

MATURAÇÃO, CAPACITAÇÃO, REAÇÃO ACROSSÔMICA E MOVIMENTO ESPERMÁTICO

(Maturation, capacitation, acrosome reaction and sperm movement)

Laís Dantas FERREIRA*; Ana Thays dos Santos da SILVA; Evelyn de Castro PINHERO; Glenda Roberta Freire LIMA; Ricardo TONIOLLI

Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (FAVET/UECE), Av. Dr Silas Munguba, 1700. Campus do Itapery, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903. *E-mail: dantas.ferreira@aluno.uece.br

RESUMO

Os espermatozoides são formados por meio do processo de espermatogênese, que envolve eventos de diferenciação celular, mitose e meiose. No entanto, após sua formação ainda é necessário que esses espermatozoides passem por alguns processos de maturação para que atinjam sua capacidade fertilizante, a maturação e a capacitação espermática. A maturação espermática ocorre durante o trânsito do espermatozoide pelo epidídimo, e envolve importantes alterações morfológicas e fisiológicas no espermatozoide, envolvendo mudanças sequenciais na composição bioquímica da célula espermática. Já a capacitação espermática ocorre após a ejaculação iniciando no istmo da tuba uterina, sendo essencial um período de permanência no trato reprodutivo da fêmea para que se tornem aptos à fertilização, passando por severas mudanças bioquímicas e fisiológicas. Ademais, após a capacitação espermática, ocorre o evento chamado reação acrossômica, possibilitando que os espermatozoides atravessem a zona pelúcida e se fundam com a membrana plasmática do oócito. Além disso, um fator determinante para que ocorra a fecundação é a movimentação espermática, visto que sua amplitude através da cauda do espermatozoide, promove a propulsão e a capacidade de seu deslocamento até o oócito. A avaliação e o estudo de todos os esses mecanismos são essenciais para determinação da eficiência reprodutiva de diversas espécies.

Palavras-chaves: Capacitação espermática, espermatozoides, movimento espermático.

ABSTRACT

Spermatozoa are formed through the process of spermatogenesis, which involves events of cell differentiation, mitosis, and meiosis. However, after their formation, it is still necessary for these spermatozoa to undergo some maturation processes in order to reach their fertilizing capacity, maturation and sperm capacitation. Sperm maturation occurs during sperm transit through the epididymis and involves important morphological and physiological changes in the sperm, involving sequential changes in the biochemical composition of the sperm cell. On the other hand, sperm capacitation occurs after ejaculation, starting in the isthmus of the fallopian tube, and a period of permanence in the female reproductive tract is essential for them to become capable of fertilization, undergoing severe biochemical and physiological changes. Furthermore, after sperm capacitation, the event called the acrosome reaction occurs, allowing sperm to cross the zona pellucida and fuse with the oocyte plasma membrane. In addition, a determining factor for fertilization to occur is sperm movement, since its amplitude through the sperm tail promotes propulsion and the ability to move it to the oocyte. The evaluation and study of all these mechanisms are essential to determine the reproductive efficiency of different species.

Keywords: Sperm capacitation, sperm, sperm movement.

INTRODUÇÃO

Os espermatozoides, gametas masculinos, são formados dentro dos túbulos seminíferos dos testículos envolvendo uma série de eventos celulares de mitoses e meioses em um processo denominado espermatogênese. Este processo contém estágios celulares sucessivos, através dos quais as espermatogônias, derivadas das células germinativas

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

primordiais, se diferenciam em espermatócitos, posteriormente em espermátides e por fim em espermatozoides (HAFEZ e HAFEZ, 2004; CHOCU *et al.*, 2012; SCHLATT e EHMCKE, 2014). Após sua formação nos túbulos seminíferos ainda são necessários dois processos maturacionais extratesticulares para que os espermatozoides ganhem capacidade fertilizante: a maturação e a capacitação do epidídimo (GERVASI e VISCONTI, 2017).

Essas células completamente desenvolvidas são alongadas, com uma cabeça e uma cauda, e unidos pela região do colo, sendo o aparelho necessário para a motilidade celular. O espermatozoide é todo recoberto pelo plasmalema (membrana plasmática). A sua cabeça possui formato arredondado e achatado, contendo na porção superior o acrossoma e sendo constituída pelo núcleo e uma pequena quantidade de citoplasma. A cauda é formada de colo ou pescoço e peças intermediária, principal e terminal (HAFEZ e HAFEZ, 2004; CUNHA, 2019).

Após sua formação no ambiente testicular, os espermatozoides recém formados presentes na luz dos túbulos seminíferos são transportados para o epidídimo, onde serão maturados e armazenados até a sua liberação para o meio externo, no momento da ejaculação. Este processo de maturação espermática é necessário para que o espermatozoide comece a adquirir sua capacidade potencial de fertilizar o oócito e envolve intensas alterações morfológicas e bioquímicas resultante de interações entre os espermatozoides e o microambiente epididimário. Abrange várias modificações funcionais, incluindo desenvolvimento do potencial para sustentar a motilidade, perda de água progressiva, migração distal e eventual perda da gota citoplasmática (HAFEZ e HAFEZ, 2004; OLIVA *et al.*, 2009).

Após a ejaculação os espermatozoides ainda não possuem a habilidade total de fertilizar os oócitos, pois mesmo dotados de motilidade e morfologicamente maduros, necessitam passar por um processo chamado capacitação espermática que ocorre durante o período de permanência no trato reprodutivo da fêmea e assim se tornam totalmente competentes quanto à fertilização. Várias mudanças intracelulares ocorrem durante este processo que contribuem para o aumento da afinidade com a Zona Pelúcida, hiperatividade flagelar e posteriormente a indução da reação acrossômica (SILVA, 2006; GERVASI e VISCONTI, 2016; SHIVAJI *et al.*, 2007).

A passagem dos espermatozoides pelos envelopes ovulares do gameta feminino envolve interações de superfície celular, possibilitando o contato e a fusão das membranas plasmáticas dos gametas (espermatozoide e oócito). Nesse processo ocorre a reação acrossômica que é induzida quando o receptor do espermatozoide se liga a receptores específicos da zona pelúcida e consiste na liberação do conteúdo enzimático presente na vesícula acrossômica que permitem que os espermatozoides atravessem a zona pelúcida e se fundam com a membrana plasmática do oócito (BITTENCOURT *et al.* 2006; SILVA, 2006)

Posteriormente a estes inúmeros mecanismos e eventos o espermatozoide, finalmente, consegue alcançar o oócito, ocorrendo a união dos gametas, através da fecundação ou fertilização e subsequente formação do zigoto. Assim, esse trabalho consiste em uma revisão de literatura e tem como objetivo abordar os diversos eventos que ocorrem desde a maturação espermática até a reação acrossômica, demonstrando seus mecanismos e sua importância para formação de um espermatozoide totalmente apto para fecundação.

