

A ESPERMATOGÊNESE

(The spermatogenesis)

Letícia Moura ALCÂNTARA^{1*}; Ricardo TONIOLLI²

¹Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE). Av. Doutor Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.714-903.; ²Laboratório de Reprodução Suína e Tecnologia de Sêmen da FAVET / UECE. *E-mail: leticia.alcantara@aluno.uece.br

RESUMO

A espermatogênese é o processo fisiológico de formação dos gametas masculinos em que as células de linhagem germinativa, denominadas de espermatídes, células haplóides originadas das espermatogônias através do processo de divisão celular e que possuem a porção específica de DNA para fins reprodutivos, passam por etapas de diferenciação celular, desde sua organização estrutural, morfológica e bioquímica, dando origem assim aos espermatozoides que serão liberados no lúmen dos túbulos seminíferos, com posterior embriogênese. As espermatídes são células arredondadas, de núcleo central e envolto de citoplasma, em que durante o processo de maturação, ocorre a reorganização das organelas presentes nesta célula, moldando-a para uma forma alongada. Há também o desenvolvimento do acrossoma, migração das mitocôndrias para a porção caudal do espermatozoide para geração de energia que concomitantemente auxiliará na movimentação da célula juntamente com uma cauda, também desenvolvida, e que é de extrema importância no quesito reprodutivo. Desta forma, o objetivo desta revisão de literatura foi exemplificar como ocorre as etapas da espermatogênese de uma forma objetiva, cooperando para o entendimento desta fase da gametogênese que está associada a resultados reprodutivos.

Palavras-chave: Espermatogônia, gametogênese, reprodução, espermatozoide.

ABSTRACT

Spermatogenesis is the physiological process of formation of male gametes in which germline cells, called spermatids, haploid cells originated from spermatogonia through the process of cell division and which have a specific portion of DNA for reproductive purposes, undergo stages of cell differentiation, from its structural, morphological and biochemical organization, thus giving rise to spermatozoa that will be released into the lumen of the seminiferous tubules, with later embryogenesis. Spermatids are rounded cells, with a central nucleus and surrounded by cytoplasm, in which, during the maturation process, the organelles present in this cell are reorganized, molding it to an elongated shape. There is also the development of the acrosome, migration of mitochondria to the caudal portion of the sperm to generate energy that will concomitantly assist in the movement of the cell along with a tail, also developed, and which is of extreme importance for reproduction. Thus, this literature review aimed to exemplify how the stages of spermatogenesis occur in an objective way, cooperating for the understanding of this phase of gametogenesis that is associated with reproductive outcomes.

Keywords: Spermatogonia, gametogenesis, reproduction, sperm.

INTRODUÇÃO

O sistema reprodutivo fetal origina-se a partir de duas cristas germinativas e antes de se diferenciar no trato reprodutor masculino, ele é composto por duas gônadas indiferenciadas, dois pares de ductos, um seio urogenital, um tubérculo genital, e diversas pregas vestibulares (HORDER, 2001). As células germinativas primordiais têm origem extra-gonadal, a partir do saco vitelínico mesentérico, sendo células móveis e altamente invasivas, que migram do saco vitelino para a crista genital, dando origem aos cordões gonadais. Ao nascimento do animal, o parênquima testicular é constituído por cordões seminíferos, formados por células de Sertoli e gonócitos, envolvidos por uma camada de musculatura lisa, as células mióides. O interstício é

composto principalmente por células de Leydig, células do tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (AVELAR *et al.*, 2010).

A produção do gameta masculino, envolve os processos de divisão celular e diferenciação, pelos quais os espermatozoides são produzidos nos testículos (STAUB e JOHNSON, 2018) e esse processo é denominado de espermatogênese. Durante a vida fetal, as células germinais e as células somáticas do testículo em formação organizam-se em túbulos seminíferos, que se derivam dos cordões sexuais primários e conformam a maior parte da medula do testículo. O espermatozoide é uma célula muito especializada, que passa por diversas etapas no parênquima testicular e consistindo em um conjunto de divisões (meióticas e mitóticas) e diferenciações celulares a partir de uma célula primordial denominada espermatogônia, resultando na produção do espermatozoide (SCHLATT e EHMCKE, 2014), podendo apresentar, nos suínos, três classes de espermatogônias: espermatogônia do tipo A, espermatogônia intermediária (In) e a espermatogônia do tipo B (COSTA *et al.*, 2013).

Um menor número de células de Sertoli por testículo, não significa dizer que o animal vai ter um menor número desse tipo celular por secção transversal de túbulo seminífero (AULER *et al.*, 2017; LIN *et al.*, 2017). Existe correlação positiva entre o número absoluto de células de Sertoli no testículo e o comprimento total dos cordões/túbulos seminíferos. Por outro lado, um maior número de células de Sertoli, como resultado de sua maior proliferação durante o período pré-puberal, está relacionado com uma maior produção espermiática (FRANÇA *et al.*, 2000 e 2005; AULER *et al.*, 2017). O início da maturidade sexual nas espécies domésticas, pode ocorrer devido a diferentes fatores, os quais vários são relatados por vários pesquisadores, que relatam variações de acordo com a raça ou linhagem, época do ano, manejo e tipo de alojamento (FLOWERS, 2008). A partir da maturidade sexual, há uma melhora gradual das características espermiáticas, até atingir uma estabilização (FRANÇA *et al.*, 2000).

A espermatogênese está dividida em: A) espermatocitogênese (fase de proliferação), que consiste em todas as divisões mitóticas das várias gerações de espermatogônias que sofrem divisão mitótica, gerando um grande número de espermatogônia do tipo B; fase denominada de meiótica, que envolve espermatócitos primários e secundários, na qual a diversidade genética é garantida produzindo as espermátides haplóides; B) fase da espermiogênese (fase de diferenciação), na qual não ocorre mais divisão celular e a espermátide indiferenciada passa por uma série de transformações que resulta na produção do espermatozoide, contendo uma cabeça (material nuclear), uma peça intermédia (hélice mitocondrial) e um flagelo (SENGER, 2003); C) a liberação de células germinativas formadas para a luz dos túbulos seminíferos é conhecida por espermição. As células alongadas, orientadas perpendicularmente para a rede tubular, vão sendo expulsas gradativamente para a luz dos túbulos. As células de Sertoli estão ativamente envolvidas no processo de espermição (FAWCETT, 1975).

Em novilhos, a espermatogênese se inicia entre 16 a 20 semanas de idade e a produção de esperma com 32 semanas (CURTIS e AMANN, 1981). A espermiogênese completa dura em torno de 17 dias e o trânsito dos espermatozoides pelo epidídimo dura em torno de 11 dias, independente da frequência de coletas (STAUB e JOHNSON, 2018). No garanhão, a formação final do espermatozoide, leva em torno de 55 a 57. Em seguida à formação, segue-se o processo espermição, que é a liberação dos espermatozoides no lúmen do túbulo seminífero. Em aproximadamente nove a onze dias ocorre o transporte dos espermatozoides através do sistema

de ductos epididimários, conseqüentemente, uma nova população de espermatozoides pode ser ejaculada após 64 a 66 dias aproximadamente (JOHNSON *et al.*, 1991; LOVE, 2002 e 2018).

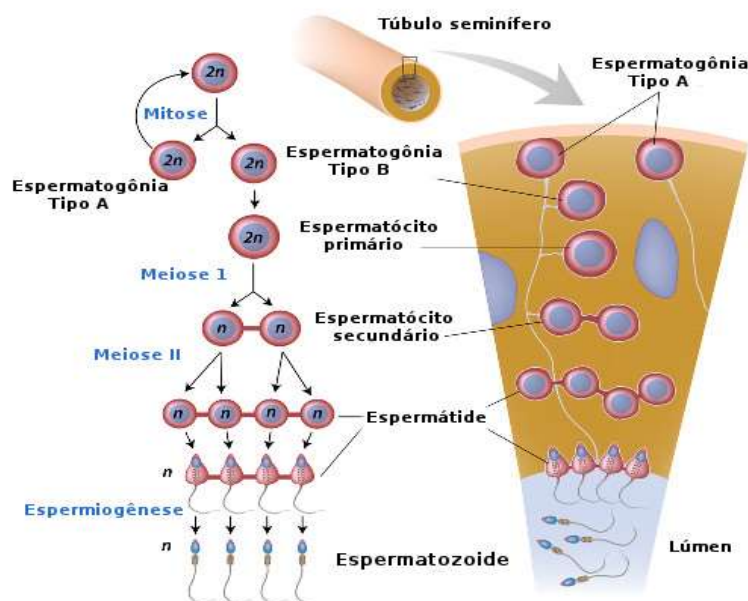
O estudo da espermatogênese é de extrema importância, principalmente para a biologia reprodutiva, sendo fundamental para determinar melhores estratégias reprodutivas, para conservação e melhoramento genético das espécies. O objetivo desta revisão foi mostrar como ocorre as etapas da espermatogênese de uma forma objetiva e que coopere para o entendimento desta fase da gametogênese que está diretamente associada a resultados reprodutivos.

