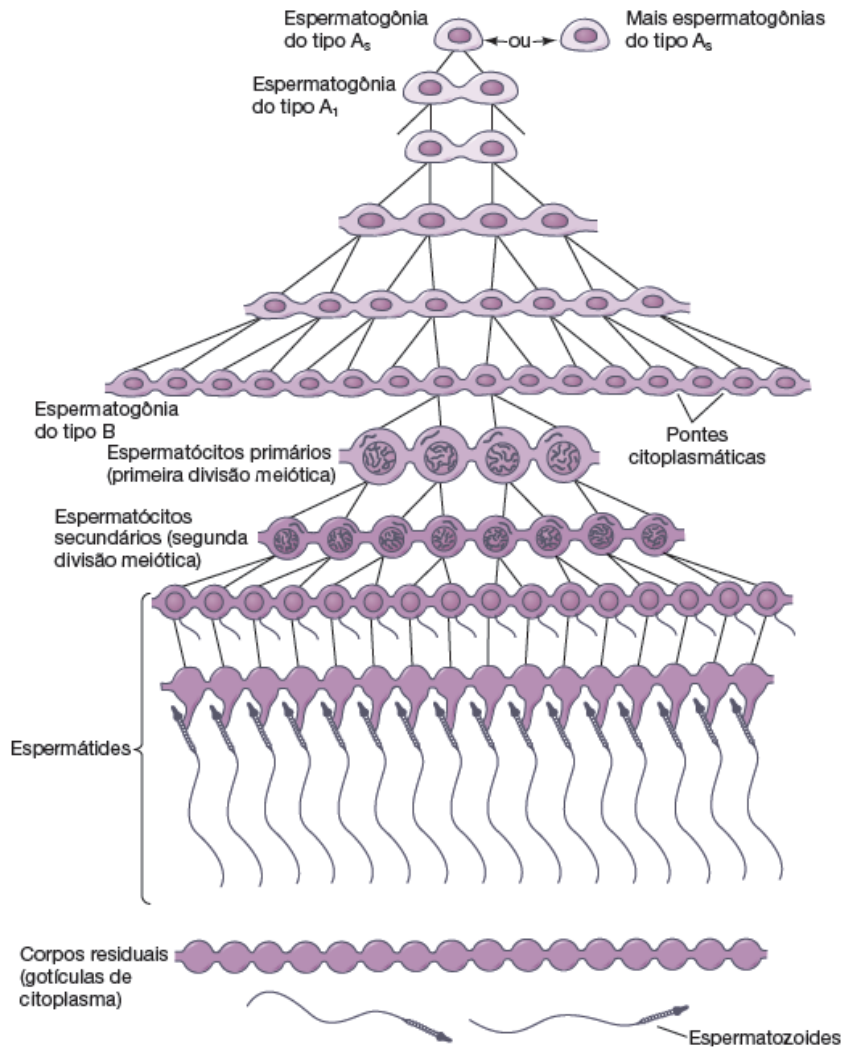


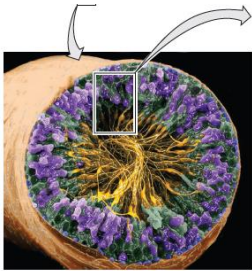
Embriologia e Morfogênese

Espermatogênese e fecundação

2023



Formação de clones sinciciais de células germinativas masculinas humanas (Bloom e Fawcet, 1975).