DESENVOLVIMENTO

Maturação espermática

Ela ocorre durante o trânsito do espermatozoide pelo epidídimo, logo após a sua saída dos túbulos seminíferos, e é necessária para que o espermatozoide desenvolva sua habilidade inicial de fertilizar o oócito. Abrange importantes alterações morfológicas e fisiológicas, envolvendo mudanças sequenciais na composição bioquímica da célula espermática (DACHEUX e DACHEUX, 2014; GERVASI e VISCONTI, 2017; CUNHA, 2019).

Cada segmento do epidídimo (cabeça, corpo e cauda) apresenta características distintas, com expressão diferenciada de genes e mantém concentrações de íons luminiais distintas, essenciais para regular as etapas de maturação dos espermatozoides, assim cada em cada segmento ocorrem diferentes alterações (CORNWALL, 2009; DACHEUX e DACHEUX, 2014; GERVASI e VISCONTI, 2017). Dentre as alterações estão a diminuição na proporção colesterol:fosfolipídios da membrana, mudanças no perfil de proteínas, condensação final da cromatina, trânsito da gota citoplasmática (GC) localizada na região proximal para a região distal e a aquisição da motilidade progressiva e da capacidade de fecundação (Fig. 01) (CUNHA, 2019).

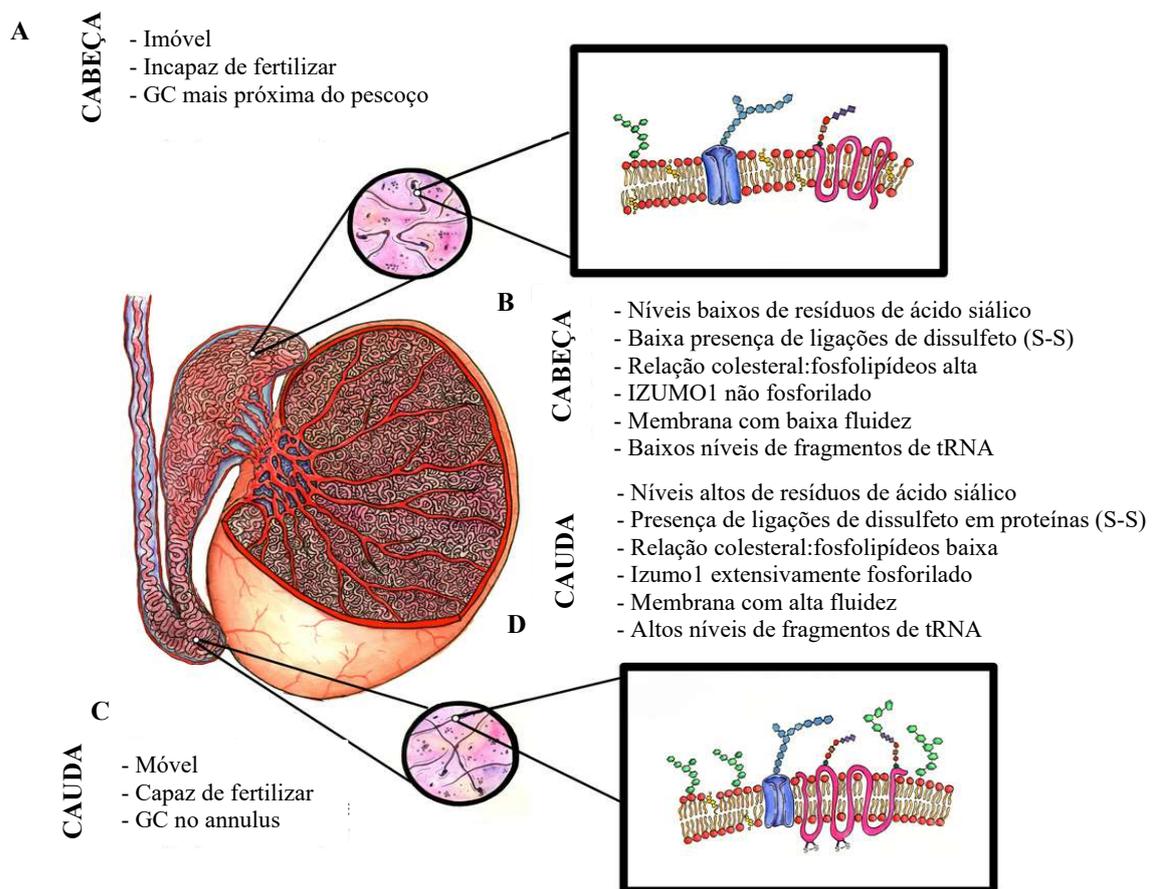


Figura 01: Características do espermatozoide em cada porção do epidídimo sua maturação e modificações durante o trânsito epididimário. (Fonte: GERVASI e VISCONTI, 2017)

Na cabeça do epidídimo ocorre a reabsorção da maioria dos fluidos provenientes dos túbulos seminíferos e início da migração da GC, que geralmente ocorre na cabeça distal até a chegada do espermatozoide no corpo proximal do epidídimo. A GC é um remanescente de citoplasma de células germinativas. Sua migração é uma das alterações morfológicas mais visíveis, ocorrendo do colo ou região proximal da peça intermediária para a região distal da peça intermediária do espermatozoide. Os espermatozoides a perdem durante a ejaculação e sua presença no ejaculado pode afetar a fertilidade espermática em animais que apresentam esse remanescente citoplasmático, apesar de nem todas serem removidas (DACHEUX e DACHEUX, 2014; GERVASI e VISCONTI, 2017; SOARES e NEVES, 2020).

No corpo do epidídimo ocorre parte da migração da gota citoplasmática, a aquisição da habilidade de se ligar à zona pelúcida do ovócito, a ativação da cascata de fosforilação da proteína tirosina induzida pelo AMPc, sendo um dos fatores responsáveis por desencadear movimentos vibratórios, e a condensação final da cromatina. A condensação da cromatina envolve a reticulação das protaminas em decorrência da formação de pontes de dissulfeto e diminuição da água remanescente do processo de espermatogênese, aumentando ainda mais a compactação da cromatina. A cauda do epidídimo atua como reservatório, garantindo a viabilidade espermática e o armazenamento de células viáveis e aptas à fecundação, para serem liberados na ejaculação, ou gradualmente fagocitados sem a ejaculação (CUNHA, 2019).