DESENVOLVIMENTO

Etapas da espermatogênese

Os testículos são os órgãos responsáveis pela formação dos espermatozoides e dos hormônios sexuais, dentre eles a testosterona. Situam-se na bolsa escrotal, derivada da pele e da fáscia da parede abdominal, localizando-se dentro do processo vaginal, uma extensão separada do peritônio, o qual atravessa a parede abdominal pelo canal inguinal. Os espermatozoides são formados dentro dos túbulos seminíferos dos testículos. Esses túbulos contêm uma série complexa de células germinativas em desenvolvimento que posteriormente formam células altamente especializadas, os gametas masculinos (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

As espermatogônias, derivadas das células germinativas primordiais, através de modificações celulares formam os espermatócitos primários que, por uma divisão meiótica reducional formam os espermatócitos secundários. Na etapa seguinte, eles passam por uma meiose equacional dando origem às espermatídes (CHOCU *et al.*, 2012; NETO *et al.*, 2016), as quais passam pelo processo da espermiogênese, no qual sofrem várias modificações e formam os espermatozoides (RATO *et al.*, 2012; GADELLA e LUNA, 2014). A espermatogênese destina-se a produção de espermatozoides e nos mamíferos se divide em três fases: espermatocitogênese, espermiogênese e espermição (JOHNSON *et al.*, 2000) (Fig. 01).



(Fonte: <https://www.biologianet.com/anatomia-fisiologia-animais/espermatogenese.htm#>)

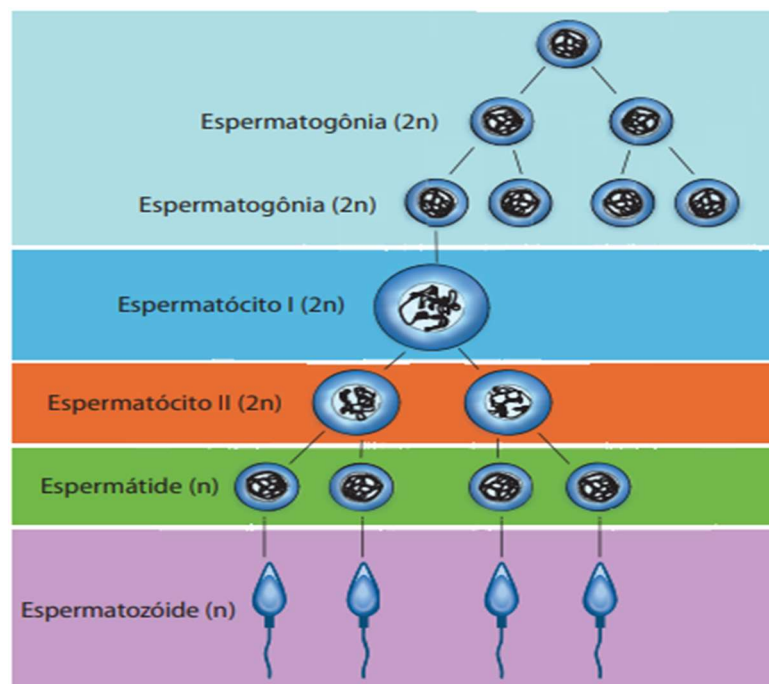
Figura 01: Diferentes etapas da espermatogênese na formação dos espermatozoides.

Espermatocitogênese

Durante o desenvolvimento embrionário, células germinativas primordiais especiais migram da região do saco vitelínico do embrião para as gônadas fetais indiferenciadas, local onde as células primordiais dividem-se várias vezes formando os gonócitos, que são as primeiras células germinativas identificadas nos cordões testiculares, próximas à membrana basal. Caracterizam-se por um citoplasma claro e núcleo grande (ASSIS NETO *et al.*, 2003; APONTE *et al.*, 2005). Nos machos, os gonócitos formam as espermatogônias (2n), localizadas na base do túbulo seminífero, precursoras dos espermatozoides (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

As espermatogônias do tipo A são células-tronco com núcleo volumoso e ovóide, com grânulos de cromatina dispostos irregularmente no nucleoplasma e possuem de um a três nucléolos. Através de mitoses elas se dividem em espermatogônias tipo A1, A2, A3 e A4. Esta última se divide novamente para formar espermatogônias intermediárias (tipo In) e novamente para formar o tipo B (ASSIS NETO *et al.*, 2003; APONTE *et al.*, 2005). Espermatogônias do tipo B saem do ciclo mitótico e entram na meiose, estimuladas pelo ácido retinóico, um derivado da vitamina A. Os núcleos esféricos das espermatogônias intermediárias e tipo B diminuem progressivamente, até a última geração desta célula (COUROT *et al.*, 1970).

A passagem da espermatogônia tipo B para espermatócito 1^{ário} (espermatócito I; 2n), é caracterizada por um aumento do volume citoplasmático da célula. Cada espermatócito 1^{ário} sofre a primeira divisão meiótica (separação dos cromossomos homólogos) e forma dois espermatócitos 2^{ários} (espermatócito II) com igual volume citoplasmático e haplóides (n) (EVANS *et al.*, 1996; APONTE *et al.*, 2005). Estes por sua vez, após completarem a segunda divisão meiótica, com a separação das cromátides irmãs, dão origem a células haplóides (n), chamadas de espermátides. Cada espermatócito secundário origina duas espermátides haplóides de tamanho semelhante (Fig. 02) (BALINSKY, 1983).



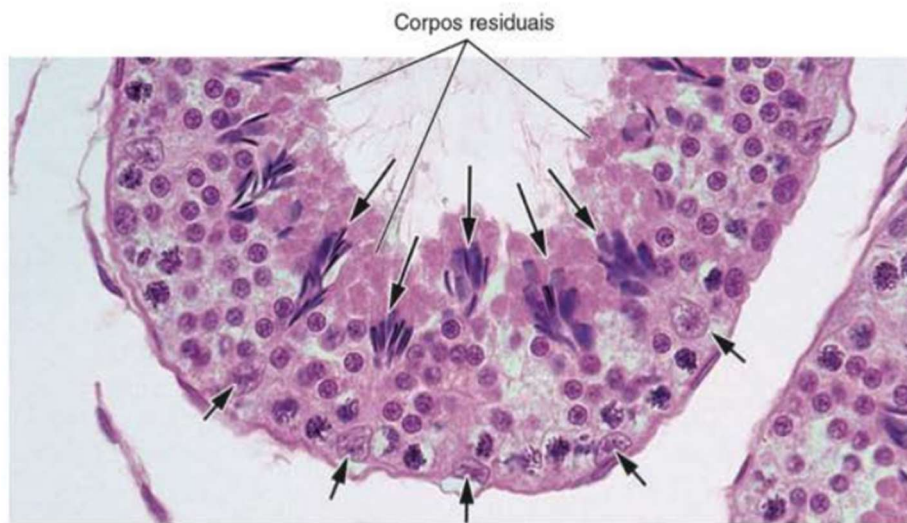
(Fonte: Adaptado de BALINSKY, 1983)

Figura 02: Representação do processo da espermatogênese.

As espermatídes formam camadas na metade luminal do epitélio seminífero e possuem núcleo arredondado, pequeno e claro (ASSIS NETO *et al.*, 2003; APONTE *et al.*, 2005).

Espermiogênese

A espermiogênese é caracterizada por uma série de complexos processos bioquímicos e morfológicos que acontecem as espermatídes para torná-las espermatozoides, células especializadas em transferir o DNA masculino ao oócito, ao fim da etapa de maturação. As espermatídes (Fig. 03) podem ser caracterizadas por seu tamanho, núcleo com cromatinas condensadas de formas variadas, sendo inicialmente redondas passando para o formato alongado e a sua localização próxima ao lúmen dos túbulos seminíferos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).



(Fonte: JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013)

Figura 03: Grupos de espermatídes (setas longas) e células de Sertoli (setas curtas).

Após as etapas da espermiogênese, a célula, agora denominada de espermatozoide, é liberada no lúmen do túbulo seminífero. Durante estas etapas, há a condensação da cromatina e alongamento nuclear, eliminação da maior parte do citoplasma, desenvolvimento da cauda, que é uma membrana ondulante, e do acrossoma. Estes processos são divididos em etapas pré-estabelecidas de acordo com a alteração que acontece em cada uma (ZIERI *et al.*, 2008).

