

Espermatogênese e maturação espermática: aspectos relevantes durante o exame andrológico nas espécies domésticas

Spermatogenesis and sperm maturation: relevant aspects during andrological examination in domestic species

¹Luiz Renato de França, ²Maria Christina W. Avellar

¹Professor titular aposentado. Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte – MG

²Professor Associado, Departamento de Farmacologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo – SP

Resumo

A fertilidade e a eficiência reprodutiva do macho já estão determinadas desde o início do desenvolvimento testicular, quando as células de Sertoli e de Leydig fetais desempenham papel fundamental para a diferenciação/desenvolvimento do trato genital masculino. A célula de Sertoli coordena ainda a espermatogênese e seu número total, estabelecido entre a fase fetal e a puberdade, determina a magnitude da produção espermática. A alta eficiência espermatogênica observada em mamíferos deve-se principalmente aos seguintes fatores: elevado índice gonadosomático; alto percentual de túbulos seminíferos no testículo; maior número de gerações espermatogoniais; menor número de perdas/apoptoses das células germinativas; elevado número de células de Sertoli por grama de testículo e sua alta capacidade de suportar células germinativas; e curta duração da espermatogênese. O trânsito espermático no epidídimo dura 1-2 semanas. Ao final dessa fantástica jornada, quando adquirem a maturação e a capacidade de reconhecer e fecundar o ócito, os espermatozoides são estocados e permanecem de forma quiescente até o momento da ejaculação. Provavelmente sob a influência dos desreguladores endócrinos, evidências recentes mostram drástico declínio na qualidade seminal e concentração espermática no homem. Certamente, isso é um forte sinal de alerta para os animais domésticos e silvestres, que são ainda pouco investigados nesse aspecto.

Palavras-chave: Espermatogênese; Célula de Sertoli; Produção espermática; Epidídimo; Maturação espermática.

Abstract

Male fertility and reproductive efficiency are already determined from the beginning of testicular development, when fetal Sertoli and Leydig cells play a fundamental role in the differentiation/development of the male genital tract. Sertoli cells also coordinate spermatogenesis and their total number, established between the fetal phase and puberty, determines the magnitude of sperm production. The high spermatogenic efficiency observed in mammals is mainly due to the following factors: high gonadosomatic index; high percentage of seminiferous tubules in the testis; greater number of spermatogonial generations; lower number of germ cell losses/apoptosis; high number of Sertoli cells per gram of testis and their high capacity to support germ cells; and short duration of spermatogenesis. Sperm transit in the epididymis lasts 1-2 weeks. At the end of this fantastic journey, when they have matured and are able to recognize and fertilize the oocyte, the sperm are stored and remain quiescent until the moment of ejaculation. Probably under the influence of endocrine disruptors, recent evidence shows a drastic decline in seminal quality and sperm concentration in men. This is certainly a strong warning sign for domestic and wild animals, which are still little investigated in this regard.

Key-words: Spermatogenesis; Sertoli cell; Sperm production; Epididymis; Sperm maturation.

Introdução

A fase inicial do desenvolvimento testicular é crucial para a fertilidade do macho, bem como para a sua eficiência reprodutiva. Nessa fase, células somáticas presentes na gônada bipotencial se diferenciam em células de Sertoli, as quais determinam o destino das células germinativas primordiais para a linhagem

espermatogênica e formação os cordões testiculares. Além de produzirem o hormônio anti-Mulleriano (AMH), responsável pela regressão dos ductos de Muller (paramesonéfricos) que formam as tubas uterinas, útero e parte da vagina, as células de Sertoli também coordenam a diferenciação de outras células somáticas do testículo. Dentre essas, as células de Leydig que produzem os andrógenos, principalmente a testosterona, que masculinizam o feto e promovem o desenvolvimento dos epididídeos, dos ductos deferentes e das vesículas seminais, a partir dos ductos de Wolff (mesonéfricos). Portanto, a diferenciação e a manutenção da identidade da célula de Sertoli, via fatores específicos, é fundamental para a adequada função reprodutiva masculina na fase adulta. Ademais, o número de células de Sertoli, cujas mitoses são intensas no período fetal e se estendem usualmente até o período que antecede a puberdade, determina a magnitude da produção espermática. Nesta revisão, apresentamos os principais parâmetros que se correlacionam com a magnitude da produção espermática, bem como os fatores responsáveis pela maturação e qualidade dos espermatozoides ejaculados. Os possíveis efeitos deletérios dos desreguladores endócrinos na função reprodutiva serão também comentados. Dentre outros aspectos, esperamos que os tópicos aqui abordados auxiliem na melhor compreensão dos parâmetros relevantes para a avaliação andrológica de animais usados em programas de reprodução.

Testículo e espermatogênese

O testículo é um órgão par envolvido por espessa cápsula de tecido conjuntivo, a túnica albugínea, e tem como funções primordiais a produção de espermatozoides e de andrógenos, que são os hormônios esteroides responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção das características sexuais masculinas. Na grande maioria dos mamíferos esse órgão localiza-se no escroto, o qual se encontra próximo ou na região inguinal. O escroto desempenha a importante função de manter a temperatura da gônada alguns graus Celsius abaixo da temperatura corporal, aspecto esse crucial para a evolução normal da espermatogênese.

Funcionalmente, o parênquima testicular pode ser dividido em dois compartimentos principais: i) o compartimento intertubular ou intersticial, também denominado de espaço intertubular, e ii) o compartimento tubular composto pelos túbulos seminíferos. O compartimento intertubular contém as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e uma população celular variável, constituída principalmente de fibroblastos, macrófagos e mastócitos. Apesar de existir grande variação quanto à proporção volumétrica (%) desses diferentes componentes entre as diversas espécies de mamíferos, a célula de Leydig é usualmente o tipo celular mais frequente nesse compartimento (Tabela 1). Já o compartimento dos túbulos seminíferos constitui a maior parte do testículo, ocupando, na grande maioria dos mamíferos, de 70% a 90% do parênquima testicular (Tabela 1). Os túbulos seminíferos são constituídos por túnica própria, epitélio seminífero e lume tubular. A túnica própria reveste o túbulo externamente, sendo composta de células peritubulares mioides e matriz extracelular.