Durante o trânsito epididimário, os espermatozoides sofrem alterações em seu conteúdo de proteínas, lipídios e açúcares. As alterações nas proteínas dos espermatozoides ocorrem através de transformações pós-traducionais das proteínas já existentes e através da incorporação de proteínas sintetizadas pelo epitélio epididimal que se aderem à membrana espermática através do contato direto do espermatozoide com o epitélio, ou através do trânsito de epididimossomos (DIAS *et al.*, 2014; GERVASI e VISCONTI, 2017).

Algumas dessas proteínas adquiridas estão envolvidas no desenvolvimento de funções espermáticas, como a motilidade, capacitação, reação acrossômica, interação espermatozoide-zona pelúcida e fertilização. Algumas proteínas adquiridas são identificadas como marcadores de células defeituosas, através de marcadores como a ubiquitina, a ELSPBP1 e a Proteína Epididimária de Ligação Espermática 1 (SUTOVSKY *et al.*, 2001; D'AMOURS *et al.*, 2012; GERVASI e VISCONTI, 2017). Além da adição e alteração de proteínas, estudos demonstraram que também ocorre a remoção destas (AKINTAYO *et al.*, 2015; CUNHA, 2019).

A maioria das proteínas espermáticas do grupo tiol, localizadas no flagelo, sofrem modificações durante o trânsito no epidídimo. São ricas em cisteína e formam uma ponte de dissulfeto através de reações oxidativas, entre duas cisteína, resultando em proteínas rígidas com ligações de aminoácidos altamente estáveis, para funções estruturais do espermatozoide. Por meio da oxidação de proteínas tiol, as ligações de dissulfeto são reduzidas, gerando uma estabilização gradual de regiões da célula ricas em proteínas tiol, como o flagelo, favorecendo a motilidade espermática (DIAS *et al.*, 2014; GERVASI e VISCONTI, 2017; CUNHA *et al.*, 2019). Em ratos, à medida que espermatozoides transitam pelo epidídimo, a oxidação gradual dos grupos tiol acontece, seguida do surgimento da motilidade (SHALGI *et al.*, 1989).

Além de proteínas, estão presentes no fluido epididimário alguns compostos como glicoproteínas, enzimas pertencentes ao grupo das glicosidases (β -D-galactosidades, β -N-acetil

glucosaminidase, α -fucosidase, α -glucosidase e α -manosidase) e aminoácidos como a carnitina, um agente delipidante. Esses componentes estão envolvidos em alguns processos como a formação do conteúdo acrossomal, migração da gota citoplasmática e capacidade de a célula espermática reconhecer de sítios específicos sobre a superfície dos ovócitos no momento da fecundação (TULSIANI *et al.*, 1993; DACHEUX *et al.*, 2003; CUNHA, 2019).

Além disso, os espermatozoides sofrem alterações moleculares em sua superfície, como adição, remoção e/ou modificação de açúcares e lipídios externos da sua membrana plasmática. Ademais, ocorrem modificações na homeostase lipídica, na maioria das espécies, há uma diminuição média na razão colesterol:fosfolípido entre as membranas plasmáticas dos espermatozoides (Tab.01) (GERVASI e VISCONTI, 2017).

Tabela 01: Alterações no conteúdo lipídico do esperma durante a maturação do epidídimo em diferentes espécies.

Espécies		Touro	Bode	Rato	Coelho	Carneiro	Cavalo
Lectina	Resíduo de açúcar	Comparação da cabeça vs cauda do espermatozoide					
Con A	D-manose D-glicose	↓	=	↓ a	= a	=	ND
SBA	D-N-acetil-galactosamina	=	=	ND	ND	↓	ND
RCA	D-galactose e L-arabinose	=	ND	ND	↓ a	↓	↓
PNA	D-galactose	↑ acrossoma	=	ND	ND	↓	↓
WGA	Ácido siálico e N-acetil-D-glucosamina	↓	↑ acrossoma	↑ b	↓ a ↑ acrossoma b	↑	↑
DBA	D-N-acetil-galactosamina	↓	↑	ND	ND	ND	=
UEA	α -L-fucose →	=	↑	ND	ND	↑	=
PSA	D-manose	ND	ND	ND	ND	ND	↓ (118 KDa) a ↓ (58 KDa) a
Referências		Arya <i>et al.</i> , 1985.	Bains <i>et al.</i> , 1993.	a: Schlegel <i>et al.</i> , 1986. b: Kumar <i>et al.</i> , 1990.	a: Nicolson <i>et al.</i> 1977. b: Kumar <i>et al.</i> 1990.	Magarge <i>et al.</i> , 1988.	Retamal <i>et al.</i> 2000.

(Fonte: Adaptado de GERVASI e VISCONTI, 2017)

Obs.: Dados de estudos que compararam lipídios de células inteiras ou extratos de membrana de espermatozoides recuperados da cabeça e da cauda do epidídimo. ND = sem dados publicados.

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

A aquisição do movimento progressivo também ocorre durante o trânsito epididimário no processo de maturação. Os espermatozoides da cauda do epidídimo exibem motilidade progressiva, diferentemente dos espermatozoides testiculares e dos presentes na cabeça do epidídimo. Embora a motilidade alcançada pelos espermatozoides da cabeça seja semelhante em intensidade à do da cauda, eles exibem diferentes flexão flagelar (VALDNAIS *et. al.*, 2013; GERVASI e VISCONTI, 2017).

Além disso, como há a possibilidade de induzir motilidade em espermatozoides testiculares e de cabeça do epidídimo, isso indica que os espermatozoides imaturos possuem maquinaria flagelar funcional. Apesar do conhecimento de alguns mecanismos de obtenção de energia, ainda não está totalmente claro quais alterações bioquímicas ocorrem no espermatozoide durante o trânsito epididimal que tornam essas células capazes de se mover (VALDNAIS *et. al.*, 2013; GERVASI e VISCONTI, 2017).

Capacitação espermática

Após a ejaculação, os espermatozoides de mamíferos ainda não estão aptos para fertilizar de imediato os oócitos, pois ainda que sejam dotados de motilidade e morfologicamente maduros, necessitam de um período de permanência no trato reprodutivo da fêmea para que se tornem aptos à fertilização. Logo, o espermatozoide sobrevive no genital feminino por algumas horas antes de ganhar a habilidade de fertilizar o óvulo (ALMEIDA *et al.*, 1999).