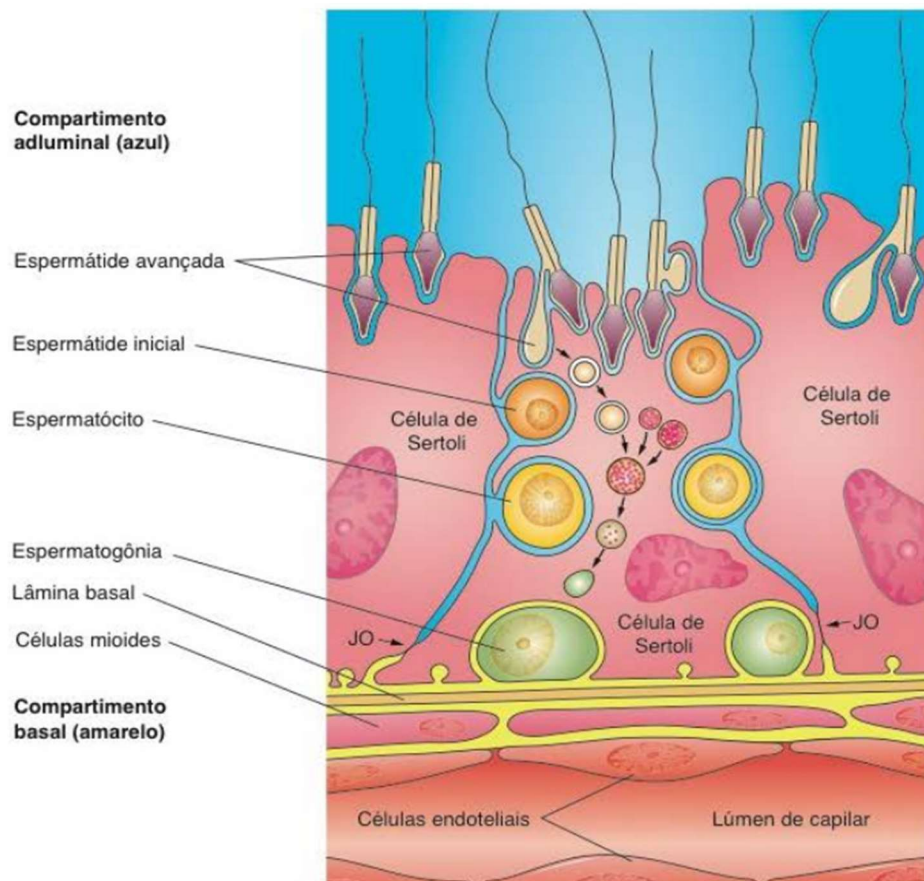
A primeira fase que ocorre é a fase de Golgi, caracterizada pela formação de grânulos dentro do aparelho de Golgi, o qual é bem desenvolvido no citoplasma das espermatídes. Estes grânulos são denominados de PAS-positivos ou pró-acrossômicos. Eles unem-se uns aos outros aderindo-se ao envelope nuclear dentro de uma vesícula que é formada e delimitada por uma fina membrana de parede dupla e tem o nome de vesícula acrossômica. Os centríolos presentes no citoplasma migram para a direção oposta da vesícula, próximo a superfície celular, iniciando a formação do axonema, que é um conjunto de microtúbulos responsáveis pela formação do eixo central do flagelo, sendo semelhantemente comparado a um cílio (HAFEZ e HAFEZ, 2004; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

A segunda fase é a de acrossomo, onde acontece a maior modificação do núcleo, acrossomo e cauda das espermatídes. A vesícula e o grânulo acrossômico movem-se para a porção anterior do núcleo como um capuz, sendo assim denominado de acrossomo, o qual

produz enzimas capazes de dissociar as células da corona radiata e da zona pelúcida. Estas alterações acontecem de forma facilitada devido a rotação da espermatíde fazendo com que o acrossoma mova-se em direção a porção externa do túbulo seminífero e a cauda alongada em direção ao lúmen (ZIERI *et al.*, 2008).

Durante análise de microscopia eletrônica, é possível observar o grupo de espermatídes com seus flagelos voltados para o lúmen do túbulo e é nesta fase que a cromatina dentro dos grânulos é condensada em um formato achatado e alongado e as histonas nucleares são substituídas por proteínas transitórias. O acrossoma também sofre alterações morfológicas para adequar-se ao formato do núcleo, agora alongado. Esse molde que permite ao acrossoma este novo formato é dado pelas células de Sertoli (Fig. 04) circundantes durante o processo e a porção de citoplasma ainda presente é deslocada para a porção caudal do núcleo, onde ficará na parte caudal da célula (ZIERI *et al.*, 2008).

Os microtúbulos formam a manchete, uma capa cilíndrica, e dentro dele há uma estrutura citoplasmática especializada denominada de corpo cromatóide que forma uma estrutura semelhante a um anel, sendo assim chamado de *annulus* e que circunda o axonema próximo ao centríolo proximal (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).



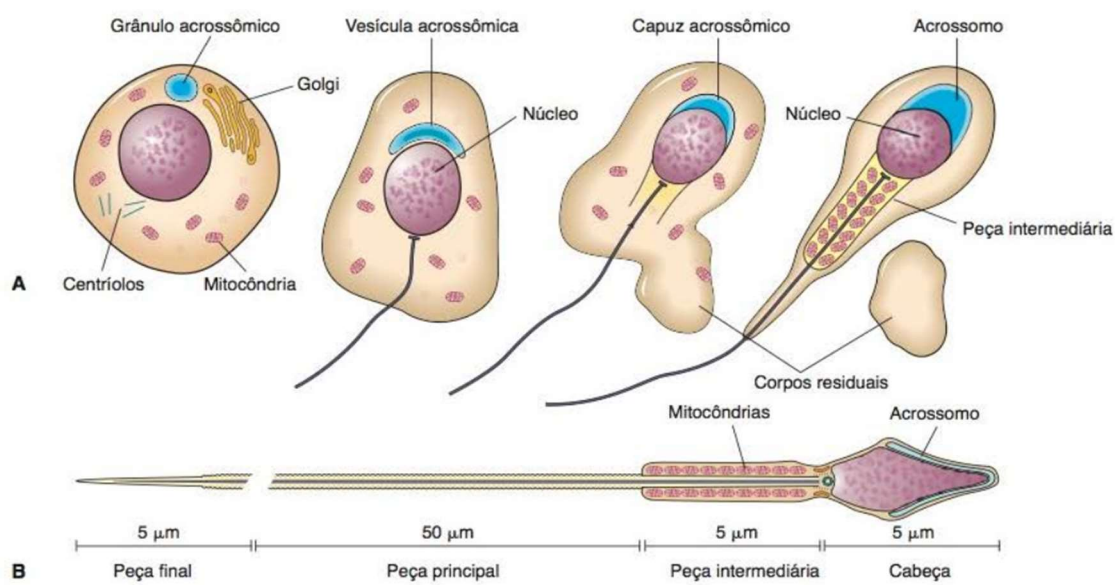
(Fonte: JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013)

Figura 04: Células de Sertoli formando a Barreira hematotesticular.

As mitocôndrias concentram-se próximas ao axonema para formar a bainha da peça intermediária da cauda, estando relacionado ao movimento da célula com um alto consumo de energia (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). O flagelo é desenvolvido a partir dos centríolos

e seu movimento vem da interação dos microtúbulos, ATP e dineína, que é uma proteína com atividade de ATPase.

A terceira, e fase final, é a de maturação, em que as espermátides passam a ser consideradas espermatozoides com posterior liberação no lúmen dos túbulos seminíferos (Fig. 05). Nesta fase, a bainha fibrosa e suas fibras subjacentes cobrem o axonema desde o colo até o início da peça terminal. O *annulus* desloca-se ao longo da cauda até separar a peça intermediária da peça principal da cauda e as mitocôndrias seguem compactadas dentro da bainha até o *annulus*. A manchete desaparece e ocorre a formação do citoplasma remanescente, também denominado de corpo residual, e que permanece conectado por um filamento de citoplasma que por sua vez é interligado a outros corpos residuais resultantes da divisão incompleta das células germinativas durante a espermatocitogênese (STAUB e JOHNSON, 2018). Estes corpos residuais são fagocitados pelas células de Sertoli, caracterizando assim o final da maturação e a liberação dos espermatozoides (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).



(Fonte: JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013)

Figura 05: Principais modificações das espermátides durante a espermiogênese originando um espermatozoide.

Espermição

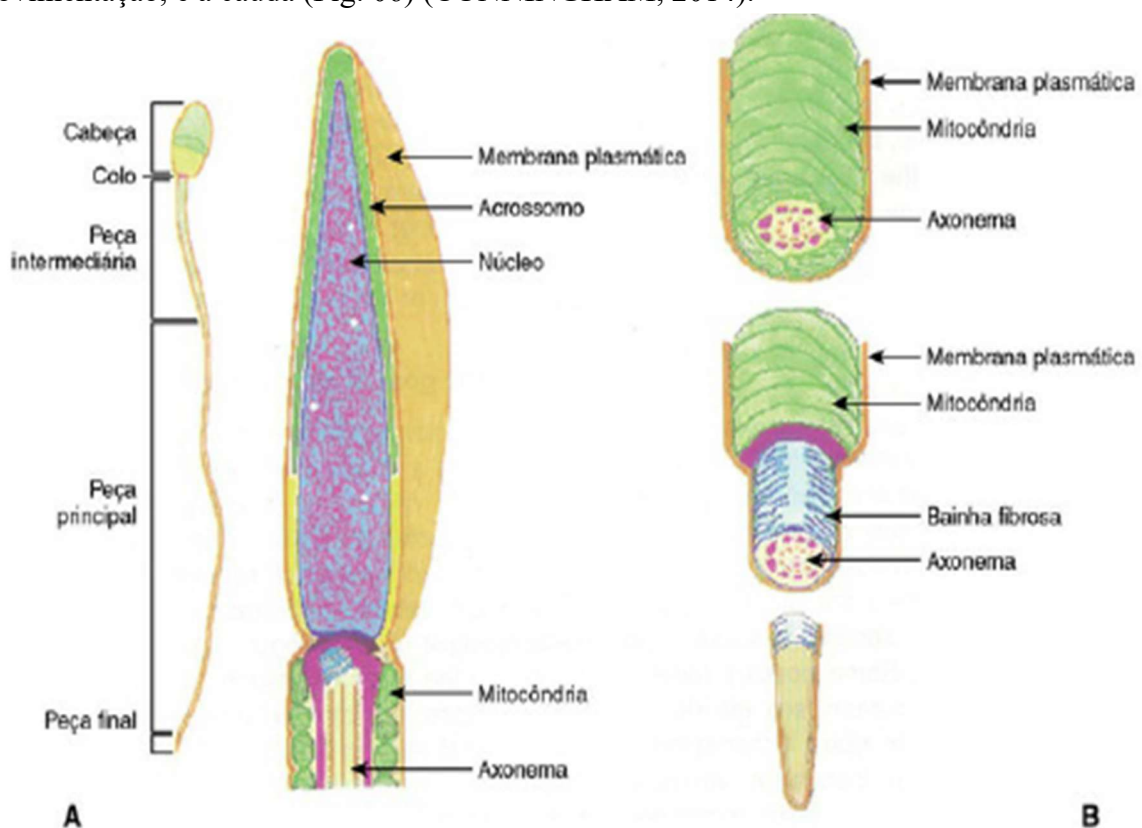
Após completar seu desenvolvimento físico nos túbulos seminíferos e se desprender das células de Sertoli protetoras, os espermatozoides são transportados e entram no complexo de ductos que compõem a rede de testículos até seu local de armazenamento, o epidídimo, e são preparados para a ejaculação. Ou seja, a espermição é a liberação dos espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos, que ocorre quando a espermiogênese se completa e o excesso de citoplasma é perdido (COLVILLE, 2010). Os espermatozoides que chegam ao epidídimo não têm motilidade progressiva e não possuem potencial para fertilização natural e passam por um período entre 1 a 2 semanas de maturação (WU *et al.*, 2015).