Corte de um
túbulo seminífero

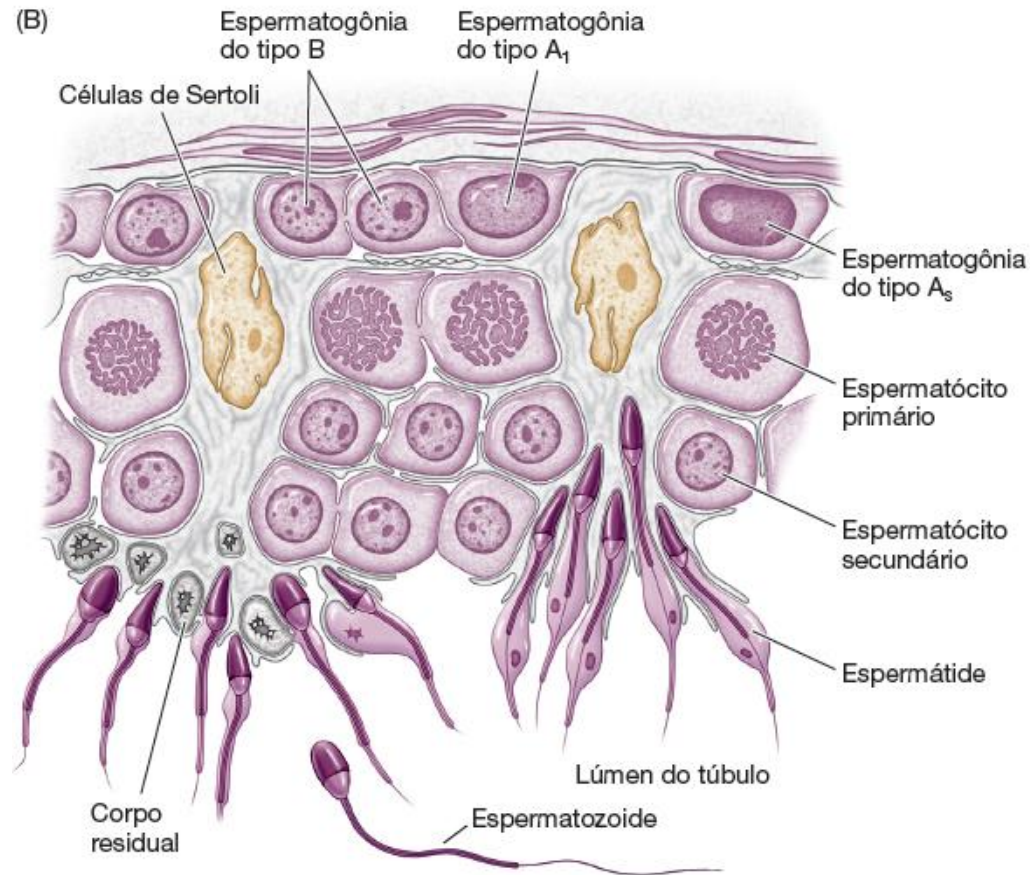
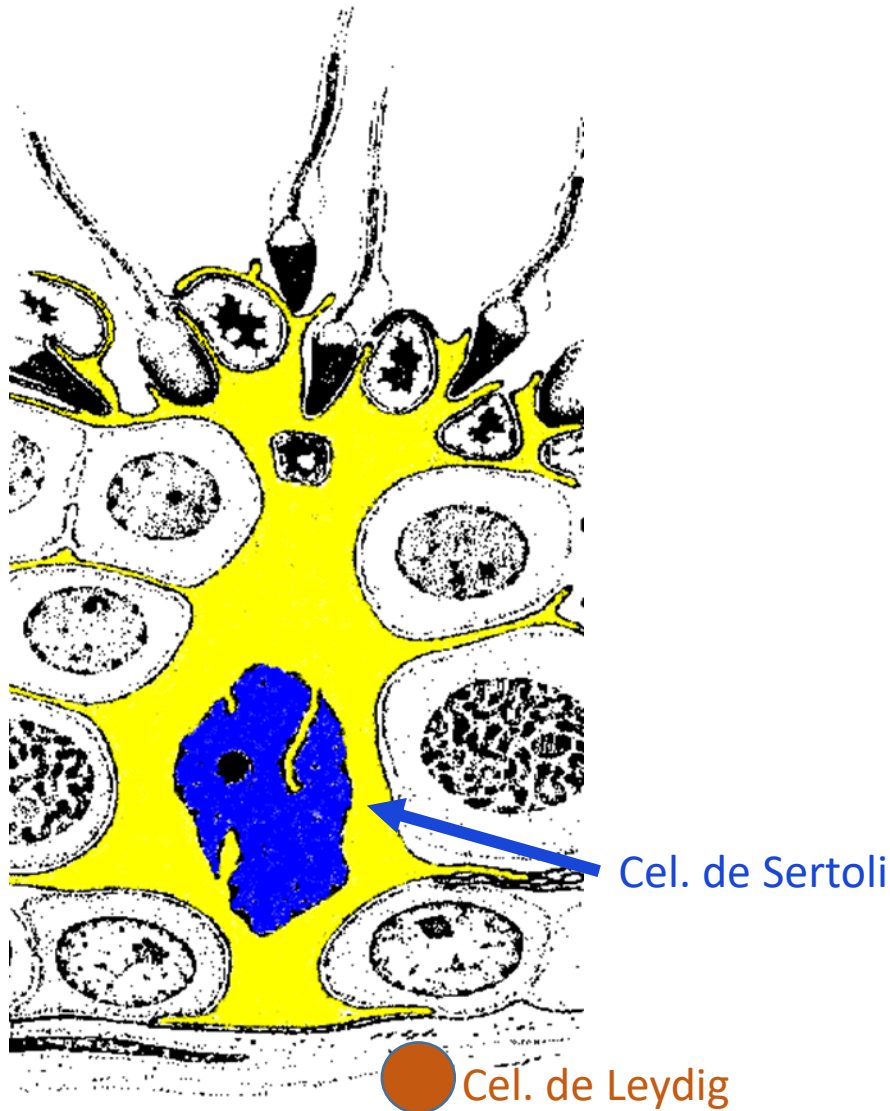


Diagrama simplificado do arranjo das células da linhagem germinativa na parede dos túbulos seminíferos. Observe: a medida que as células se diferenciam elas se aproximam da luz do túbulo.