A espermatogênese é um processo cíclico, altamente complexo e bem organizado, que ocorre nos túbulos seminíferos e que dura cerca de 30 a 75 dias nos mamíferos já investigados. Esse processo é coordenado pelas células de Sertoli e, com auxílio principalmente das células de Leydig e peritubulares mioides, as espermatogônias diploides se dividem e se diferenciam até formar o gameta masculino haploide, o espermatozoide. Baseado em características morfológicas e funcionais, a espermatogênese pode ser dividida em três fases: (a) fase proliferativa ou espermatogonial; (b) fase meiótica ou espermatocitária; e (c) fase de diferenciação ou espermiogênica. As principais características dessas três fases são descritas abaixo:

Fase espermatogonial

Essa fase é composta por várias e sucessivas divisões mitóticas dos diferentes tipos de espermatogônias. Inicialmente, as espermatogônias tronco se dividem para originar outras espermatogônias tronco (autorrenovação) ou espermatogônias comprometidas com o processo de diferenciação que culmina com a formação dos espermatozoides. As espermatogônias tronco fazem parte de uma subpopulação denominada indiferenciada, constituída por espermatogônias A isoladas (Ais), espermatogônias A pareadas (Apr) e espermatogônias A alinhadas (Aal), que podem ter uma ou mais gerações celulares. Por outro lado, dependendo da espécie de mamífero considerada, a subpopulação denominada diferenciada é composta por espermatogônias do tipo A (SPGA), que incluem várias gerações (A₁, A₂, A₃, A₄), espermatogônias intermediárias (SPGIn ou In) e espermatogônias do tipo B (SPGB ou B).

As espermatogônias tronco ou Ais são as células cruciais para a manutenção e progressão da espermatogênese e morfológicamente são únicas por não possuírem pontes citoplasmáticas, enquanto as

Tabela 1. Parâmetros que se correlacionam com a produção espermática diária e trânsito espermático no epidídimo em mamíferos.

Espécies	IGS (%) ¹	TS (%) ²	CL (%) ³	CS por grama de testículo (milhões) ⁴	Espermatídes por CS ⁵	Índice Meiótico ⁶	Duração total da espermatogênese (dias) ⁷	Produção Espermática diária/grama de testículo (milhões) ⁸	Trânsito Espermático no epidídimo (dias) ⁹
Bovino	0,1	73-81	3,9-4,8	28-29	8	3,0-3,6	60-63	11-13	8-11
Búfalo	0,04	76-82	ND	ND	7-10	3,4	39	14	9
Ovino	0,9	80-87	1,1-3,2	8-12		3,1	47-48	20-25	10-16
Caprino	0,35	88-90	1,4	21	15	2,8-3,5	48	30	ND*
Equino	0,12	61-73	13-18	28	9-11	2,8-3,6	55	16-21	5-14
Jumento	0,15	84	3,1	29	15	3,1	47	42	ND
Suíno	0,4	83-85	7-19	16-39	12	3,0-3,8	39-41	20-27	9-12
Javali	0,31	87	6,3	42	7	2,7	41	29	ND
Cateto	0,1-0,2	77	12,8	28	11	3,2	55	23	ND
Cão	0,07-0,3	85-90	3,2-8,5	30-40	6-9	2,5-3,6	57-62	14-22	~14
Gato	0,08	88	6,0	32	5	2,8	47	16	ND
Onça	0,05	75	16,7	29	8	2,8	58	17	ND
Jaguaririca	0,16	83	9,8	46	5	2,9	56	18	ND
Coelho	0,21	87	2,2	25	12	3,3	49-50	25-27	7-13
Chinchilla	0,8-1,2	95	1,0	41	15	3,0	46	58	ND
Capivara	0,12	50	35	19	6	2,1	54	10	ND
Paca	0,2-0,3	93	1,6	43	11	3,2	52	39	ND
Cotia	0,3	91	2,2	57	9	3,0	43	52	ND
Camundongo	0,6-1,0	91-93	3,7-5,3	39-40	10-12	2,1-3,1	39-40	38-48	5-6
Rato	0,8	82-89	2,8	27	8-10	3,4	56-60	14-24	8-10
Hamster	2,2-2,9	93	1,4	35	11		39-41	24	15-16
Sagui	0,36-0,4	92	2,0	35	8	3,5	69	18	ND
Homem	0,08	62	6,4	49	3	1,3	72	4-4,5	6

espermatogônias Apr e Aal estão mais comprometidas com a diferenciação e a formação de espermatozoides. Quando sofrem injúrias ou são transplantadas no testículo de um animal receptor, essas espermatogônias (Apr e Aal) quebram suas pontes citoplasmáticas e comportam-se novamente como espermatogônias tronco isoladas. Neste contexto funcional, as espermatogônias tronco Ais são denominadas de espermatogônias tronco reais (ou verdadeiras), enquanto as Apr e Aal são consideradas espermatogônias tronco potenciais. Nas últimas décadas, diversos fatores moleculares têm sido implicados na regulação das células tronco de mamíferos, enquanto o ácido retinóico, um metabólito ativo da vitamina A, é o principal regulador da transição das espermatogônias indiferenciadas para diferenciadas, bem como do início da meiose.

Embora fuja um pouco do escopo dessa revisão, vale a pena destacar que, além de propiciar o melhor entendimento da biologia das próprias células tronco e das interações entre as células germinativas e as células de Sertoli, o transplante de espermatogônias tronco para um animal receptor representa alto potencial para aplicações em biotecnologia e medicina reprodutiva. Entre essas aplicações podem ser mencionadas a produção de animais transgênicos, a engenharia genética de animais de grande porte, a terapia gênica, o tratamento de infertilidade em machos e a preservação de animais de alto valor zootécnico

e espécies em perigo de extinção.