O epidídimo é um tubo contorcido e longo, formado por uma estrutura lisa, semelhante a uma fita, posicionada ao longo da superfície do testículo conectando os ductos eferentes ao ducto deferente. Pode ser dividido em três regiões: cabeça (local de entrada dos

espermatozoides), sendo os espermatozoides recém-formados praticamente imóveis, transportados ao epidídimo pelas secreções líquidas dentro dos túbulos seminíferos e da rede testicular e pela atividade dos elementos contráteis dos testículos, que direcionam este líquido para a cabeça do epidídimo. Também dividido em corpo e cauda (principal segmento onde os gametas masculinos são armazenados). Sua função principal é o armazenamento e o amadurecimento dos espermatozoides (DUKES, 2017).

Como citado antes, os espermatozoides que chegam ao epidídimo não têm motilidade progressiva e também não possuem potencial para fertilização natural, passando por um período entre 1 a 2 semanas de maturação no epidídimo. No processo de maturação, ocorrem diversas alterações e são adicionadas proteínas à membrana espermática com diferentes tipos de funções, são elas a lactoferrina, clusterina, fosfatidiletanolamina e também a apolipoproteína A1 e glicoproteínas do glicocálix, para proteção contra aglutinação dos espermatozoides pela cabeça. Outro mecanismo de proteção é o da ação das enzimas glutatona peroxidase e tioredoxina, secretadas no fluido epididimal (DACHEUX e DACHEUX, 2014; WU *et al.*, 2015).

Após o processo de espermição, o espermatozoide é formado por uma cabeça, contendo o material genético que posteriormente será combinado com o material genético proveniente do oócito e o acrossoma contendo enzimas hidrolíticas necessárias para a penetração no oócito; a peça intermediária, contendo mitocôndrias que fornecem energia para a movimentação, e a cauda (Fig. 06) (CUNNINGHAM, 2014).

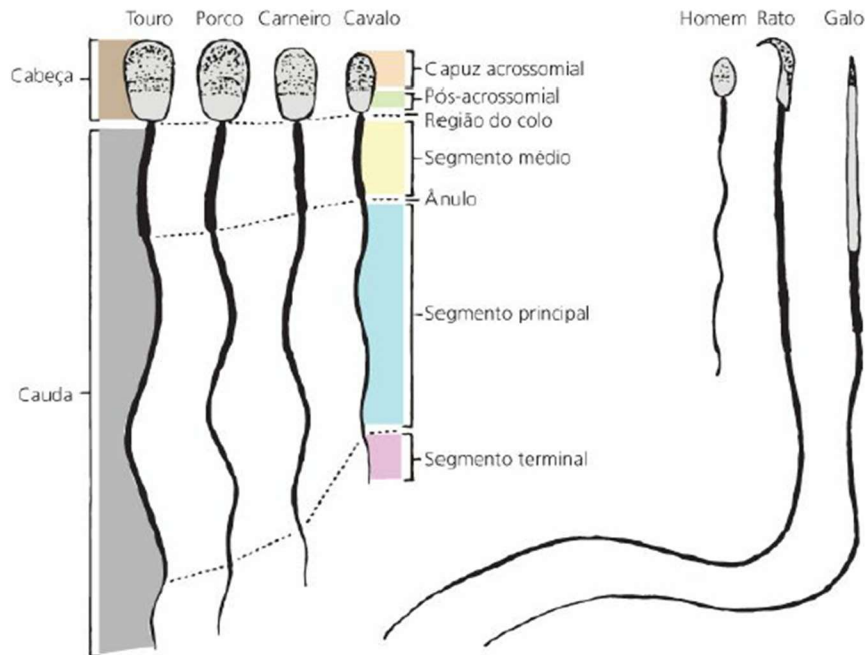


(Fonte: CUNNINGHAM, 2014)

Figura 06: Principais elementos que formam um espermatozoide de mamífero.

Obs.: A = Cabeça; B = Peça intermediária (em cima), principal (centro) e porção final (embaixo).

Na Fig. 07, pode ser observado os diferentes tipos morfológicos de espermatozoides de algumas espécies animais:



(Fonte: DUKES, 2017)

Figura 07: Comparação dos espermatozoides de alguns animais e do homem.

Importante ressaltar que os espermatozoides morfológicamente anormais também são formados e se ultrapassarem 60% do total haverá um comprometimento da fertilidade. Exemplos como cabeças ou caudas duplas, prejudicam a motilidade dos espermatozoides, bem como variações na forma e no tamanho da cabeça podem indicar alterações, como ausência do acrossoma, condensação insuficiente da cromatina e mutações no material genético. As anomalias morfológicas dos gametas masculinos dificultam ou impedem o seu movimento e o processo de fertilização (MONTANARI, 2019).

A gota citoplasmática

Durante a passagem no epidídimo, a maturação está relacionada com diversos aspectos da integridade funcional e estrutural dos espermatozoides, como uma ativação gradual dos padrões metabólicos, aquisição da capacidade de fecundação, estruturação de organelas específicas da cauda, modificações na cromatina nuclear e na natureza da superfície de membrana plasmática, assim como o potencial de adquirir motilidade e por fim, a liberação da gota citoplasmática (MUKAI e OKUNO, 2004; COOPER, 2011; GIBB e AITKEN, 2016).

Durante o trânsito epididimário, os espermatozoides, acontece a migração da gota citoplasmática (GC), relatada pela primeira vez por Merton (1939). Essa migração, relacionada com o processo de maturação espermática, ocorre do colo ou região proximal da peça intermediária até a região distal da peça intermediária do espermatozoide (XU *et al.*, 2013; ANGRIMANI *et al.*, 2017).

Todo o processo de migração da GC no epidídimo ainda não é totalmente compreendido (MOORE *et al.*, 2010). Supõe-se que os movimentos peristálticos realizados pelas células mioides, agindo sobre os espermatozoides dentro do lúmen favorecem esse deslocamento

(COOPER, 2005; HERMO *et al.*, 2010). Erros durante a migração gerando posicionamentos anormais podem ser um indicativo de falhas durante a espermatogênese (YUAN *et al.*, 2013).

A primeira função da GC é a regulação da osmolaridade, que está relacionada à entrada ou saída de água do espermatozoide no epidídimo, mantendo a integridade de membrana (YUAN *et al.*, 2013), uma vez que essas células enfrentam desafios hiposmóticos (ANGRIMANI *et al.*, 2017) e com pouco citoplasma, não possuem organelas suficientes para a osmorregulação (RENGAN *et al.*, 2012). As GCs contêm canais de osmólitos e facilitam a osmose em conjunto com o epidídimo, favorecendo uma osmoadação, vital para a viabilidade espermática (CARREIRA *et al.*, 2012).

As GCs estão associadas a regulação do metabolismo energético e desenvolvimento de motilidade durante o processo de maturação espermática (XU *et al.*, 2013; AU *et al.*, 2015). A composição da GC com lipídios, RNAs, lipoproteínas e enzimas hidrolíticas no seu citoplasma, está ligada à atividade mitocondrial do espermatozoide e, conseqüentemente, a geração de energia (COOPER, 2011; ANGRIMANI *et al.*, 2017). Ela suporta eventos moleculares e celulares, transição essencial para um espermatozoide imóvel e infértil se tornar móvel e fértil (AU *et al.*, 2015).

A retenção de GCs nos espermatozoides ejaculados tem sido associada à infertilidade (AMANN *et al.*, 2000; KUSTER *et al.*, 2004) e sua ausência em espermatozoides do ejaculado, normalmente tem relação positiva com a fertilidade, pois ela desempenha importante papel como organela transitória com diferentes funções essenciais para maturação do espermatozoide. Na maioria dos mamíferos, a gota migra pela cauda e é liberada durante a ejaculação (COOPER, 2011), no entanto, o mecanismo exato dessa liberação ainda não foi esclarecido (COOPER, 2005). Espermatozoides ejaculados são aptos à fertilização graças às funções desempenhadas pela GC durante o seu trânsito epididimário (SOARES e MACHADO-NEVES, 2020).