Células acessórias -

Células de Sertoli – Células de Leydig



N-Caderina liga as células germinativas e as células de Sertoli

Galactosiltransferase – presente nas CG se liga aos receptores de carboidrato das CS

As CS têm receptores para FSH

As células de Leydig produzem Testosterona- em resposta a LH

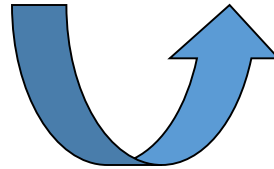
Gendt

et al., PNAS (2004)

As células da linhagem germinativa se desenvolvem no recesso das **células de Sertoli**. Observe que as **células de Leydig** estão na parede externa do túbulo.

Embrião

**células germinativas
primordiais**



**colonizam os cordões
sexuais**

células de sustentação



células de Sertoli nos CS

células de Leydig



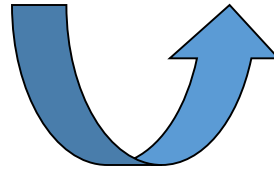
**(10-20 semanas)
Testosterona**



CORDÃO SEXUAL

PUBERDADE

**células germinativas
primordiais**



**espermatogônias
espermatócitos I e II
espermátides
Espermatozóides**
Receptor para carboidratos

células de sustentação



células de Sertoli
GDNF/SCF
Galactosiltransferase

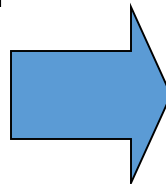
**células precursoras
das de Leydig**



células de Leydig



CORDÃO SEXUAL



TÚBULO SEMINÍFERO

Infância



Puberdade

**células precursoras
das de Leydig**



células intersticiais

LH



células Leydig



testosterona

glândula pituitária

FSH



**células de
Sertoli**

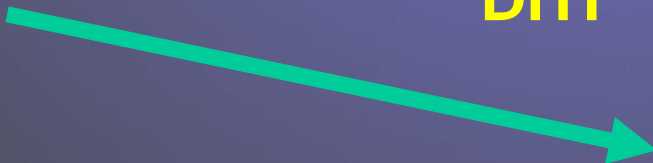


estradiol

ABP



DHT

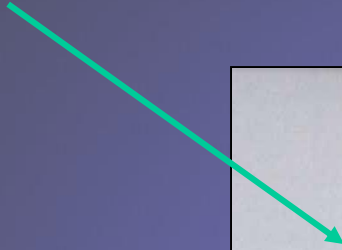


Espermatogênese

O



cumprindo sua função: FECUNDAR

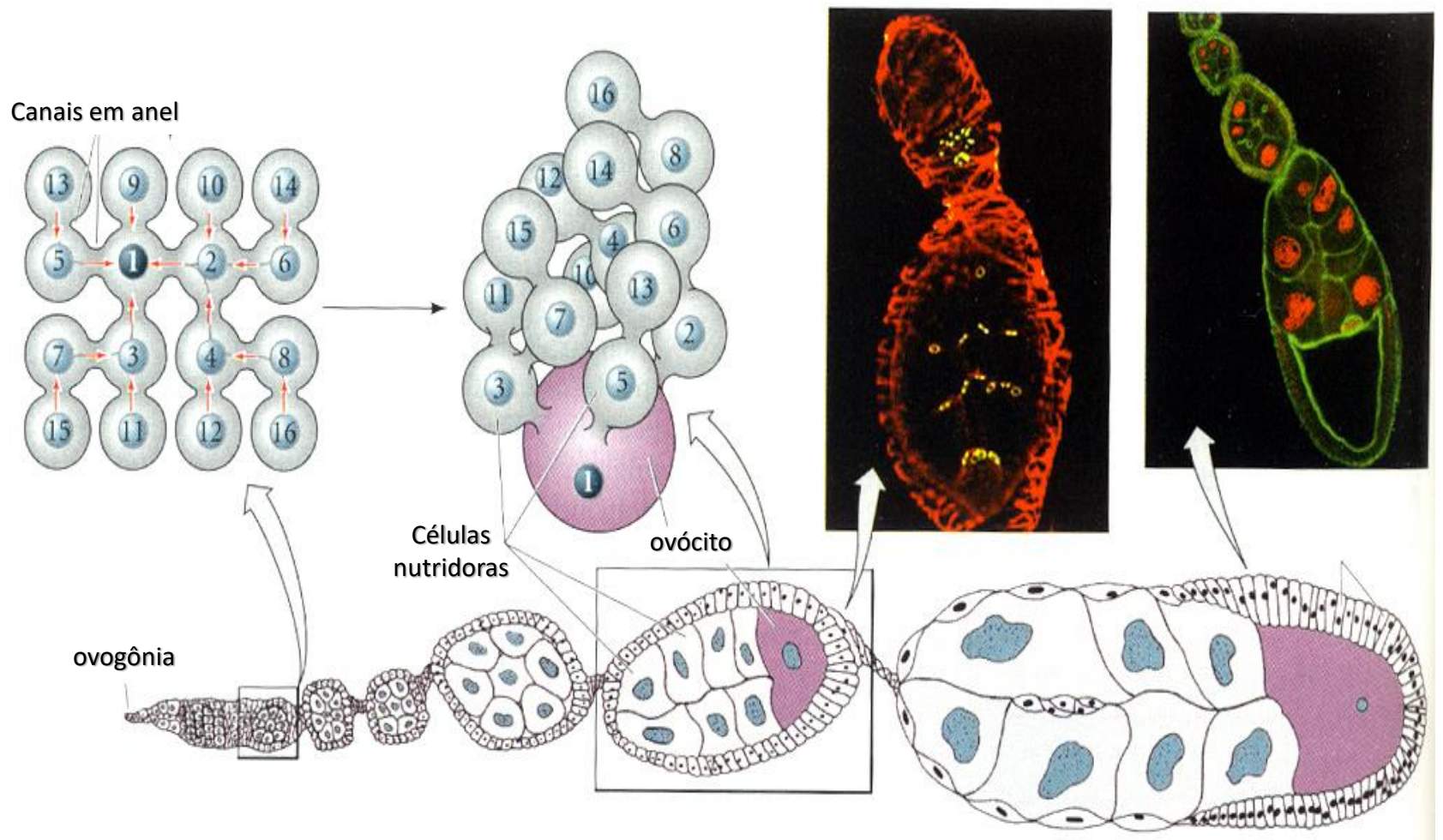


ovócito de
Xenopus laevis)

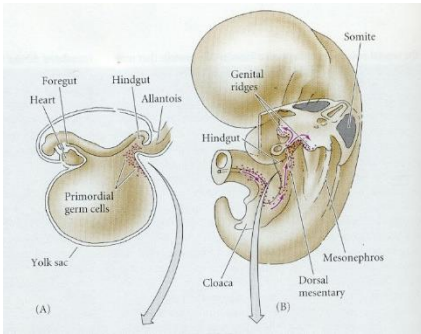
Fertilização

A vida emite sinais

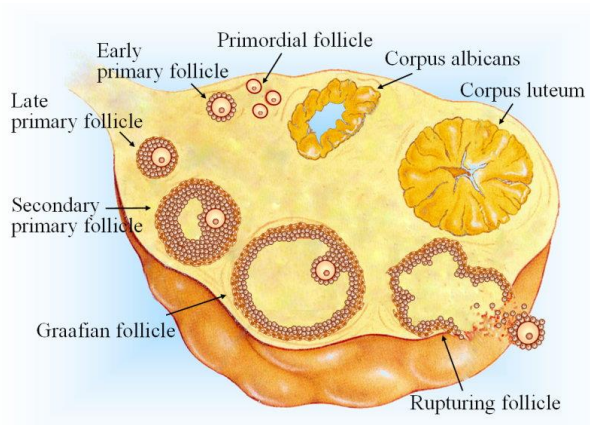
- os gametas
- reconhecimento
- resposta
- contato entre os gametas
- fusão dos gametas
- bloqueio da polispermia



