. Tesfaye D, Worku D, Rings F, Phatsara C, Tholen E, Schellander K, et al. Identification and expression profiling of microRNAs during bovine oocyte maturation using heterologous approach. *Mol Reprod Dev*. 2009;76(7):665-77. <http://dx.doi.org/10.1002/mrd.21005>. PMID:19170227.
14. Pang RTK, Liu WM, Leung CO, Ye TM, Kwan PC, Lee KF, et al. miR-135a regulates preimplantation embryo development through down-regulation of E3 ubiquitin ligase seven in absentia homolog 1A (SIAH1A) expression. *PLoS One*. 2011;6(11):e27878. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0027878>. PMID:22132158.
15. Walser CB, Lipshitz HD. Transcript clearance during the maternal-to-zygotic transition. *Curr Opin Genet Dev*. 2011;21(4):431-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2011.03.003>. PMID:21497081.
16. Tripurani SK, Lee KB, Wee G, Smith GW, Yao J. MicroRNA-196a regulates bovine newborn ovary homeobox gene (NOBOX) expression during early embryogenesis. *BMC Dev Biol*. 2011;11(1):25. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-213X-11-25>. PMID:21548929.
17. Tang F, Kaneda M, O'Carroll D, Hajkova P, Barton SC, Sun YA, et al. Maternal microRNAs are essential for mouse zygotic development. *Genes Dev*. 2007;21(6):644-8. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.418707>. PMID:17369397.
18. Bettgowda A, Lee KB, Smith GW. Cytoplasmic and nuclear determinants of the maternal-to-embryonic transition. *Reprod Fertil Dev*. 2008;20(1):45-53. <http://dx.doi.org/10.1071/RD07156>. PMID:18154697.
19. Wang P, Cui J, Zhao C, Zhou L, Guo X, Shen R, et al. Differential expression of microRNAs in 2-cell and 4-cell mouse embryos. *Zygote*. 2014;22(4):455-61. <http://dx.doi.org/10.1017/S0967199413000117>. PMID:23731853.
20. Machtinger R, Rodosthenous RS, Adir M, Mansour A, Racowsky C, Baccarelli AA, et al. Extracellular microRNAs in follicular fluid and their potential association with oocyte fertilization and embryo quality: an exploratory study. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(4):525-33. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-017-0876-8>. PMID:28188594.
21. Pinder BD, Smibert CA. Smaug: an unexpected journey into the mechanisms of post-transcriptional regulation. *Fly (Austin)*. 2013;7(3):142-5. <http://dx.doi.org/10.4161/fly.24336>. PMID:23519205.
22. Luo H, Li X, Claycomb JM, Lipshitz HD. The smaug RNA-binding protein is essential for microRNA synthesis during the drosophila maternal-to-zygotic transition. *Genes Genomes Genetics*. 2016;6(11):3541-51. <http://dx.doi.org/10.1534/g3.116.034199>. PMID:27591754.
23. Tulay P, Naja RP, Cascales-Roman O, Doshi A, Serhal P, SenGupta SB. Investigation of microRNA expression and DNA repair gene transcripts in human oocytes and blastocysts. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(12):1757-64. <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-015-0585-0>. PMID:26438643.
24. Cavaliere G. A 14-day limit for bioethics: the debate over human embryo research. *BMC Med Ethics*. 2017;18(1):38. <http://dx.doi.org/10.1186/s12910-017-0198-5>. PMID:28558751.

Recebido: 2 out, 2018

Aceito: 19 dez, 2018