Duração da espermatogênese

Na puberdade a espermatogênese se inicia, quando as espermatogônias-tronco, começam a se diferenciar em espermatogônias, devido a estímulos hormonais (GALUPPO, 2015). A espermatogênese é um processo longo, no qual as células germinativas diplóides, localizadas na base dos túbulos seminíferos, se dividem por mitose para manter seu próprio número. De maneira cíclica, as células produzem uma progênie que sofre divisão meiótica e diferenciação em espermátides haplóides, que são liberadas posteriormente como espermatozoides (CASTRO *et al.*, 2002).

A espermatogênese é um processo sincrônico que dura em torno de 40 a 60 dias. A espermatocitogênese tem duas importantes funções: as divisões mitóticas das espermatogônias tipo A produzem outras espermatogônias que não estão envolvidas no processo de produção de espermatozoides, de forma a manter uma população de células-tronco; as espermatogônias tipo A tornam-se do tipo B, que em seguida se dividem por mitose para produzir espermatócitos 1^{ários}, os quais se dividem por meiose e formam os espermatócitos 2^{ários} (APONTE *et al.*, 2005).

Os espermatócitos secundários resultantes, apresentam núcleo menor e entram em segunda divisão meiótica, formando as espermátides haplóides, que são células arredondadas com núcleo arredondado, pequeno e claro, e formam camadas na metade luminal do epitélio seminífero (ASSIS NETO *et al.*, 2003a; APONTE *et al.*, 2005). Estas células sofrem alterações

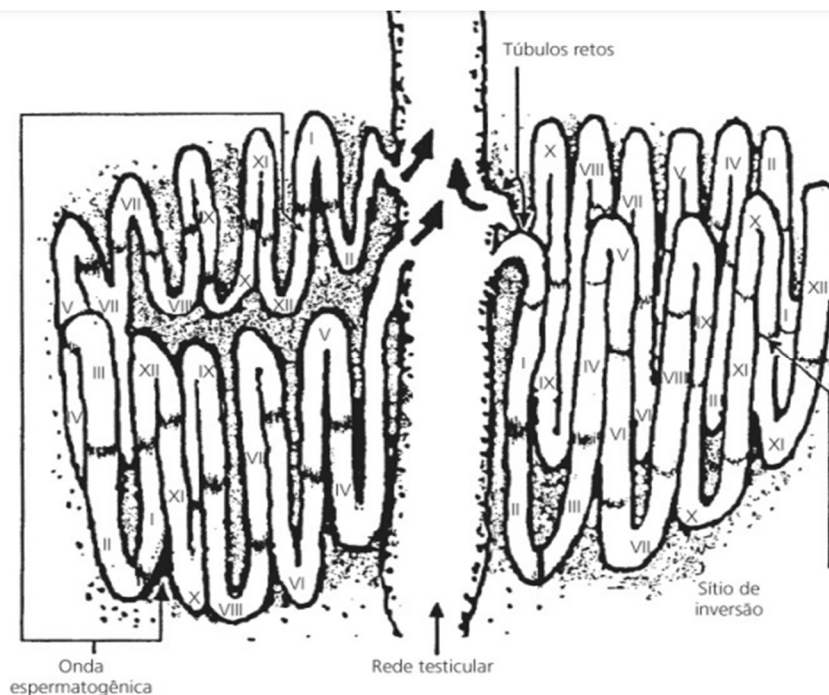
citoplasmáticas e nucleares, alterando sua forma e originando espermátides alongadas e posteriormente dão origem aos espermatozoides (COUROT *et al.*, 1970).

Considerando-se o tempo de trânsito no epidídimo, o intervalo entre a espermatogônia tipo A até os espermatozoides ejaculados é de aproximadamente 60 a 70 dias para o carneiro e o touro; de 50 a 60 dias para o porco, o cão e o cavalo. Assim, o intervalo entre um evento que afete de modo adverso o testículo ou o epidídimo, a diminuição da qualidade do sêmen pode variar de alguns dias a dois meses. Pelo menos 60 dias serão necessários para que o ejaculado volte ao normal após um dano tóxico ao testículo (CUNNINGHAM, 2014).

No garanhão, o tempo em que uma espermatogônia se torna um espermatozoide dentro do lúmen do túbulo seminífero é de 55 a 57 dias. Em cerca de nove dias ocorre o transporte dos espermatozoides através do sistema de ductos epididimários, conseqüentemente, uma nova população de gametas masculinos pode ser ejaculada após 64 a 66 dias (JOHNSON *et al.*, 1991; LOVE, 2018).

Onda espermatogênica

A alteração sequencial do estágio do ciclo do epitélio seminífero ao longo do comprimento do túbulo seminífero é conhecida como onda espermatogênica (Fig. 08) (DUKES, 2017).



(Fonte: DUKES, 2017)

Figura 08: Representação da onda espermatogênica.

Se todos os segmentos dos túbulos seminíferos estivessem envolvidos com o mesmo grau de atividade ao mesmo tempo, não seria possível produzir um suprimento contínuo de espermatozoides porque a espermatocitogênese requer cerca de 64 dias, no touro, para ser concluída no compartimento adluminal. Embora esse desenvolvimento seja contínuo, uma nova espermatogônia tipo A migra pelas células de Sertoli e entra no compartimento abdominal para iniciar seu desenvolvimento e substituir a espermatogônia tipo A em desenvolvimento que a precedeu. Nos touros, isso ocorre a cada 14 dias (AMANN *et al.*, 2000; LOVE, 2002).

Como são necessários 64 dias para que os espermatozoides se desenvolvam, ocorrem 4,6 ciclos (64/14) de desenvolvimento, antes que o primeiro ciclo originado de determinada área do epitélio seminífero chegue à rede testicular. Um ciclo pode ser definido por uma série de alterações que ocorrem em determinada área do epitélio seminífero entre dois estágios de desenvolvimento aparentes. Uma parte do túbulo em um certo estágio e está em posição adjacente às partes do túbulo em estágios que o precederam, ou depois dele (DUKES, 2017).

A figura acima ilustra uma onda espermatogênica com 12 ciclos. A onda inclui uma sequência de estágios, que começam com os estágios menos avançados do meio da curva e avançam progressivamente para estágios mais desenvolvidos e mais próximos da rede testicular. Os estágios avançam em direções contrárias do sítio de inversão na parte intermediária da curva na direção da rede testicular (DUKES, 2017).

Regulação intrínseca e extrínseca da espermatogênese

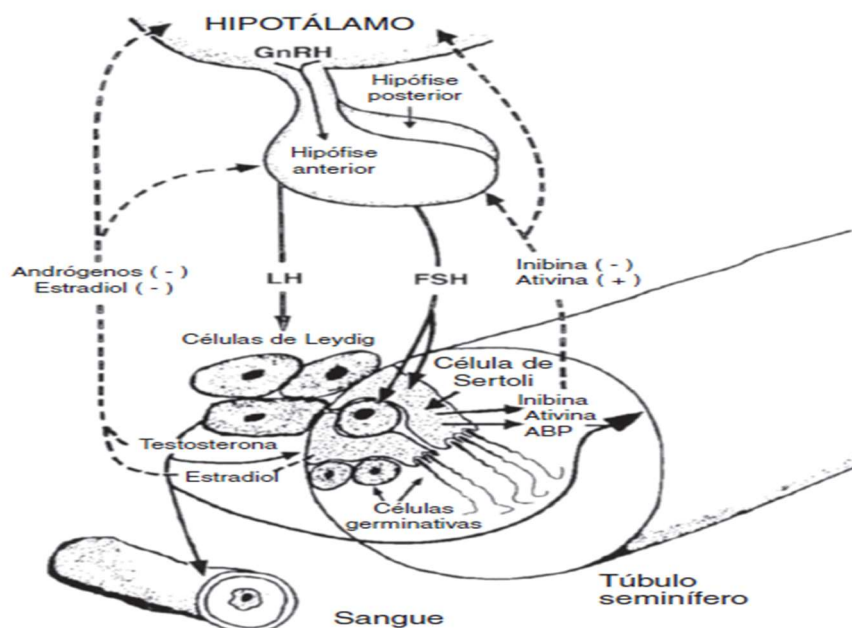
O processo da espermatogênese nos túbulos seminíferos, é mantido por diferentes mecanismos, com influências internas e externas. A regulação do seu metabolismo é importante para a manutenção da espermatogênese (RATO *et al.*, 2012). Hormônios, transmissores e fatores de crescimento, são excretados para a corrente sanguínea, agindo sobre a lâmina própria dos túbulos e nas células de Sertoli, fazendo sua manutenção e do tecido peri-tubular, atuando sobre a contratilidade dos miofibroblastos e fluxo sanguíneo, estimulando os movimentos peristálticos dos túbulos e o transporte espermático (MIDDENDORFF *et al.*, 1997).

Além disso, diferentes fatores de crescimento (IGF1, TGF β , NGF), que são sintetizados pelas células de Sertoli e por vários tipos de células da linhagem espermatogênica (germinativas), participam de um complexo círculo de regulação das funções celulares e do desenvolvimento das células germinativas. Todos os fatores juntos representam uma regulação independente, intra-testicular (intrínseca) da espermatogênese (HOLSTEIN *et al.*, 2003).