O processo de capacitação espermática é aquele em que o espermatozoide adquire capacidade de fertilizar os oócitos, passando por severas mudanças bioquímicas e fisiológicas (GERVASI e VISCONTI, 2016). Sabe-se que essas mudanças inerentes à capacitação incluem: a capacidade do espermatozoide de se ligar à matriz extracelular do oócito, denominada de zona pelúcida; a hiperativação, o movimento flagelar em chicote que permite a célula aumentar a sua eficácia de propulsão para penetrar no óvulo e, ainda, a capacidade de se fundir com o oócito. A hiperativação, no entanto, é regulada por eventos de sinalização semelhantes, mas distintos, que a distinguem da capacitação (BAILEY, 2010).

A capacitação espermática se inicia na região do istmo da tuba uterina, sendo seguida pela reação acrossômica (HAFEZ e HAFEZ, 2016). A tuba uterina da fêmea dispõe de um microambiente adequado para o transporte, armazenamento, capacitação dos espermatozoides, fecundação e cultivo embrionário, de modo que, logo após a ejaculação, tanto no trato genital feminino ou *in vitro*, as células espermáticas iniciam a fase final da maturação, denominada de capacitação espermática (BUFFONE, 2016).

Não há conhecimento acerca de todos os mecanismos envolvidos na capacitação. No entanto, sabe-se que algumas substâncias estão envolvidas com as mudanças que ocorrem nos espermatozoides, como o colesterol e o Ca^{2+} (WITTE e SCHAFER-SOMI, 2007). Segundo Ickowicz *et al.* (2012), a capacitação em animais ocorre em duas fases dentro do trato reprodutivo feminino: a fase rápida e a fase lenta. A fase rápida envolve a ativação dos flagelos, desencadeando um movimento vigoroso e assimétrico. A fase lenta, por sua vez, envolve as mudanças nos padrões de movimento do espermatozoide, denominados de hiperativação.

O primeiro evento da capacitação envolve os eventos da fase lenta, que ocorre no oviduto do trato reprodutivo feminino, é marcado pela remoção do colesterol da membrana, que promovem o aumento de fluidez da membrana plasmática por meio da remoção do colesterol desta pela HDL e albumina sérica, provocando um aumento da fluidez da membrana e um aumento progressivo nas concentrações intracelulares de cálcio (Ca^{2+}), bicarbonato e peróxido de hidrogênio, que em conjunto, estimulam a produção de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) pela adenilato ciclase (ICKOWICZ *et al.*, 2012; SILVA, 2006).

Os glicosaminoglicanos (GAGs) são componentes diretamente relacionados com a indução da capacitação espermática, visto que modificam a membrana plasmática estimulando a captação de Ca^{2+} e a atividade da fosfolipase A2 na membrana, aumentando as concentrações de lisolípídios, de forma que a membrana se torne instável. A heparina é um exemplo de GAGs importante na capacitação e reação acrossômica, visto que atua por meio da remoção de proteínas do plasma seminal na superfície da membrana plasmática, que são decapacitantes, ou seja, inibidoras da capacitação (COX, 1990).

Ainda na fase lenta, o AMPc produzido, ao ativar a PKA no interior da célula, fosforila diversas proteínas em resíduos de serina e treonina. Desta forma, direta ou indiretamente, são ativadas várias proteínas quinases, assim como são inibidas fosfatases, sendo este evento importante, visto que é por meio desse aumento na fosforilação de resíduos de tirosina e proteínas intracelulares que são estimuladas as mudanças na função espermática que ocorrem na capacitação. São estas as alterações que desencadeiam a hiperativação espermática, a quimiotaxia dos espermatozoides em direção ao ovócito, assim como a capacidade destes de realizar, posteriormente, a reação acrossômica induzida por um agonista biológico presente na zona pelúcida ou pela progesterona, sendo capaz de fertilizar o ovócito (SIGNORELLI *et al.*, 2012).

Ao final do processo, isto é, quando um espermatozoide está totalmente capacitado, a membrana plasmática apical da cabeça da célula espermática torna-se fusogênica, permitindo a união entre os gametas e a transferência do material genético masculino ao interior do ovócito. Os eventos tardios da capacitação espermática ocorrem sob um rigoroso controle, uma vez que esse é um processo irreversível, ou seja, se ocorrer a desestabilização da membrana espermática, na ausência do ovócito maduro, inevitavelmente, ocorrerá a morte do espermatozoide (RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, 2007).

Em seguida, ocorre a fase rápida, que tem sido discutida no que tange às controvérsias acerca da possibilidade de seus eventos fazerem parte da capacitação. No entanto, sabe-se que essa etapa é imprescindível para o sucesso da fertilização (VISCANTI, 2009). Esta fase ocorre segundos após a ejaculação, sendo ativada pelo aumento nas concentrações de Ca^{2+} e HCO_3^- , presentes no fluido seminal. Nesta etapam estão envolvidos os eventos moleculares de ativação de uma proteína quinase A (PKA) pela adenilato ciclase, mediada por Ca^{2+} e dependente de HCO_3^- , para fosforilar certas proteínas (ICKOWICZ *et al.*, 2012; SILVA, 2006).

Todo esse evento resulta em hiperpolarização da membrana plasmática e desencadeando mudanças na hidrodinâmica e motilidade espermática. Esses fatores contribuem para a capacidade do espermatozoide de se ligar à zona pelúcida, por um aumento

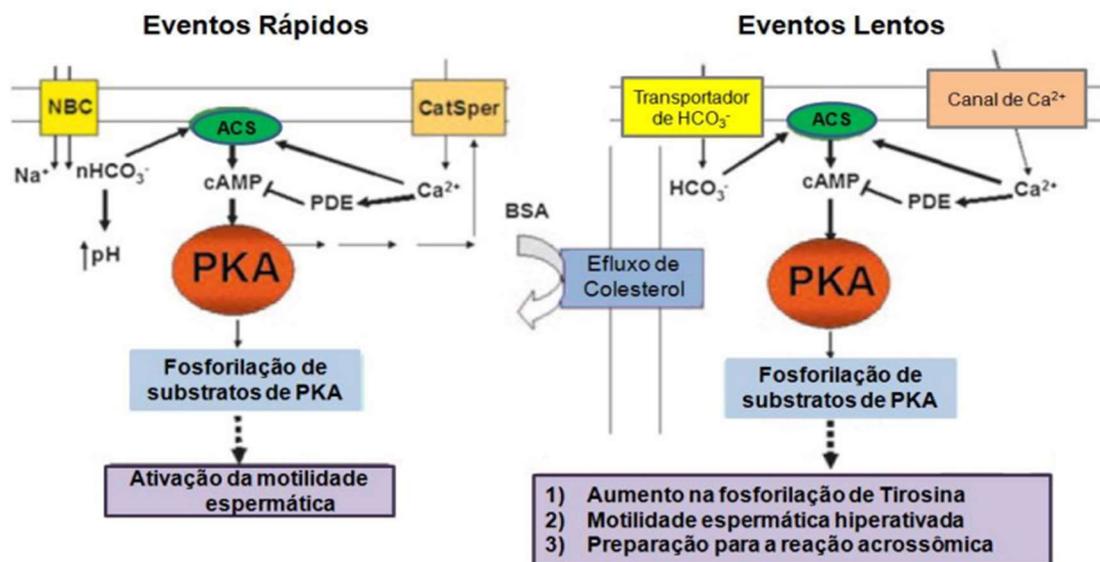
Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

da afinidade dos receptores presentes na membrana acrossomal externa com a zona pelúcida (ZP), além de contribuir com a indução da reação acrossomal e hiperatividade flagelar (ICKOWICZ *et al.*, 2012; SILVA, 2006).