Fase meiótica ou espermatocitária

Na fase inicial desse processo, denominada de prófase meiótica I, as SPGB sofrem a última divisão mitótica, originando dois espermatócitos primários conhecidos como pré-leptótenos, os quais, embora de menor tamanho, são morfológicamente semelhantes às SPGB. No estágio seguinte, os espermatócitos agora em leptóteno (leptos = fino), apresentam aumento do volume celular e distribuição homogênea dos finos filamentos de cromatina no núcleo, ocorrendo também nesse estágio o término da duplicação do DNA (células 4n). Na próxima etapa, a de zigóteno (zygos = par), ocorre o espessamento cromossômico, bem como o início de pareamento dos cromossomos homólogos e a formação do complexo sinaptonêmico. Esse complexo, fundamental para a precisão do processo meiótico, é constituído de diversas proteínas e se localiza entre os cromossomos pareados. O complexo sinaptonêmico persiste até o final do estágio de paquíteno (pachy = espesso), que é a fase mais longa da prófase meiótica I. A recombinação e a segregação gênica, que são fundamentais para a diversidade de indivíduos da mesma espécie, ocorrem na fase de paquíteno, quando os cromossomos se apresentam completamente pareados e compactos. Durante a meiose I, os paquítenos aumentam significativamente de tamanho antes de se transformarem em diplótenos (diplóos = duplo), os quais se dividem para formar os espermatócitos secundários (células 2n). Essas últimas, que se caracterizam pela morfologia arredondada, citoplasma escasso e núcleo com cromatina condensada, passam rapidamente por uma segunda divisão meiótica (meiose II), resultando assim na formação de células haploides (células 1n), denominadas de espermátides.

Fase espermiogênica ou de diferenciação

Nessa fase, as espermátides arredondadas passam por drásticas alterações morfológicas e funcionais, tais como: i) condensação da cromatina nuclear e compactação do DNA, graças a substituição das proteínas histonas pelas protaminas (proteínas de baixa massa molecular, rica em arginina), propiciando assim enorme remodelamento/alongamento e redução do tamanho celular e eliminação do excesso de citoplasma; ii) formação do acrossoma, da peça intermediária onde se concentram as mitocôndrias, e do flagelo; iii) liberação (espermiação) das espermátides alongadas para a luz dos túbulos seminíferos, sendo as mesmas a partir daí denominadas de espermatozoides. Merece ser ressaltado que as modificações na forma do núcleo e do acrossoma, bem como no tamanho e comprimento do flagelo, resulta nos espermatozoides característicos de cada espécie. Conforme será visto adiante, após o processo de maturação no epidídimo, os espermatozoides adquirem motilidade e tornam-se aptos à capacitação e a fertilização do ovócito.

O desenvolvimento das células germinativas, desde a espermatogônia tronco até a formação dos espermatozoides, usando o suíno como exemplo, segue a seguinte sequência esquemática: Ais (Mitose 1) → Apr (Mitose 2) → Aal (Mitose 3) → A1 (Mitose 4) → A2 (Mitose 5) → A3 (Mitose 6) → A4 (Mitose 7) → In (Mitose 8) → B (Mitose 9) → espermatócitos primários (Meiose 1) → espermatócitos secundários (Meiose 2) → espermátides arredondadas → espermátides alongadas → espermatozoides. Portanto, cerca de 11 divisões celulares (9 mitóticas e 2 meióticas ou reducionais) são necessárias para se formar o espermatozoide a partir de uma espermatogônia tronco ou Ais. Ou seja, se considerarmos somente uma geração de Aal, em tese, uma Ais pode formar no mínimo 1012 espermatozoides.

Finalmente, nos túbulos seminíferos, as células germinativas não estão organizadas ao acaso e sim em associações celulares características - denominadas de estádios - os quais se sucedem com o tempo de maneira bastante ordenada, formando o ciclo do epitélio seminífero. Os estádios do ciclo são usualmente classificados pelo método do sistema acrossômico, no qual o número de estádios varia de seis a quatorze nas espécies de mamíferos já investigadas e pelo método da morfologia tubular, onde 8 estádios do ciclo são obtidos para todas as espécies. Em combinação com técnicas de marcação específicas (ex: radioautografia e imunohistoquímica), o conhecimento das frequências relativas dos estádios do ciclo do epitélio seminífero permite o cálculo da duração total da espermatogênese, que requer cerca de 4,5 ciclos espermatogênicos, bem como dos demais eventos do processo espermatogênico. Assim, é possível estimar-se a produção espermática diária total e por grama de testículo, essa última também denominada de eficiência espermatogênica.

Células de Sertoli e de Leydig

Células de Sertoli

Embora estudos recentes demonstrem que as células de Sertoli localizadas na região de transição

dos túbulos seminíferos e a *rete testis* ainda apresentam capacidade mitótica após a puberdade, é considerado que as células de Sertoli nos testículos de animais sexualmente maduros estão completamente diferenciadas. Durante o processo espermatogênico, as células de Sertoli e as células germinativas interagem de maneira bastante complexa, tanto física quanto bioquimicamente. Dessa forma, de modo cíclico e estágio-dependente, as células de Sertoli exercem diversas funções cruciais para dar suporte à espermatogênese, podendo ser citadas: i) suporte físico (sustentação) e fornecimento de nutrientes e inúmeros fatores de crescimento importantes para o desenvolvimento das células germinativas; ii) formação de dois compartimentos (basal e adluminal) no epitélio seminífero, por intermédio das junções de oclusão entre células de Sertoli adjacentes, criando-se assim uma barreira imunoprivilegiada (denominada barreira de célula de Sertoli ou hematotesticular); iii) fagocitose das células germinativas que sofrem apoptose/degeneração e fagocitose do excesso de citoplasma (ex: corpo residual) das espermátides em processo de diferenciação e/ou maturação; iv) participação ativa no processo de liberação/espermição das espermátides maduras (espermatozoides) para o lume tubular; e v) secreção de fluido em direção ao lume tubular, o qual possui fatores importantes para a função epididimária (ver tópico adiante sobre maturação espermática no epidídimo), servindo também de veículo para transportar os espermatozoides testiculares, ainda imóveis, para o epidídimo. A secreção de fluido também ocorre em direção ao compartimento intertubular do testículo, estando a mesma envolvida nos mecanismos de regulação parácrina dos outros tipos celulares somáticos presentes nesse compartimento. Finalmente, as células de Sertoli são responsáveis pela intermediação hormonal durante os eventos da espermatogênese.