A regulação da espermatogênese, dentro dos testículos, necessita de estímulos extra-testiculares, vindos do hipotálamo e da hipófise. A secreção pulsátil do hormônio hipotalâmico liberador de gonadotrofina (GnRH), estimula a síntese e liberação do hormônio luteinizante (LH) pela hipófise, controlando a atividade secretora das células de Leydig, que sintetizam a testosterona, a qual estimula a espermatogênese. A estimulação das células de Sertoli, pelo hormônio folículo estimulante (FSH), permite o desenvolvimento e maturação das células germinativas, bem como a síntese de outro hormônio, a inibina, com ação inibitória sobre o mecanismo de feedback com a hipófise. As influências extra-testiculares, tem uma função básica e importante sobre as funções de regulação intra-testiculares (HOLSTEIN *et al.*, 2003).

Controle endócrino da espermatogênese

Os testículos produzem andrógenos e uma série de hormônios esteróides. A principal ação dos andrógenos é sobre as células de Sertoli (Fig. 09) e não tanto diretamente sobre as células germinativas. Além de receptores de superfície para o hormônio folículo estimulante (*follicle-stimulating hormone* – FSH), as células de Sertoli possuem receptores nucleares para andrógenos, medindo o seu efeito sobre as células germinativas. Pela união por junções de adesão e desmossomos, elas sustentam e translocam as células germinativas da base para o ápice do epitélio de onde serão liberadas. Através de junções *gap*, nutrem as células germinativas e regulam a espermatogênese (STABENFELDT e EDQVIST, 1996).



(Fonte: Adaptado de KALTENBACK e DUNN, 1982)

Figura 09: Controle endócrino da função testicular em mamíferos.

Dentre as várias substâncias produzidas pelas células de Sertoli, citam-se a proteína de ligação ao andrógeno (*androgen-binding protein* – ABP), a ativina (membro da família do TGF- β), a inibina e o ativador de plasminogênio (PA). A ABP liga-se à testosterona, aumentando os seus níveis nos túbulos seminíferos, sendo necessária uma concentração de testosterona 200 vezes maior que a plasmática para a espermatogênese ocorrer. As ativinas, formadas por dímeros de liberação de FSH (dímeros da subunidade- β da inibina), possuem mecanismos parácrinos (inibindo o hormônio do crescimento e a secreção adrenocorticotrófica) e autócrinos (estimulando a secreção de FSH). Já as inibinas exercem um feedback negativo sobre o hormônio folículo estimulante (KRETZER *et al.*, 1998).

O ativador de plasminogênio é uma enzima estimulada pelo FSH e inibitória da testosterona que atua na reestruturação de tecidos na migração celular e na trajetória das células germinativas da região basal para o lúmen, permitindo, assim, a liberação das espermátides maduras. Também está associada à movimentação dos espermátócitos e é responsável pela reabsorção de corpos residuais (DADOUNE e DEMOULIN, 1993).

As células intersticiais ou células de Leydig, são responsáveis pela produção de hormônios esteróides como a testosterona e o estrógeno. No hipotálamo, o GnRH estimula a síntese e liberação do LH pela hipófise, estimulando as células de Leydig a produzir testosterona. A testosterona é distribuída pelo organismo gerando uma retroalimentação negativa para a hipófise relacionada à atividade secretória das células de Leydig e nos túbulos seminíferos o andrógeno atua diretamente no processo de espermatogênese (HOLSTEIN *et al.*, 2003; PETERSEN e SÖDER, 2006; RUWANPURA *et al.*, 2010).

Por não ter receptores de FSH, essa gonadotrofina possivelmente estimula as células de Sertoli a liberar paratormônio (PTH), influenciando o crescimento e diferenciação das células de Leydig via fluido intersticial, aumentando os receptores de LH e, conseqüentemente, a secreção da testosterona (DADOUNE e DEMOULIN, 1993).

O estrógeno é sintetizado por três células no organismo masculino: as células de Sertoli, as células de Leydig e as células germinativas. Nos machos, o estrógeno apresenta níveis baixos, principalmente na circulação periférica, porém é encontrado em altas concentrações no sêmen de algumas espécies, por apresentar um papel fisiológico na espermatogênese, aumentando a concentração espermática da forma como eles entram no epidídimo. O estrógeno é encontrado em concentrações maiores nos fluidos da *rete testis*, sendo os ductos eferentes a porção que contém a maior concentração de receptores de estrógeno em órgãos investigados até o momento, sendo capazes de absorver aproximadamente 90% dos fluidos luminiais (HESS *et al*, 2001a; HESS *et al*, 2001b; LIU e HANDELSMAN, 2003).

Além da atuação de hormônios, a espermatogênese é também afetada por fatores de crescimento e citocinas que influenciam na mitose e meiose das células germinativas (KRETZER, 1998). Estas citocinas são produzidas por células de origem imune e auto-imune após estímulo, tais como macrófagos e linfócitos. Dentre elas, pode-se citar as interleucinas IL-1 e IL-6 que são produzidas pelas células de Sertoli e são capazes de potencializar a ação de fator parácrino em células testiculares, assim como são importantes para a regulação da função linfocitária local, atuando na proteção imunológica (HULEIHEL e LUNENFELD, 2004).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), também denominado de somatomedinas, é um polipeptídeo de cadeia única, secretado pelo fígado e outros tecidos após estímulos gerados pelo hormônio do crescimento. O IGF-I tem função de regular a proliferação e diferenciação de vários tipos celulares, bem como efeitos metabólicos semelhantes à insulina (HAFEZ e HAFEZ, 2004). As células de Sertoli também sintetizam IGF-I, sob o controle e estímulo do FSH. Neste caso, o IGF se liga ao espermátócito no estágio de paquíteno e estimula sua diferenciação (DADOUNE e DEMOULIN, 1993).

Os hormônios tireoidianos são importantes para o crescimento e desenvolvimento de muitos tecidos e suas alterações podem causar anormalidades testiculares. O hipotireoidismo induz um macroorquidismo, aumento do número de células de Sertoli, de Leydig, de células germinativas e a produção diária de espermatozoides. Receptores de triiodotironina (T3) foram identificados nessas células e está claro que ele regula diretamente as funções das células de Sertoli e de Leydig (MARAN, 2003).

Ação das células de Sertoli e de Leydig sobre a espermatogênese

As células de Sertoli se localizam próximas à membrana basal dos túbulos seminíferos e se comunicam com células adjacentes por junções intercelulares. Elas têm como função, dentre outras, dar suporte físico às células espermatogênicas e também são responsáveis pela formação da barreira hematotesticular, separando o epitélio seminífero em dois compartimentos: basal e adluminal (RUSSELL e FRANÇA, 1995; ALVES *et al.*, 2013).

Elas favorecem o desenvolvimento das células da linhagem germinativa de diferentes formas: fornecem suporte estrutural e aporte nutricional; fagocitam células em degeneração e os corpos residuais durante a espermiogênese; liberam os espermatozoides na luz dos túbulos seminíferos (espermição); secretam fluidos para o lúmen tubular, favorecendo o deslocamento dos espermatozoides até o epidídimo (RUSSELL e FRANÇA, 1995; MARINA, 2003).

Morfologicamente, são células complexas, com citoplasma pouco corado e limites pouco precisos. Possui um núcleo irregular, nucléolo evidente e de comprimento variável, geralmente perpendicular à membrana basal e alongado em direção ao lúmen tubular. Com o

avanço da idade, as células de Sertoli aumentam de tamanho, devido ao alongamento do núcleo e da expansão do citoplasma (ASSIS NETO *et al.*, 2003; APONTE *et al.*, 2005).

O número de células de Sertoli é proporcional ao peso testicular, ao número de diferentes populações de células germinativas e à produção espermática (BERNDTSON e JONES, 1989). Assim, a sua capacidade funcional é um importante indicador da eficiência da produção espermática, pois cada uma delas suporta um número limitado de células germinativas (RUSSELL e FRANÇA, 1995; FRANÇA *et al.*, 2005).

Durante o amadurecimento das células de Sertoli, são formadas projeções citoplasmáticas e uniões entre pontos da membrana plasmática (junções de oclusão), formando a barreira hematotesticular e a divisão do epitélio, em basal e adluminal, que são compartimento mais adequados à evolução das células germinativas, pois não sofrem interferências externas diretas. Por outro lado, são dependentes em relação ao acesso de nutrientes e hormônios, pois qualquer substância para entrar nesse microambiente, precisa ser transportada ou secretada pela própria célula de Sertoli (RUSSELL e FRANÇA, 1995; MARINA, 2003).

As primeiras células de Leydig se desenvolvem durante a fase fetal e são responsáveis pela secreção de testosterona e masculinização do sistema urogenital. Após o nascimento, sua produção hormonal estimula a atividade espermatogênica e a manutenção da função reprodutiva. As células de Leydig adultas diferenciadas não se proliferam mais e formando uma população estável. São substituídas pela proliferação e diferenciação de células-tronco mesenquimais (LEJEUNE *et al.*, 1998).

A célula de Leydig apresenta núcleo excêntrico, de arredondado a ovóide e uma grande quantidade de retículo endoplasmático liso, relacionada com sua capacidade de secretar testosterona (SMITH e WALKER, 2014). A secreção de testosterona é influenciada pela quantidade de LH disponível, pelo número de receptores de LH por célula, pela velocidade de saída da testosterona dos testículos via vasos linfáticos, sanguíneos e fluidos seminais, pelo volume sanguíneo e pela taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL e FRANÇA, 1995).