Durante a hiperativação, ocorre uma alteração no padrão e no vigor da trajetória do espermatozoide, que são caracterizados por uma larga amplitude do batimento flagelar, aumento médio do movimento lateral da cabeça e cauda do espermatozoide. Também podem estar associados uma motilidade lenta ou não progressiva de baixa frequência de batimento flagelar (VERSTEGEN *et al.*, 2002).

A cascata dependente de PKA, por sua vez, fosforila uma família de enzimas, a fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K) que leva à polimerização da actina, essencial para a motilidade hiperativada dos espermatozoides necessários para a fertilização. A quebra da F-actina é necessária para a reação acrossômica. Portanto, a ativação do AMPc modula a resposta dos canais de cálcio, produzindo alterações no potencial de membrana e aumentando a concentração intracelular de cálcio (ICKOWICZ *et al.*, 2012).



(Fonte: BETARELLI, 2016)

Figura 02: Esquema demonstrando as bases moleculares que envolvem a fase rápida e lenta durante a capacitação espermática.

Em suínos, ainda, há um evento importante na fase rápida (Fig. 02). Consiste na eliminação de uma adesina espécie-específica da superfície da célula espermática, denominada AQN-1. Essa adesina consiste em um complexo proteico de papel importante na formação do reservatório espermático em suínos, que por sua vez, tem a função de inibir a atividade de outras proteínas associadas à superfície celular, como a AQN-2 e AWN, relacionadas com a interação dos espermatozoides com a zona pelúcida. Quando a membrana espermática é desestabilizada e ocorre a remoção desta adesina AQN-1 da superfície do espermatozoide, estes são liberados do reservatório do oviduto, de forma que essa remoção permite a interação do espermatozoide com a zona pelúcida (EKHLASI-HUNDRIESER *et al.*, 2005; TÖPFER-PETERSEN *et al.*, 2008).

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

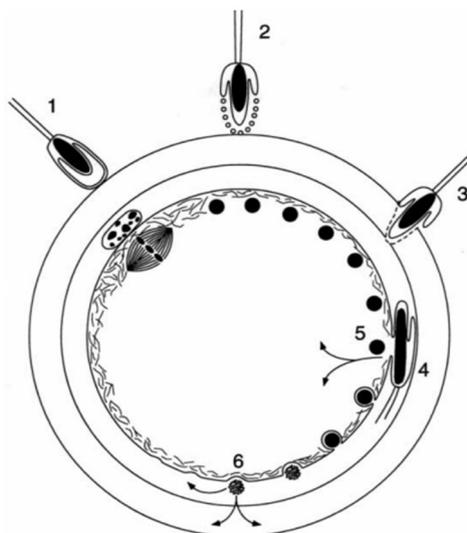
Desta forma, a capacitação é um evento essencial ao processo de fertilização, visto que permite que o espermatozoide adquira habilidades de ligação e penetração na zona pelúcida e, posteriormente, fundir-se com a membrana plasmática do ovócito. Finalizada a capacitação, precede-se a reação acrossomal (BUFFONE, 2016).

Reação acrossômica

A reação acrossômica é o evento que ocorre quando os espermatozoides penetram entre as células foliculares, atingindo a zona pelúcida, havendo o contato entre os gametas masculino e feminino. Desse modo, há exocitose de enzimas existentes no acrossoma da cabeça do espermatozoide, que são responsáveis por a camada gelatinosa da zona pelúcida, permitindo que os receptores da membrana plasmática da cabeça do espermatozoide sejam reconhecidos pelos receptores específicos na membrana do oócito II, dessa forma, permitindo sua penetração no oócito (MOREIRA, 2014). A interação entre as membranas culmina na fusão das duas células, ocorrendo a fecundação, e posteriormente, formação do ovo ou zigoto.

Notadamente, o processo para a reação acrossômica é mediado por enzimas denominadas de GTPases: sendo estas sinaptotagmina I e sinaptobrevina. A atuação das enzimas hidrolíticas é essencial para que o gameta adentre no espaço perivitelino fertilizando o oócito, sendo o papel destas dissolver a zona pelúcida envolta do espermatozoide penetrante (GADELLA *et al.*, 2001).

Quando ocorre a penetração do espermatozoide, o ócito é ativado, ocorrendo então penetração do espermatozoide. Como esquematizado na Fig. 03, em (1), ocorre a ligação do espermatozoide à zona pelúcida; (2) observa-se a reação acrossômica; (3) penetração do espermatozoide através da zona pelúcida (ZP); (4) ligação e fusão do espermatozoide com a oolema (fertilização); (5) ativação do oócito por fatores do citosol e bloqueio da poliespermia; (6) liberação dos grânulos corticais provocando o bloqueio definitivo da poliespermia (GADELLA *et al.*, 2001).



(Fonte: GADELLA *et al.*, 2001)

Figura 03: Esquema ilustrando a interação entre o espermatozoide e o oócito na fertilização.

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

Ademais, alguns estudos já demonstraram que a habilidade do espermatozoide ejaculado em se capacitar, passando por uma completa modificação na membrana, e culminando com a reação acrossômica, está diretamente relacionada com altas taxas de concepção, portanto, o uso da avaliação de reação acrossômica (RA) e viabilidade espermática auxilia na seleção do sêmen a ser utilizado para a PIV (SÁ *et al.*, 2005). Em concordância, o estudo realizado por FELICIANO *et al.* (1996), relatou a eficiência da técnica da taxa reação acrossômica em zebuínos como indicador do potencial de fertilidade de touros, utilizando sêmen fresco e congelado. Desse modo, demonstrando que touros de fertilidade alta e baixa taxa de retorno, apresentam espermatozoides com frequência alta de capacitação e reação acrossômica, quando comparados aos touros de fertilidade baixa.