No testículo, o número total de células de Sertoli é o principal fator determinante da magnitude da produção espermática diária. Já é sabido que as células de Sertoli proliferam ativamente durante o desenvolvimento fetal, logo após a diferenciação sexual, alcançando seu pico de proliferação imediatamente antes do nascimento. Durante o período pós-natal e, de modo variado entre as espécies, essa proliferação se estende até a puberdade e coincide com a intensa proliferação dos espermátócitos primários, estabelecimento da barreira de células de Sertoli e a secreção de fluido e formação do lume tubular. É fortemente sugerido na literatura que o hormônio folículo-estimulante (FSH) é o principal fator responsável pela proliferação das células de Sertoli. Outros fatores e hormônios, tais como andrógenos, estrógenos, bem como fatores parácrinos, têm também participação ativa na proliferação das células de Sertoli. Em contrapartida, os hormônios tireoidianos (T3 e T4), por exemplo, cessam a divisão e promovem a maturação dessas células. É estabelecido na literatura que, quanto maior o número de células de Sertoli, maior será a disponibilidade de espaço tecidual para novas espermatogônias tronco e nichos espermatogoniais, resultando em aumento do tamanho do testículo e da produção espermática.

Em animais adultos, de maneira dependente da espécie, cada célula de Sertoli é capaz de suportar um número relativamente fixo de células germinativas, havendo uma correlação positiva entre o número de células de Sertoli e germinativas (eficiência das células de Sertoli). Aliás, desde o início da espermatogênese, no período que antecede a puberdade, a disponibilidade em potencial de espermatogônias tronco e seus nichos parece já estar estabelecida. Por definição, nicho é um microambiente específico onde um “pool” de espermatogônias tronco está preferencialmente localizado no epitélio seminífero, adjacente ao compartimento intertubular do testículo. Este microambiente é responsável pela autorrenovação das espermatogônias tronco e pela quiescência e comprometimento dessas células com a diferenciação. A rede vascular e as células peritubulares mioides e, particularmente, as células de Sertoli, são consideradas elementos chaves desse microambiente. Por outro lado, as células de Leydig desempenham importante papel na diferenciação das espermatogônias tronco e no comprometimento das mesmas com a formação dos espermatozoides.

Células de Leydig

As células de Leydig são bastante conhecidas por sua marcante produção de hormônios androgênicos, que ocorre sob o estímulo do hormônio luteinizante (LH). À semelhança do FSH, o LH é uma glicoproteína sintetizada e secretada na adenohipófise, por influência do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) proveniente do hipotálamo. Nos testículos, há expressão de receptores para andrógenos nas células de Sertoli, células peritubulares mioides, musculares lisas dos vasos sanguíneos e, na própria célula de Leydig. Conforme foi comentado anteriormente, na fase inicial do desenvolvimento do testículo, os andrógenos sintetizados pelas células de Leydig fetais são responsáveis pela diferenciação do trato genital e da genitália externa masculina. Já os andrógenos produzidos pela população de células de Leydig adultas determinam o aparecimento dos caracteres sexuais secundários. A partir da puberdade, os andrógenos são encarregados pela manutenção quantitativa da espermatogênese, bem como pela regulação funcional das glândulas sexuais acessórias e do epidídimo (ver adiante).

Além da produção de esteroides sexuais, as células de Leydig também apresentam funções na homeostase testicular, principalmente na manutenção do ambiente testicular imunoprivilegiado. Essas células podem mediar a regulação da população de leucócitos testiculares e, assim, garantir a imunorregulação testicular. É considerado ainda que os hormônios corticoides, sintetizados em células testiculares, também apresentam importante efeito anti-inflamatório e imunomodulador no testículo.

Duração e quantificação da espermatogênese

A duração da espermatogênese é uma constante biológica espécie-específica que está sob o controle do genótipo da célula germinativa e cerca de 4,5 ciclos são necessários para que o processo espermatogênico se complete em mamíferos, desde uma espermatogônia do tipo A até a liberação dos espermatozoides no lume do túbulo seminífero. Nas espécies de mamíferos já investigadas (~1,5% de aproximadamente 5.400 espécies existentes), a duração da espermatogênese está situada num intervalo de tempo compreendido entre aproximadamente 30 e 75 dias. Merece ser mencionado que, diferentemente do número de gerações de espermatogônias, fatores filogenéticos parecem não ser determinantes para a duração da espermatogênese.

A espermatogênese é um processo bastante produtivo. Assim, em algumas espécies uma espermatogônia tronco (Ais) pode sofrer até 11 divisões celulares até se tornar espermatócito e teoricamente formar até 4096 espermatozoides - o que pode resultar, dependendo da espécie considerada, na produção diária de 4 a 40 milhões de espermatozoides por grama de testículo, também denominada de eficiência espermatogênica. Usualmente, há forte correlação positiva entre o diâmetro tubular e a atividade espermatogênica. Portanto, a avaliação quantitativa das células que compõem o epitélio seminífero, em secções transversais de túbulos seminíferos, é bastante útil para o entendimento desse processo, tanto em condições experimentais quanto patológicas. Em particular, o número de células germinativas suportadas por uma única célula de Sertoli (denominado de índice ou eficiência de célula de Sertoli) é considerado o parâmetro mais importante para se determinar a eficiência da produção espermática por unidade de área. Merece ser ressaltado que a obtenção da proporção volumétrica (%) entre os diversos componentes do testículo, bem como a estimativa do tamanho e número de células de Leydig por testículo, também fornecem importantes informações para se avaliar a função testicular.