Distúrbios da espermatogênese

Proliferação e diferenciação das células germinativas masculinas e os mecanismos intra e extratesticulares de regulação da espermatogênese, podem ser perturbadas em diferentes níveis do processo, podendo ocorrer por doenças que afetam direta ou indiretamente a espermatogênese. Além disso, diferentes substâncias nutritivas e terapêuticas, medicamentos, hormônios e seus metabólitos, substâncias tóxicas ou radiação X, além do aumento da temperatura, podem reduzir ou cessar a espermatogênese (HOLSTEIN *et al.*, 2003). Distúrbios da espermatogênese em bovinos, com alterações morfológicas nos espermatozoides, podem estar ligados a uma transmissão genética do problema (CHENOWETH, 2005).

Sob essas influências negativas, os testículos não respondem de forma satisfatória e levam à redução da espermatogênese, podendo ser expresso por: reduzido número de espermátides maduras; má formação das espermátides; falta de espermição; perturbação do processo de meiose; interrupção da espermatogênese no estágio de espermátocitos I^{ários} e multiplicação reduzida ou apoptose das espermatogônias. Se as espermatogônias sobreviverem, a espermatogênese poderá ser resgatada, caso contrário ela cessa (HOLSTEIN *et al.*, 2003).

Os distúrbios da espermatogênese são avaliados em cortes histológicos de biópsias testiculares, sendo a mais adequada, a técnica do corte semi-fino em resina epóxi. Essa técnica

permite a preservação e visualização todos os detalhes das células do testículo, favorecendo uma avaliação adequada. Os resultados da avaliação histológica do tecido testicular são apresentados em uma contagem de pontuação (HOLSTEIN *et al.*, 2003):

Contagem de pontuação para avaliação de espermatogênese

- 10** = Espermatogênese intacta: muitas espermatídes (tídes) maduras e zonas de espermição;
- 09** = Espermatogênese modesta: número reduzido de espermatídes maduras, algumas zonas de espermição;
- 08** = Espermatogênese reduzida distinta: poucas espermatídes maduras, sem espermição;
- 07** = Espermatogênese muito reduzida: apenas imaturas, sem espermição;
- 06** = Espermatogênese severamente reduzida: apenas algumas espermatídes imaturas, altura reduzida do epitélio germinativo;
- 05** = Parada da gênese no estágio de espermatócitos 1^{ários}: muitos espermatócitos margeiam o lúmen do túbulo seminífero;
- 04** = Parada da gênese no estágio de espermatócitos 1^{ários}: alguns espermatócitos estão presentes;
- 03** = Parada no estágio de espermatogônias: um tipo de espermatogônia se multiplica, mas não se desenvolve em células maduras de espermatogênese;
- 02** = Sem células germinativas, apenas células de Sertoli estão presentes;
- 01** = Sem células germinativas e sem células de Sertoli. O túbulo seminífero é substituído pela substância fundamental do tecido conjuntivo (sombra do túbulo).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A série de eventos celulares que compõem a espermatogênese mostra a importância dos fatores extrínsecos e intrínsecos, que fazem parte desse processo que culmina com a formação dos espermatozoides, sendo possível verificar a relação entre a gametogênese e o controle endócrino e parácrino deste fenômeno. Estudos sobre a espermatogênese e as funções testiculares de diferentes espécies têm um importante papel em trabalhos de reprodução com foco conservacionista, ademais, algumas espécies podem ser usadas em pesquisas relacionadas à saúde humana. Assim, a compreensão do processo espermatogênico é fundamental para o estabelecimento de técnicas para se otimizar a utilização de um reprodutor.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M.G.; RATO, L.P.; CARVALHO, R.A.; MOREIRA, P.I. Hormonal control of Sertoli cell metabolism regulates spermatogenesis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.70, n.5, p.777-793, 2013.
- AMANN, R.P.; SEIDEL, G.E.Jr.; MORTIMER, R.G. Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with proximal droplet. **Theriogenology**, v.54, n.9, p.1499-1515, 2000.

ANGRIMANI, D.S.R.; LOSANO, D.S.R.; LUCIO, C.F.; VEIGA, G.A.L.; LANDIM, F.C.; NICHI, M.; VANNUCCHI, C.I. Cytoplasmic droplet acting as a mitochondrial modulator during sperm maturation in dogs. **Animal Reproduction Science**, v.181, n.1, p.50-56, 2017.

APONTE, P.M.; ROOIJ, D.G.; BASTIDAS, P. Testicular development in Brahman bulls. **Theriogenology**, v.64, n.6, p.1440-1455, 2005.

ASSIS NETO, A.C.; CARVALHO, M.A.M; MELO, M.I.V.; MIGLINO, M.A.; OLIVEIRA, M.F.; MARIANA, A.N.B. Fases do desenvolvimento e diferenciação testicular em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros Braz. **Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, supl.1, p.71-79, 2003.

AU, C.E.; HERMO, L.; BYRNE, E.; SMIRLE, J.; FAZEL, A.; KEARNEY, R.E.; SMITH, C.E.; VALI, H.; FERNANDEZ-RODRIGUEZ, J.; SIMON, P.H.; MANDATO, C.; NILSSON, T.; BERGERON, J.J. Compartmentalization of membrane trafficking, glucose transport, glycolysis, actin, tubulin and the proteasome in the cytoplasmic droplet/Hermes body of epididymal sperm. **Open Biology**, v.5, p.1-18, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/281341834_Compartmentalization_of_membrane_trafficking_glucose_transport_glycolysis_actin_tubulin_and_the_proteasome_in_the_cytoplasmic_droplet_HERMES_body_of_epididymal_sperm. Acessado em: 07/05/2022.

AULER, P.A.; MOREIRA, G.H.F.A.; HOGG, C.O.; ASHWORTH, C.J.; BORTOLOZZO, F.P.; CHIARINI-GARCIA, H.; ALMEIDA, F.R.C.L. Testicular parameters and spermatogenesis indifferent birthweight boars. **Reproduction Fertility and Development**, v.29, n.9, p.1720-1728, 2017.

AVELAR, G.F.; OLIVEIRA, C.F.A.; SOARES, J.M.; SILVA, I.J.; DOBRINSKI, I.; HESS, R.A.; FRANÇA, L.R. Post-natal somatic cell proliferation and seminiferous tubule maturation in pigs: A non-random event. **Theriogenology**, v.74, n.1, p.11-23, 2010.

BALINSKY, J. Reflections on respecialization. **The Clinical Psychologist**, v.36, n.3, p.67-68, 1983.

BERNDTSON, W.E.; JONES, L.S. Relationship of intratesticular testosterone content of stallions to age, spermatogenesis, Sertoli cell distribution and germ cell-Sertoli cell ratios. **Journal of Reproduction and Fertility** v.85, n.2, p.511-8, 1989.

CARREIRA, J.T.; MINGOTI, G.Z.; RODRIGUES, L.H.; SILVA, C.; PERRI, S.H.V.; KOIVISTO, M.B. Impact of proximal cytoplasmic droplets on quality traits and in-vitro embryo production efficiency of cryopreserved bull spermatozoa. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.54, n.1, p.1-7, 2012.

CASTRO, A.C.S.; BERNDTSON, W.E.; CARDOSO, F.M. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n.1, p.25-34, 2002.

CHENOWETH, P.J. Genetic Sperm Defects. **Theriogenology**, v.64, n.3, p.457-468, 2005

CHOCU, S.; CALVEL, P.; ROLLAND, A.D.; PINEAU, C. Spermatogenesis in mammals: proteomic insights. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v.58, n.4, p.179-190, 2012.

COOPER, T.G. Cytoplasmic droplets: The good, the bad or just confusing? **Human Reproduction**, v.20, n.1, p.9-11, 2005.

COOPER, T.G. The epididymis, cytoplasmic droplets and male fertility. **Asian Journal of Andrology**, v.13, n.1, p.130-138, 2011.

COUROT, M.; de RIVIERS, M.T.H.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A.D.; GOMES W.R.; VANDEMARK, N.L. (Eds.) **The testis**. 1. ed. New York and London: Academic Press, v.1, cap.6, 1970. p.339-432.

COLVILLE, T.P. **Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária**. 2. ed., São Paulo: Elsevier, 2010.

COSTA, D.S.; FARIA, F.J.; FERNANDES, C.A.; SILVA, J.C.B.; AUHAREK, S.A. Testis morphometry and kinetics of spermatogenesis in the feral pig (*Sus scrofa*). **Animal Reproduction Science**, v.142, n.1/2, p.63-70, 2013.

CUNNINGHAM, J.C. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5. ed. Revisada e atualizada. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda., 2014.

CURTIS, S.K.; AMANN, R.P. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. **Journal of Animal Science**, v.53, n.6, p.1645-1657, 1981.

DACHEUX, J.L.; DACHEUX, F. New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. **Reproduction**, v.147, n.2, p.27-42, 2014.

DADOUNE, J; DEMOULIN, A. Structure and functions of testis. In: THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M.C.; HUNTER, R.H.F. **Reproduction in mammals and man**. 1. ed., Paris: Ellipses, cap.13, 1993. p.227-255.

DUKES, H.H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 13. ed. Revisada e atualizada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

EVANS, A.C.O.; PIERSON, R.A.; GARCIA, A.; MCDUGALL, L.M.; HRUDKA, F.; RAWLINGS, N.C. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, v.46, n.2, p.345-347, 1996.

FAWCETT, D.W. **Ultrastructure and function of the Sertoli cell**. 1. ed. Washington, D.C., American Physiological Society, 1975.

FLOWERS, W.L. Genetic and phenotypic variation in reproductive traits of AI boars. **Theriogenology**, v.70, n.8, p.1297-1303, 2008.