Outrossim, o teste de indução da reação acrossômica *in vitro* é um método comumente utilizado para a avaliação da capacitação espermática, além de possuir uma alta correlação com a fertilidade a campo (BLOTTNER *et al.*, 1990). A RA pode ser induzida *in vitro* pela lisofosfatidilcolina (LC), após capacitação espermática provocada pela heparina, que é a substância mais eficiente para induzir capacitação espermática e, conseqüentemente, a RA *in vitro* (SÁ *et al.*, 2005). Desse modo, segundo os estudos de WHITFIELD e PARKINSON (1992), foi verificado que 10 mg/mL de heparina é eficaz na indução a capacitação e RA em espermatozoides bovinos. No entanto, é importante ressaltar que a manutenção da viabilidade do espermatozoide capacitado é igualmente importante para o sucesso da fecundação (WAY *et al.*, 1994).

Além disso, o experimento realizado por SÁ *et al.* (2005) constatou que ao comparar a taxa de reação acrossômica em meios com e sem heparina, é possível verificar que há um número maior de espermatozoides com reação acrossômica na presença da heparina em touros da raça Guzerá, visto que, essa substância acelera a conversão da proacrosina, zimógena em acrosina, iniciando a digestão da membrana plasmática, desse modo, sendo capaz de desencadear a perda acrossômica em algumas células.

Diante do exposto, é possível concluir que a realização de exames que avaliam as taxas de reação acrossômica são de suma importância, visto que auxiliam na avaliação de sêmen de diversas espécies antes que os mesmos sejam utilizados para procedimentos de FIV, por exemplo (SÁ *et al.*, 2005).

Movimento espermático

A movimentação espermática é executada em sua total amplitude através da cauda do espermatozoide, promovendo a propulsão e a capacidade de seu deslocamento até o oócito feminino (LINDEMANN e LESICH, 2016). O axonema, estrutura morfológica da cauda, se faz como o principal “motor” da movimentação espermática, através da ligação e soltura de forma sucessiva de seus constituintes (HENRY e ECHEVERRI, 2013).

O axonema nada mais é do que a junção de todos os microtúbulos dentro do flagelo espermático, sendo este ordenado morfológicamente por nove pares de microtúbulos externos e um par interno (arranjo 9+2), sendo o primeiro constituído morfológicamente por dois tipos de pares tubulares, o tipo “A” e o tipo “B”, dos quais apresentam respectivamente 10 e 13 protofilamentos alinhados lado a lado, que unem as extremidades do túbulos A-B (LINK *et al.*,

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

2016), como evidenciado na Fig. 04. Os nove dupletos de microtúbulos são interconectados através de ligações de nexina e os mesmos se conectam ao par central por meio de complexos de proteínas. Cada túbulo “A” irá se ligar a outras proteínas de forma bilateral, como as dineínas (MARSHALL e NONAKA, 2006; MITCHISON e MITCHISON, 2010).

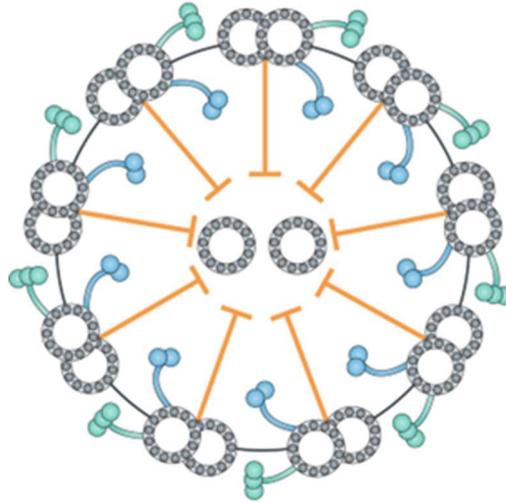


Figura 04: Morfologia do axonema. (Fonte: Gilpin *et al.*, 2020)

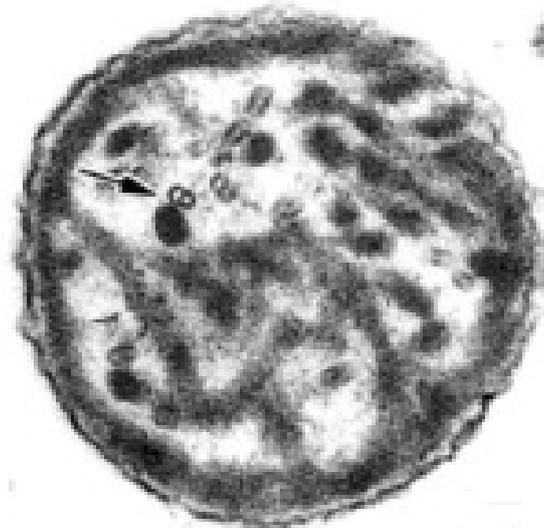
Apesar da função geral da movimentação espermática ser o encontro com o ovócito, esse pode diferir quanto ao tipo de motilidade, dos quais em coletas recém realizadas, essas células vão apresentar um tipo de movimentação ativa, ou seja, de baixa amplitude e simétrica, semelhante a uma onda, sendo essencial para sua chegada ao útero e oviduto. O movimento hiperativo se faz em espermatozoides que passaram pelo processo de capacitação, apresentando um movimento assimétrico e de alta amplitude, facilitando assim a sua chegada ao óvulo e sua sucessiva penetração (HENRY e ECHEVERRI, 2013).

A movimentação espermática ocorre através de processos químicos e mecânicos provenientes do axonema, e para que esse movimento ocorra, é necessário que se tenha uma variedade de complexos regulatórios mecânicos e químicos (GILPIN *et al.*, 2020), podendo gerar contração unilateral dos túbulos por vez, sendo realizados através da ligação e contração dos braços de dineína de uma hemiparte da cauda, seguida de sua sucessiva soltura e contração da outra parte restante, fornecendo um deslocamento simétrico e de baixa amplitude, ou seja, ativo. A movimentação hiperativa se faz através da contração e soltura das hemipartes de forma desordenada e intensa, promovendo assim um movimento sem simetria e com alto grau de amplitude (HENRY e ECHEVERRI, 2013). A rigidez da contração do axonema se faz de forma finita, ou seja, possui um limite para sua constrição, sendo esta modulada pela própria célula (GILPIN *et al.*, 2020).