A estimativa da produção espermática diária por grama de testículo, também conhecida como eficiência espermatogênica ou PED/G/T, é uma abordagem bastante eficaz para se avaliar o potencial reprodutivo de cada espécie, sendo também bastante útil para comparações entre diferentes espécies. Vários métodos têm sido utilizados para se avaliar a produção espermática diária. De forma comparativa, destacamos aqui alguns comentários julgados pertinentes acerca dos parâmetros considerados importantes na determinação da magnitude da eficiência espermatogênica em diversas espécies de mamíferos que já foram relativamente bem investigados (Tabela 1). Inicialmente, pode ser mencionado que espécies que possuem alto índice gonadossomático (IGS ou massa testicular/peso corporal) apresentam maior eficiência espermatogênica. Ainda, em comparação com espécies de maior porte, usualmente aquelas de menor porte alocam maior proporção da massa corporal e energia para a manutenção dos testículos e da produção espermática. Estes aspectos relacionam-se também com o comportamento sexual e com as estratégias reprodutivas. Num outro cenário, espécies com maior eficiência reprodutiva também apresentam alta proporção relativa (%) de túbulos seminíferos no parênquima testicular, denotando que maior espaço é dedicado a produção espermática. Paradoxalmente, nessas espécies, o percentual ocupado pelas células de Sertoli no epitélio seminífero é menor, ou seja, células de Sertoli com menor tamanho são mais eficientes.

Um outro parâmetro importante na determinação da magnitude da produção espermática é o número de gerações de espermatogônias diferenciadas. Esse número, que é característico de cada espécie e aparentemente determinado filogeneticamente, dita a quantidade de células germinativas que entra em meiose. Por exemplo, em contraste com humanos, quase dez divisões celulares ocorrem nessa fase da espermatogênese nos bovinos e suínos. No entanto, devido a ocorrência de apoptoses, deve ser ressaltado que grande quantidade de perdas celulares ocorre normalmente nessa fase, apoptoses essas que são também frequentes na fase meiótica (em média 20-30%). Levando-se em consideração essas perdas celulares, somente ~3-4 espermatozoides são efetivamente formados para cada 10 teoricamente esperados.

A duração total da espermatogênese é também um parâmetro muito importante na determinação da magnitude da produção espermática. Assim, espécies que apresentam curta duração desse processo normalmente mostram alta eficiência espermatogênica, à exemplo de suínos que contrasta sobremaneira com o observado para humanos e mesmo para bovinos.

Quanto ao trânsito espermático no epidídimo, os dados compilados da literatura mostram que a passagem dos espermatozoides por este órgão requer de 5 a 16 dias nas poucas espécies de mamíferos já

investigadas. O tempo requerido para a maturação espermática, que ocorre principalmente nas regiões mais proximais do epidídimo (cabeça e corpo epididimário), é usualmente cerca de 2 a 5 dias. Dessa forma, ao que parece, poucos dias são necessários para que os espermatozoides adquiram seu potencial de fertilização. A literatura mostra ainda que a frequência de ejaculação e de coleta do sêmen não influenciam o trânsito espermático no epidídimo.

Baseado na Tabela 1, pode ser sumarizado que a alta eficiência espermatogênica observada em determinadas espécies de mamíferos é decorrente principalmente dos seguintes fatores: i) elevado índice gonadossomático; ii) alto percentual de túbulos seminíferos no parênquima testicular; iii) maior número de gerações espermatogoniais; iv) menor número de perdas celulares durante a espermatogênese; v) elevado número de células de Sertoli por grama de testículo; vi) alta capacidade de suporte (eficiência) dessas células somáticas; além da vii) curta duração da espermatogênese. O tempo requerido para o trânsito espermático no epidídimo pode também influenciar a produção espermática diária.

Epidídimo e maturação espermática

O epidídimo é um importante órgão constituído por um ducto único, longo e altamente enovelado, que conecta os ductos eferentes ao ducto deferente. Dependendo da espécie, o epidídimo pode ser dividido anatômica e morfologicamente em diferentes regiões, denominadas segmento inicial (em roedores), cabeça, corpo e cauda epididimária. Cada região apresenta composições celulares e funções bastante variadas, o que é denotado pela sua complexa citoarquitetura e regulação funcional. As funções principais do epidídimo são as de transportar, proteger e manter um microambiente luminal propício a maturação dos espermatozoides (Figura 1). A saga dos espermatozoides se inicia quando os mesmos são liberados ainda imóveis na luz dos túbulos seminíferos. Ao final de sua fantástica jornada, ao longo do ducto epididimário, quando adquirem a maturação, ou seja, motilidade progressiva e capacidade de reconhecer e fecundar o oócito, os gametas já maduros são estocados e permanecem de forma quiescente até o momento da ejaculação.

Os tipos celulares constituintes do epitélio do ducto epididimário são as células principais, basais, apicais, estreitas, claras e as células halo (Figura 1), os quais desempenham funções distintas ao longo desse ducto. Nesse contexto, merece ser ressaltado que cada região do epidídimo apresenta diferenças quanto a altura do epitélio e comprimento dos estereocílios, que são mais proeminentes na região mais proximal do que distal do tecido. De maneira similar, o diâmetro luminal e a espessura da musculatura lisa que circunda o epitélio aumentam de forma gradativa ao longo do tecido. A distribuição dos tipos celulares presentes no epitélio e interstício (incluindo-se as células imunológicas) também variam de forma significativa no epidídimo. Em particular, a inervação por nervos autonômicos (adrenérgicos e colinérgicos) e não autonômicos (serotoninérgicos, histaminérgicos, entre outros) é mais abundante na região mais distal do ducto epididimário. Num outro aspecto, a expressão gênica e o perfil de síntese e secreção de proteínas, que variam significativamente ao longo do desse ducto, propicia microambientes luminiais altamente especializados e distintos.