FRANÇA, L.R.; SILVA, V.A.Jr.; CHIARINI-GARCIA, H.; GARCIA, S.K.; DEBELJUK, L. Cell proliferation and hormonal changes during post development of the testis in the pig. **Biological Reproduction**, v.63, n.6, p.1629-1636, 2000.

FRANÇA, L.R.; AVELAR, G.F.; ALMEIDA, F.F.L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**, v.63, n.2, p.300-318, 2005.

GADELLA, B.M.; LUNA, C.C. Cell biology and functional dynamics of the mammalian sperm surface. **Theriogenology**, v.81, n.1, p.74-84, 2014.

GALUPPO, A.G.S. Spermatogonial stem cells as a therapeutic alternative for fertility preservation of prepubertal boys. **Einstein (São Paulo)**, v.13, n.4, p.637-639, 2015.

GIBB, Z.; AITKEN, R.J. The impact of sperm metabolism during in vitro storage: the stallion as a model. **Biomed Research International**, v.16, p.1-8, 2016. Disponível em: https://downloads.hindawi.com/journals/bmri/2016/9380609.pdf?_gl=1*16mjf10*_ga*MTgxNjk3OTMxNy4xNjk4ODQzNTUy*_ga_NF5QFMJT5V*MTY5ODg0MzU1Mi4xLjAuMTY5ODg0MzU1Mi42MC4wLjA.&_ga=2.83982681.1555909459.1698843552-1816979317.1698843552. Acessado em: 23 03. 2022.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. Reprodução Animal. 7. ed., Manole, São Paulo. cap.7, 2004. p.97-107.

HERMO, L.; PELLETIER, R.M.; CYR, D.G.; SMITH, C.E. Surfing the wave, cycle, life history, and genes/proteins expressed by testicular germ cells. **Microscopy Research and Technique**, v.73, n.4, p.320-363, 2010.

HESS, R.A.; BUNICK, D.; BAHR, J. Estrogen, its receptors and function in the male reproductive tract – review. **Molecular Cells Endocrinology**, v.178, n.1/2, p.29-38, 2001a.

HESS, R.A.; ZHOU, Q; NIE, R.; OLIVEIRA, C.; CHO, H.; NAKAIA, M.; CARNES, K. Estrogens and epididymal function. **Reproduction Fertility and Development**, v.13, n.4, p.273-83, 2001b.

HORDER, T.J. The organizer concept and modern embryology: Anglo-American perspectives. **The International Journal of Developmental Biology**, v.45, n.1, p.97-132, 2001.

HOLSTEIN, A.F.; SCHULZE, W.; DAVIDOFF, M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.1-16, 2003.

HULEIHEL, M; LUNENFELD, E. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors. **Asian Journal of Andrology**, v.6, n.3, p.259-268, 2004.

JOHNSON, L.A. Sexing mammalian sperm for production of offspring: the state-of-the-art. **Animal Reproduction Science**, v.60/61, p.93-107, 2000.

JOHNSON, L.; VARNER, D.D.; THOMPSON JR., D.L. Effect of age and season on the establishment of spermatogenesis in the horse. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.44, supl. 1, p.87-97, 1991.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12. ed., Grupo GEN. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro/RJ, 2013.

KRETZER, D.M.; LOVELAND, K.L.; MEINHARDT, A.; SIMORANGKIR, D; WREFORD, N. Spermatogenesis. **Human Reproduction**, v.13, supl.1, p.1-8, 1998.

KUSTER, C.E.; HESS, R.A.; ALTHOUSE, G.C: Immunofluorescence reveals ubiquitination of retained distal cytoplasmic droplets on ejaculated porcine spermatozoa. **Journal of Andrology**, v.25, n.3, p.340-347, 2004.

LEJEUNE, H.; HABERT, R.; SAEZ, J.M. Origin, proliferation and differentiation of Leydig cells. **Journal of Molecular Endocrinology**, v.20, n.1, p.1–25, 1998.

LIN, Y.; CHENG, X.; SUTOVSKY, P.; WU, D.; CHE, L.Q.; FANG, Z.F.; XU, S.Y.; REN, B.; DONG, H.J. Effect of intra-uterine growth restriction on long-term fertility in boars. **Reproductin, Fertility and Development**, v.29, n.2, p.374-382, 2017.

LIU, P.Y.; HANDELSMAN, D.J. The present and the future state of hormonal treatment for male infertility. **Human Reproduction Update**, v.9, n.1, p.9-23, 2003.

LOVE, C.C. Stallion semen evaluation and interpretation. **Proceedings Society for Theriogenology**, American College of Theriogenologists, v.57, n.1, p.93-102, 2002.

LOVE, C.C. Sperm quality assays: How good are they? The horse perspective. **Animal Reproduction Science**, v.194, p.63-70, 2018.

MARAN, R.R. Thyreoid hormones: their role in testicular steroidogenesis. **Archives of Andrology**, v.49, n.5, p.375-388, 2003.

MARINA S. Avances en conocimiento la espermatogénesis. **Revista Iberoamericana de Fertilidade**, v.20, n.4, p.213-225, 2003.

MERTON, H. Studies on reproduction in the albino mouse. II. Contributions on the maturation of the sperm cells. Merton H. Studies on reproduction in the albino mouse. II. Contributions on the maturation of the sperm cells. **Proceeding of the Royal Society: Biological Sciences**, v.59, p.145-152, 1939.

MIDDENDORFF, R.; MÜLLER, D.; WICHERS, S.; HOLSTEIN, A.F.; DAVIDOFF, M.S. Evidence for production and functional activity of nitric oxide in seminiferous tubules and blli vessels of the human testis. **Journal of Clinical and Endocrinology Metabolism**, v.82, n.12, p.4154-4161, 1997.

MONTANARI, T. **Embriologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 2. ed., P. Alegre, Tatiana, 2019.

MOORE, K.; LOVERCAMP, K.; FENG, D.; ANELMAN, J.; SUTOVSKY, M.; MANANDHAR, G.; VAN LEYEN, K.; SAFRANSKI, T.; SUTOVSKY, P. Altered epididymal sperm maturation and cytoplasmic droplet migration in subfertile male Alox15 mice. **Cell Tissue Research**, v.340, n.3, p.569-581, 2010.

MUKAI, C.; OKUNO, M. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. **Biology of Reproduction**, v.71, n.2, p.540-547, 2004.

NETO, F.T.; BACH, P.V.; NAJARI, B.B.; LI, P.L.S.; GOLDSTEIN, M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. **Seminal Cells Development and Biology**, v.59, p.10-26, 2016.j

PETERSEN, C.; SÖDER, O. The Sertoli Cell – A Hormonal Target and ‘Super’ Nurse for Germ cells That Determines Testicular Size. **Hormone Research**, v.66, n.4, p.153-161, 2006.

RATO, L.; ALVES, M. G.; SOCORRO, S.; DUARTE, A.I.; CAVACO, J.E.; OLIVEIRA, P.F. Metabolic regulation is important for spermatogenesis. **Nature Reviews Urology**, v.9, n.6, p.330-338, 2012.

RENGAN, A.K.; AGARWAL, A.; VAN DER LINDE, M.; DU PLESSIS, S.S. An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.10, p.92, 2012. Disponível em: <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7827-10-92>. Acessado em: 24 04. 2022.

RUSSELL, L.D; FRANÇA, L.R. Building a testis. **Tissue and Cell**. v.27, n.2, p.129-147, 1995.

RUWANPURA, S.M.; MCLACHLAN, R.I.; MEACHEM, S.J. Hormonal regulation of male germ cell development. **Journal of Endocrinology**, v.205, n.2, p.117-131, 2010.

SCHLATT, S.; EHMCKE, J. Regulation of spermatogenesis: na evolutionary biologist’s perspective. **Seminal Cells Development and Biology**, v.29, p.2-16, 2014.

SENGER, P.L. Pathways to pregnancy and parturition. **Animal Reproduction Science**, v.89, n.1/4, p.93-103, 2003.

SMITH, L.B.; WALKER, W.H. The regulation of spermatogenesis by androgens. **Seminal Cells Development Biology**, v.30, p.2-13, 2014.

SOARES, C.M.T.; MACHADO-NEVES, 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.

STAUB, C.; JOHNSON, L. Review: Spermatogenesis in the bull. **Animal**, v.12, supl. 1, p.27-35, 2018.

WU, H.; HAUSER, R.; KRAWETZ S.A.; PILSNER, J.R. Environmental susceptibility of the sperm epigenome during windows male germ cell development. **Current Environm Health Reports**, v.2, n.4, p.356-366, 2015.

YUAN, S.; ZHENG, H.; ZHENG, Z.; YAN, W. Proteomic analyses reveal a role of cytoplasmic droplets as na energy source during epididymal sperm maturation. **PLOS ONE**, v.8, p.77466, 2013.

XU, H.; YUAN, S.Q.; ZHENG, Z.H.; YAN, W. The cytoplasmic droplet may be indicative of sperm motility and normal spermiogenesis. **Asian Journal of Andrology**, v.15, n.6, p.799-805, 2013.

ZIERI, R.; TABOGA, S.R.; OLIVEIRA, C.D. Espermiogênese em *Eupemphix nattereri* (Anura, Leiuperidae): aspectos ultra-estruturais. **Iheringia série Zoologia**, v.98, n.2, p.193-199, 2008.