A energia provida para a contração das estruturas do axonema se faz através da adenosina trifosfato (ATP), sendo esta regenerada pela glicólise e oxidação mitocondrial do ciclo de Krebs ao longo de sítios específicos na cauda, como as colunas e bainhas fibrosas e promovendo a conversão a energia química por batimento mecânico pelas dineínas. Apesar da glicose ser importante para a contração dos túbulos, a adenosina monofosfato cíclica, proteína kinase A e os canais de cálcio são os principais moduladores da motilidade espermática, sendo

o cálcio intracelular o principal responsável pela regulação do restante, logo, quanto maior a concentração do mesmo, maior a produção e ativação de tais mecanismos (HENRY e ECHEVERRI, 2013).

A movimentação espermática pode sofrer estímulos intrínsecos provenientes de alterações na estruturação do axonema ou extrínsecos, tendo em vista que centenas de genes e proteínas atuam no desenvolvimento da montagem e motilidade dos espermatozoides, ficando susceptível ao comprometimento de tal desenvolvimento (Fig. 05), tendo em vista a possibilidade de interferência por meio de mutações genéticas, toxinas ambientais ou comprometimento metabólico, resultando em uma movimentação atípica ou a falta total de tal deslocamento, comprometendo assim, a chegada do espermatozoide até o óvulo e sua sucessiva penetração (HENRY e ECHEVERRI, 2013; LINK *et al.*, 2016).



(Fonte: Link *et al.*, 2016)

Figura 05: Corte transversal de espermatozoide humano (ME), evidenciando completa desorientação do axonema e a falta aparente de um braço de dineína (seta).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento acerca das características e mecanismos que ocorrem desde a maturação espermática até a reação acrossômica são essenciais para a avaliação da viabilidade espermática, diretamente relacionadas à atividade espermática, sua integridade e à atividade bioquímica da membrana plasmática do espermatozoide. Essas características bioquímicas e fisiológicas são fundamentais na interpretação do exame andrológico.

Por meio do estudo destes mecanismos, pode-se avaliar a viabilidade espermática, integridade de acrossoma e cromatina na avaliação da qualidade do sêmen, visto que indicam a aptidão reprodutiva momentânea e outras características importantes para o sucesso na fecundação dos animais. Permitindo, ainda, uma maximização na eficiência reprodutiva de rebanhos através das ferramentas de biotécnicas reprodutivas disponíveis e, uma disseminação em massa de um material genético de rebanho superior, com melhores lucros para o produtor rural.

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

REFERÊNCIAS

- AKINTAYO, A.; LEGARE, C.; SULLIVAN, R. Dicarbonyl L-xylulose reductase (DCXR), a "moonlighting protein" in the bovine epididymis. **PLOS ONE**, v.10, n.3, p.9-11, 2015.
- ALMEIDA, A.B.; SATRAPA, M.A.; JACOMIN, J.A. Utilização do veneno de abelhas *apis mellifera* na fecundação *in vitro*. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.1, p.271-274, 1999.
- BAILEY, J.L. Factors Regulating Sperm Capacitation. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v.56, n.5, p.334-348, 2010.
- BETARELLI, R.P. **Efeitos da glutatona reduzida sobre os processos de capacitação e reação acrossomica in vitro em espermatozoides suínos refrigerados**, 2016. 104p. (Tese de Doutorado em Medicina Veterinária). Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2016.
- BITTENCOURT, R.H.F.P.M.; SILVA, M.C.; RIBEIRO, H.F.L. Mecanismo da fertilização. **Revista Ciência Agrária**, v.45, p.309-330, 2006.
- BLOTTNER, S.; NEHRING, H.; TORNER H. Individual differences in capacitation of bull spermatozoa by heparin in vitro: relationship to fertility. **Theriogenology**, v.34, n.3, p.619-628, 1990.
- BUFFONE, M.G. **Sperm acrosome biogenesis and function during fertilization**. 1. ed. United States: Springer International Publishing, 2016.
- CHOCU, S.; CARVEL, P. ROLLAND, A.D.; PINEAU, C. Spermatogenesis in mammals: proteomic insights. **System Biology of Reproduction Medicin**, v.58, n.4, p.179-90, 2012.
- CORNWALL, G.A. New insights into epididymal biology and function. **Human Reproduction Update**, v.15, n.2, p.213-27, 2009.
- COX, J.F. **Capacitación espermatica para fertilización in vitro en rumiantes – Aspectos básicos y aplicados um manipulating the mammalian embryo**. São Paulo, 1990. In: XXX Simpósio em Tópicos Avançados em Reprodução Animal, FCAVJ-UNESP, p.27-63, 1990.
- CUNHA, A.T.M. **Caracterização morfológica de espermatozoides do epidídimo e estabelecimento de protocolo para seu uso na produção in vitro de embriões bovinos**, 2019. 114p. (Tese de Doutorado em Biologia Animal). Programa de pós graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília, 2019.
- DACHEUX, J.L.; GATTI, J.L.; DACHEUX, F. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. **Microscopy research and technique**, v.61, n.1, p.7-17, 2003.
- DACHEUX, J.L.; DACHEUX, F. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. **Reproduction**, v.147, n.2, p.27-42, 2014.
- D'AMOURS, O.; FRENETTE, G.; BORDELEAU, L.J.; ALLARD, N.; LECLERC, P.; BLONDIN, P.; SULLIVAN, R. Epididymosomes transfer epididymal sperm binding protein 1

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

(ELSPBP1) to dead spermatozoa during epididymal transit in bovine. **Biology of Reproduction**, v.87, n.4, p.94, 2012.

DIAS, G.M.; LÓPEZ, M.L.; FERREIRA, A.T.S.; CHAPEAUROUGE, D.A.; RODRIGUES, A.; PERALES, J.; RETAMAL, C.A. Thiol-disulfide proteins of stallion epididymal spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v.145, n.1/2, p.29-39, 2014.

EKHLASI-HUNDRIESER, M.; GOHR, K.; WAGNER, A.; TSOLOVA, M.; PETRUNKINA, A.; TÖPFER-PETERSEN, E. Spermadhesin AQN1 is a candidate receptor molecule involved in the formation of the oviductal sperm reservoir in the pig. **Biology of Reproduction**, v.73, n.3, p.536-545, 2005.

FELICIANO SILVA, A.E.O.; RAMALHO, M.F.D.; CAMPANELLI, A.C.; WATANABE, Y.F.; RODRIGUES, L.H.; FREITAS, A.R.; HOSSEPIAN, V. **Taxa de reação acrossomica como indicador de fertilidade de touros**. In: Congresso Brasileiro das raças zebuínas, 2, 1996, Uberaba, MG. Anais... Uberaba: ABCZ, 1996.

GADELLA, B.M.; RATHI, R.; BROUWERS, J.F.; STOUT, T.A.E.; COLEMBRANDER, B. Capacitation and the acrosome reaction in equine sperm. **Animal Reproduction Science**, v.68, n.4, p.249-265, 2001.