A maturação dos espermatozoides, que é crucial para a fertilidade masculina, se inicia com a atividade das células epiteliais principais da região proximal do epidídimo. Essas células, juntamente com as células epiteliais presentes nos ductos eferentes são responsáveis pela reabsorção de praticamente 90% do fluido luminal produzido pelas células de Sertoli. Esse importante processo, que ocorre sob forte influência hormonal (por exemplo, estrógenos), resulta em drástico aumento da concentração de espermatozoides (~10 vezes) no lume epididimário. Num outro aspecto e à semelhança do testículo, as junções de oclusão localizadas na parte mais apical das células epiteliais (barreira hemato-epididimária) fazem com que o epidídimo esteja altamente preparado para garantir a necessária proteção dos espermatozoides, durante o trânsito e estocagem dos mesmos.

Pelo o que já foi comentado acima, fica claramente evidenciado que o papel do epidídimo no transporte, maturação e estocagem espermática é um processo contínuo, altamente modulado ao longo das diferentes regiões do órgão. Ao final de sua jornada, o espermatozoide que se encontra armazenado na

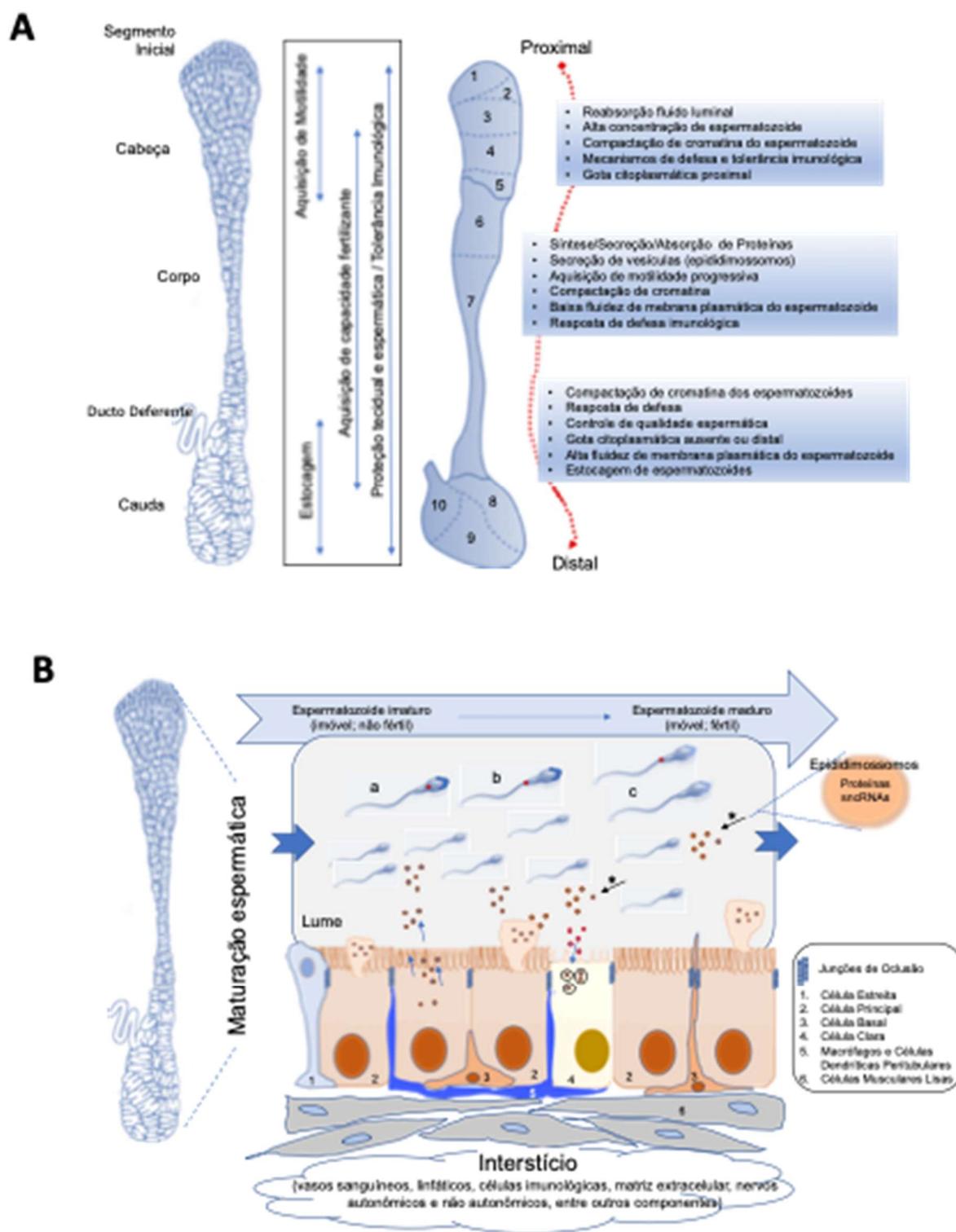


Figura 1. Estrutura e principais funções do epidídimo. (A) Diagrama representativo do epidídimo de camundongo já na fase adulta, ilustrando a estrutura altamente compactada deste órgão e enovelada do ducto epidimário. As regiões epididimárias (segmento inicial, cabeça, corpo e cauda), bem como a visualização espacial de suas principais funções (maturação e proteção espermática, tolerância imunológica e estocagem na região da cauda) são também mostradas. No caso do camundongo, a existência de septos de tecido conjuntivo leva a subdivisão das diferentes regiões do epidídimo em 10 segmentos. (B) Ilustração dos principais tipos de células epiteliais, muscular lisa e imunológicas que, para fins didáticos, estão identificadas pelos números de 1 a 6 na figura (inserto, lado direito). As células principais, basais, claras e estreitas, assim como células imunológicas residentes, atuam em conjunto para promover a maturação

espermática. As células principais (colunares, com estereocílios), as mais abundantes ao longo do tecido, controlam diretamente a secreção de proteínas e outros componentes para o lumen epididimário; as células basais (mais achatadas e triangulares), presentes na base da membrana basal do epitélio, comumente apresentam extensões celulares que monitoram o meio intraluminal; células apicais, com poucos microvilos associados à sua borda luminal; células estreitas (alongadas), que são mais abundantes na região mais distal do epidídimo; células claras, com núcleo bastante condensado e circundado por um citoplasma claro. O interstício é composto por tecido conjuntivo contendo matriz extracelular, células imunológicas (macrófagos, células dendríticas e linfócitos), vasos sanguíneos e linfáticos, células de musculatura lisa que circundam o ducto epididimário e nervos que variam ao longo do tecido. Há destaque para os eventos de secreção de material proteico pelo epitélio (secreção de vesículas com origem no complexo de Golgi, e, ainda, formação e liberação dos epididimossomos, que são vesículas extracelulares carreadoras de cargas de proteínas e população heterogênea de sncRNAs, como por exemplo, microRNA, piRNA e RNAi). Durante o trânsito epididimário, há várias modificações estruturais que ocorrem nos espermatozoides, incluindo-se a mudança de localização da gota citoplasmática (em destaque pelas letras a, b e c) e compactação da cromatina no acrossomo. Na maioria das espécies de mamíferos é normal observar que alguns espermatozoides ainda apresentem retenção da gota citoplasmática nos gametas presentes no ejaculado. *Imagens usadas com permissão da Editora Manole (ver França & Avellar, 2024).

cauda epididimária em estado quiescente até a ejaculação, tem sua atividade metabólica aumentada de 3 a 5 vezes. De maneira geral, os espermatozoides nessa região do epidídimo representam cerca de 50-80% dos espermatozoides presentes em todo o órgão, podendo ser armazenados por vários dias ou mesmo meses, dependendo da espécie de mamífero considerada. Em animais que ejaculam diariamente, o tempo de permanência dos espermatozoides nessa região é menor, sendo mantido um estoque em torno de 25% do total da produção diária. Merece ser mencionado que o gradiente de maturação e aquisição de fertilidade dos espermatozoides, ao longo do ducto epididimário, varia consideravelmente nas diferentes espécies de mamíferos já investigadas. Por exemplo, em suínos e ovinos espermatozoides apresentando motilidade já são observados na transição da cabeça para a cauda do epidídimo.

Todas as funções do epidídimo são reguladas primariamente pelos andrógenos (testosterona) que chegam a esse órgão pelo fluido testicular, associados à proteína ligadora de andrógenos (ABP – do inglês *androgen binding protein*), ou pela circulação sanguínea. No epidídimo, grande parte da testosterona é convertida em seu metabólito ativo, a di-hidrotestosterona (DHT), pela enzima 5 α -redutase. Outros hormônios, como estrógenos e glicocorticoides, bem como fatores de crescimento de origem testicular, fatores parácrinos, pequenos RNA não codificadores, em sua grande maioria dependentes da ação androgênica, também regulam a função e a manutenção da estrutura epididimária.

Conforme já foi comentado acima e dependendo da espécie considerada, o trânsito espermático no epidídimo dura entre 1 e 2 semanas (Tabela 1). À medida que progridem no epidídimo, os espermatozoides sofrem mudanças na compactação nuclear, remodelagem acrossomal, migração da gota citoplasmática, composição da membrana plasmática, bem como na estrutura e nos componentes do citoesqueleto. Particularmente em relação a gota citoplasmática (gota proximal), localizada próxima a junção do flagelo com o núcleo do espermatozoide, a mesma migra para a peça intermediária (gota distal) quando o espermatozoide atinge a cauda do epidídimo. Na maioria das espécies, as gotas distais são eliminadas espontaneamente do espermatozoide durante a ejaculação, sendo então misturadas aos fluidos das glândulas acessórias do trato reprodutor que formam o sêmen. Em alguns animais, como o touro e o carneiro, por exemplo, proteínas ligadas a fosfolípidios, sintetizadas nas ampolas dos ductos deferentes e nas vesículas seminais, induzem a liberação da gota citoplasmática. Finalmente, espermatozoides anormais ou em degeneração são eventualmente fagocitados/removidos durante o trânsito epididimário pelas células claras e macrófagos intra-epiteliais presentes na cauda do epidídimo.

Desreguladores endócrinos e seus potenciais impactos negativos na fertilidade masculina

Os desreguladores endócrinos são compostos exógenos, naturais ou sintéticos, capazes de mimetizar, antagonizar ou modular a ação de hormônios endógenos, interferindo em processos como síntese, transporte, metabolismo e sinalização hormonal. Essas substâncias incluem grupos amplamente utilizados na indústria e agricultura e seus subprodutos, como bisfenóis, ftalatos, pesticidas, fungicidas dioxinas, bifenilos policlorados e metais pesados (como chumbo e mercúrio). De maneira geral, as mesmas são encontradas em plásticos e plastificantes, alimentos processados, produtos de higiene, resíduos industriais, substâncias químicas naturais como fitoestrógenos e fármacos antiandrogênicos de uso clínico. A exposição a essas substâncias ou compostos pode ocorrer por múltiplas vias, como por exemplo a ingestão pelo trato gastrointestinal, inalação de partículas e vapores, absorção dérmica e transmissão transplacentária. A persistência ambiental e a bioacumulação desses compostos no organismo agravam a

sua toxicidade potencial, mesmo em baixas doses, tornando os mesmos motivos de alta preocupação no dito mundo moderno.