GERVASI, M.G.; VISCONTI, P.E. Chang's meaning of capacitation: a molecular perspective. **Molecular Reproduction and Development**, v.83, n.10, p.860-874, 2016.

GERVASI, M.G.; VISCONTI, P.E. Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. **Andrology**, v.5, n.2, p.204-218, 2017.

GILPIN, W.; BULL, M.S.; PRAKASH, M. The multiscale physics of cilia and flagela. **Nature Reviews Physics**, v.2, n.11, p.74-88, 2020.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7. ed. Barueri: Manole, 2004.

HENRY, M.; ECHEVERRI, A.M.L. Coleta e avaliação seminal em animais domésticos. In: HENRY, M.; ECHEVERRI, A.M.L. **Andrologia Veterinária Básica**. CAED-UFGM, Belo Horizonte, cap.10, 2013. p.136-151.

ICKOWICZ, D.; FINKELSTEIN, M.; BREITBART, H. **Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinase**, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3720105/pdf/aja201281a.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2022.

LINDEMANN, C.B.; LESICH, K.A. Functional anatomy of the mammalian sperm flagellum. **Cytoskeleton**, v.73, n.11, p.652-669, 2016.

LINK, R.W.; CHEMES, H.E.; ALBERTINI, D.F. The axoneme: the propulsive engine of spermatozoa and cilia and associated ciliopathies leading to infertility. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v.33, n.2, p.2-5, 2016.

MARSHALL, W.F.; NONAKA, S. Cilia: tuning in to the cell's antenna. **Current Biology**, v.16, n.15, p.604-614, 2006.

MITCHISON, T.; MITCHISON, H. Cell biology: How cilia beat. **Nature**, v.463, n.7279,

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

p.308–309, 2010.

MOREIRA, C. Reação Acrossômica. **Revista Ciência Elementar**, v.2, n.1, p.1-7, 2014.

OLIVA, S.U.; RINALDO, P.A.; STUMPP, S. Biologia epididimária: maturação espermática e expressão gênica. **O Mundo da Saúde**, v.33, n.4, p.419-425, 2009.

PATRAT, C.; SERRES, C.; JOVANNET, P. The acrosome reaction in human spermatozoa. **Biology of the Cell**, v.92, n.3/4, p.255-266, 2000.

SÁ, W.F.; LOPES, C.F.; CAMARGO, L.S.A.; FERREIRA, A.M.; VIANNA, A.A.; VIANA, J.H.M.; NOGUEIRA, L.A.G. Avaliação da capacitação espermática in vitro pela reação acrossômica e viabilidade, em sêmen de touros Guzerá. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v.12, n.1/3, p.33-36, 2005.

SCHLATT, S.; EHMCKE, J. Regulation of spermatogenesis: an evolutionary biologist's perspective. **Seminars In Cell & Developmental Biology**, v.29, n.2/16, p.3-5, 2014.

SHALGI, R.; SELIGMAN, J.; KOSOWER, N. S. Dynamics of the Thiol Status of Rat Spermatozoa during Maturation: Analysis with the Fluorescent Labeling Agent Monobromobimane. **Biology of Reproduction**, v.40, n.5, p.1037-1045, 1989.

SHIVAJI, S.; KUMAR, V.; MITRA, K.; JHA, K.N. Mammalian sperm capacitation: role of phosphotyrosine proteins. **Society in Reproduction Fertility**, v.63, suppl.63, p.295-312, 2007.

SIGNORELLI, J.; DIAZ, E.S.; MORALES, P. Kinases, phosphatases and proteases during sperm capacitation. **Cell and Tissue Research**, Berlin, v.349, n.3, p.765-782, 2012.

SILVA, R.O.A. **Associação entre o exame clínico andrológico e testes de viabilidade espermática, integridade de acrossoma e fragmentação de cromatina para determinar a qualidade seminal de touros**, 2006. 38p. (Dissertação de Mestrado em Ciência Animal). Programa de pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, 2006.

SOARES, C.M.T.; NEVES, M.M.O. Papel da gota citoplasmática na funcionalidade de espermatozoides em mamíferos: uma revisão atualizada. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.44, n.3, p.83-88, 2020.

SUTOVSKY, P.; MORENO, R.; RAMALHO-SANTOS, J.; DOMINKO, T.; THOMPSON, W. E.; SCHATTEEN, G. A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. **Journal of Cell Science**, v.114, n.9, p.1665-1675, 2001.

TOPFER-PETERSEN, E.; EKHLASI-HUNDRIESER, M.; TSOLOVA, M. Glycobiology of fertilization in the pig. **International Journal of Developmental Biology**, Vizcaya, v.52, n.5/6, p.717-736, 2008.

TULSIANI, D.P.; SKUDLAREK, M.D.; HOLLAND, M.K.; ORGEBIN-CRIST, M. Glycosylation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. **Biology of Reproduction**, v.48, n.2, p.417-428, 1993.

Recebido: jul./2022.

Publicado: set./2023.

VADNAIS, M.L.; AGHAJANIAN, H.K.; LIN, A.; GERTON, G.L. Signaling in Sperm: toward a molecular understanding of the acquisition of sperm motility in the mouse epididymis. **Biology of Reproduction**, v.89, n.5, p.1-10, 2013.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, n.1, p.149-179, 2002.

VISCONTI, P.E.; WESTBROOK, V.A.; CHERTIHIN, O.; DEMARCO, I.; SLEIGHT, S.; DIEKMAN, A.B. Novel signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity. **Journal of Reproduction Immunology**, Limerick, v.53, n.1/2, p.133-150, 2002.

VISCONTI, P.E.; WESTBROOK, V.A.; CHERTIHIN, O.; DEMARCO, I.; SLEIGHT, S.; DIEKMAN, A.B. **Understanding the molecular basis of sperm capacitation through kinase design**. In: National Academy of Sciences of the United States of America, v.106, n.3, p.667-668, 2009.

WAY, A.L.; HENAULT, M.A.; KILLIAN, G.J. Comparison of four staining methods for evaluating acrosome status and viability of ejaculated and cauda epididymal bull spermatozoa. **Theriogenology**, v.43, n.8, p.1301-1316, 1994.

WHITFIELD, C.H.; PARKINSON, T.J. Relationship between fertility of bovine semen and in vitro induction of acrosome reactions by heparin. **Theriogenology**, v.38, n.1, p.11-20, 1992.

WITTE, T.S.; SCHAFFER-SOMI, S. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction of mammalian spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.102, n.3, p.181-193, 2007.