Particularmente em relação a função reprodutiva do macho, evidências experimentais e clínicas mostram que esses compostos afetam o eixo hormonal (hipotálamo-hipófise-gônada), acarretando estresse oxidativo, alterações de processos celulares essenciais à espermatogênese e a promoção de modificações epigenéticas com potencial transgeracional. Apesar de muitos desses efeitos serem potencialmente graves, alguns deles podem ser reversíveis, especialmente quando identificados precocemente e com a interrupção da exposição. Essa reversibilidade depende de fatores como o tempo, a intensidade da exposição e o estágio do desenvolvimento do organismo em que ela ocorre. Por exemplo, exposições severas durante o período fetal podem induzir sérias alterações estruturais e funcionais no testículo, levando a síndrome de disgenesia testicular que representa alto risco para a infertilidade e para a ocorrência de câncer testicular.

O epidídimo pode também ser alvo de desreguladores endócrinos. Essas desregulações da função epididimária podem ter origem testicular, epididimária ou sistêmica, acarretando deficiências da maturação e da motilidade espermática, assim como prejuízos na resposta de tolerância imunológica aos espermatozoides (anticorpos antiesperma). Como consequência, déficits na fertilidade masculina ou até mesmo infertilidade podem ocorrer. Esses pontos justificam o procedimento comum na prática clínica e veterinária de se avaliar o perfil de alterações do sêmen, usado como indicador de qualidade e potencial de fertilidade do macho. Finalmente, as recentes e substanciais evidências de declínio significativo na qualidade seminal, especialmente na concentração espermática, em homens, acende uma luz amarela para a função reprodutiva nos animais domésticos e, mesmo nos silvestres, que carecem de mais investigações nesse aspecto.

Agradecimentos

Ao CNPq, à CAPES e às fundações estaduais de amparo à pesquisa, FAPEMIG e FAPESP, pelo constante apoio.

Referências

- Avellar MCW, Hinton BT.** Epididymis. In: Huhtaniemi I (ed). *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 2.ed. Oxford: Elsevier Science & Technology Books, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.65180-2>.
- Avellar MCW, Ribeiro CM, Dias-Da-Silva MR, Silva EJR.** In search of new paradigms for epididymal health and disease: innate immunity, inflammatory mediators, and steroid hormones. *Andrology*, V.7, p.690-702, 2019.
- Chen H, Alvez MBR, Belleannée C.** Contribution of epididymal epithelial cell functions to sperm epigenetic changes and the health of progeny. *Human Reproduction Update*, v.28, p.51-66, 2022.
- De Grava Kempinas W, Klinefelter GR. Interpreting histopathology in the epididymis. *Spermatogenesis*, v.4, doi.org/10.4161/21565562.2014.979114. 2015.
- Ferreira LG, Ribeiro CM, Dias-Da-Silva MR, Avellar MCW.** *Hormônios Androgênicos*. In: Sato MA (ed). *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan Ltda, 2021.
- França LR; Avellar MCW.** Espermatogênese, transporte e maturação espermática. In: Luz MR; Caleghini ECC; Brandão FZ (eds). 1.ed. v.1. *Reprodução Animal: fisiologia e biotecnologia avançada*. Santana de Parnaíba: Manole, p.43-66, 2024.
- França LR, Avelar GF, Almeida FFL.** Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*, V.63, p.300-318, 2005.
- França LR, Hess RA.** Espermatogénesis y su ciclo en el testículo humano. In: Oscar A. Levalle; Ricardo Calandra (eds). *Andrología Molecular y Clínica - Interacciones*. 1.ed. Buenos Aires: Ascune, p.41-59, 2022.
- França LR, Hess RA, Dufour JM, Hofmann MC, Griswold MD.** The Sertoli cell: one hundred fifty years of beauty and plasticity. *Andrology*, v.4, p.189-212, 2016.
- França LR; Russell LD.** The testis of domestic animals. In: Regadera J; Garcia M (eds). *Male reproduction: a multidisciplinary overview*. Madrid: Churchill Livingstone, p.197-219, 1998.
- França LR, Russell LD, Cummins JM.** Is human spermatogenesis uniquely poor? *Annual Review of Biomedical Sciences*, v.4, p.19-40, 2002.
- Hess RA, Franca LR.** Spermatogenesis and Cycle of the Seminiferous Epithelium. In: Cheng CY (eds), *Advances in Experimental Medicine and Biology (Molecular Mechanisms in Spermatogenesis)*, New York: Springer, v.636, p.1-15, 2009.
- Hinton BT, Avellar MCW.** Wollfian Duct Development. In: Michael Skinner (ed) *Encyclopedia of*

Reproduction, 2.ed. v.1., Oxford, Elsevier Science & Technology Books, 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64367-2>.

Robaire B, Hinton BT, Orgebin-Crist M-C. The epididymis. In: Jimmy, D.N., et al. (Eds.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3.ed. St. Louis: Academic Press, p.1071–1148, 2015.

Sharpe RM. Endocrine disruption and male reproductive disorders: unanswered questions. Human Reproduction, v.39, p.1879-1888, 2024.

Russell, LD, Ettlin, RA, Sinha Hikim, AP, Clegg, ED. Histological and Histopathological Evaluation of the Testis. Clearwater: Cache River Press, 1990.

Skakkebak NE, Lindahl-Jacobsen R, Levine H, Andersson A-M, Jørgensen N, Main KM, Lidegaard O, Priskorn L, Holmboe SA, Bräuner EV, Almstrup K, Franca LR, Znaor A, Kortenkamp A, Hart RJ, Juul A, Environmental factors in declining human fertility. Nature reviews endocrinology, v. 18, p.139-157, 2022.