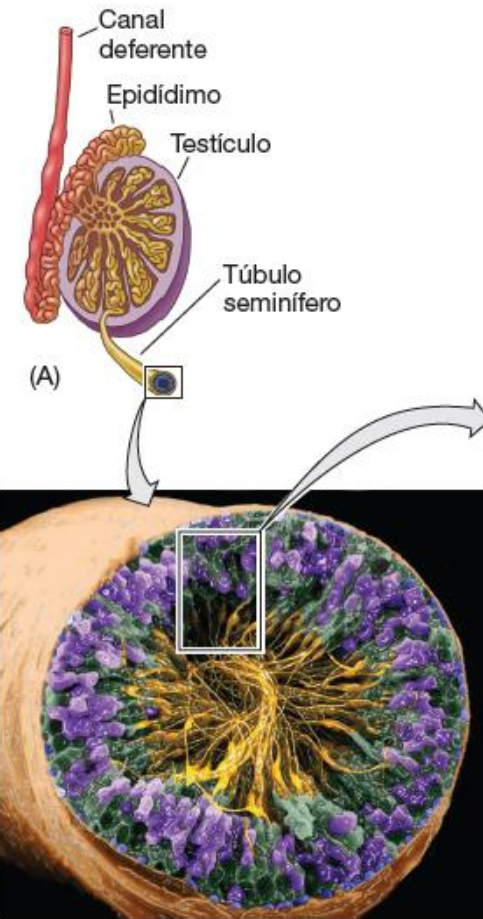
Ovogênese em *Drosophila melanogaster*



Migração das células primordiais a partir do teto do saco vitelino.



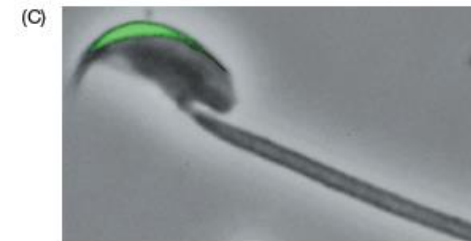
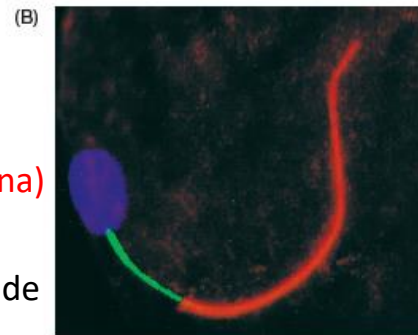
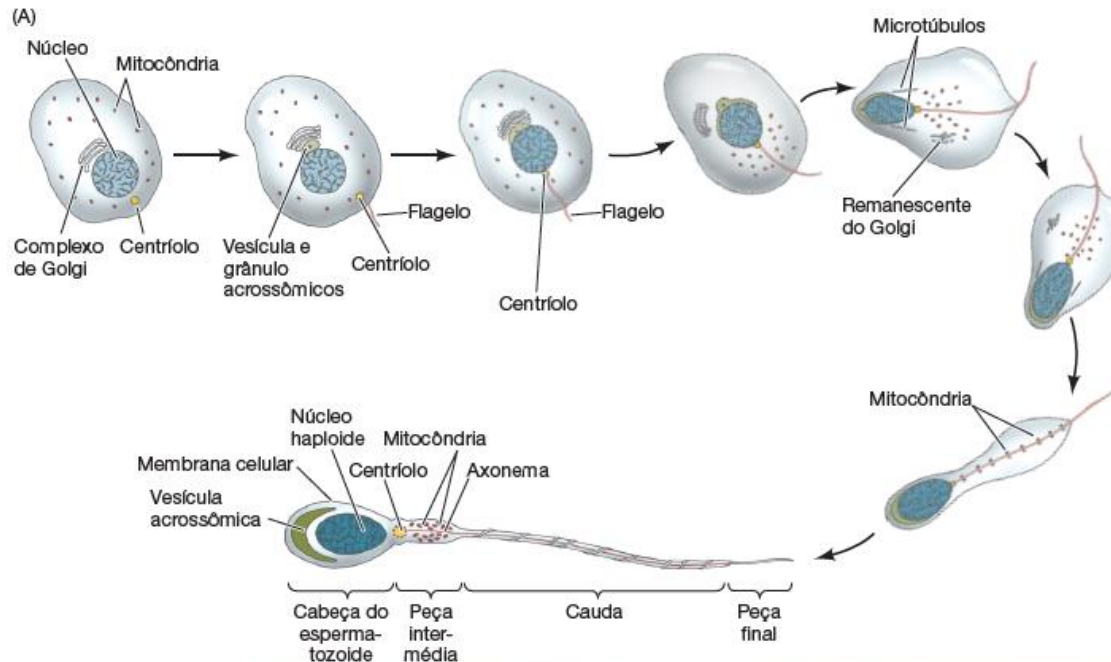
Ovócitos em desenvolvimento em ovários de mamíferos



Gônada masculina - Corte de um túbulo seminífero. Observe que a linhagem germinativa se encontra na parede do túbulo.



Ovo fertilizado de galinha

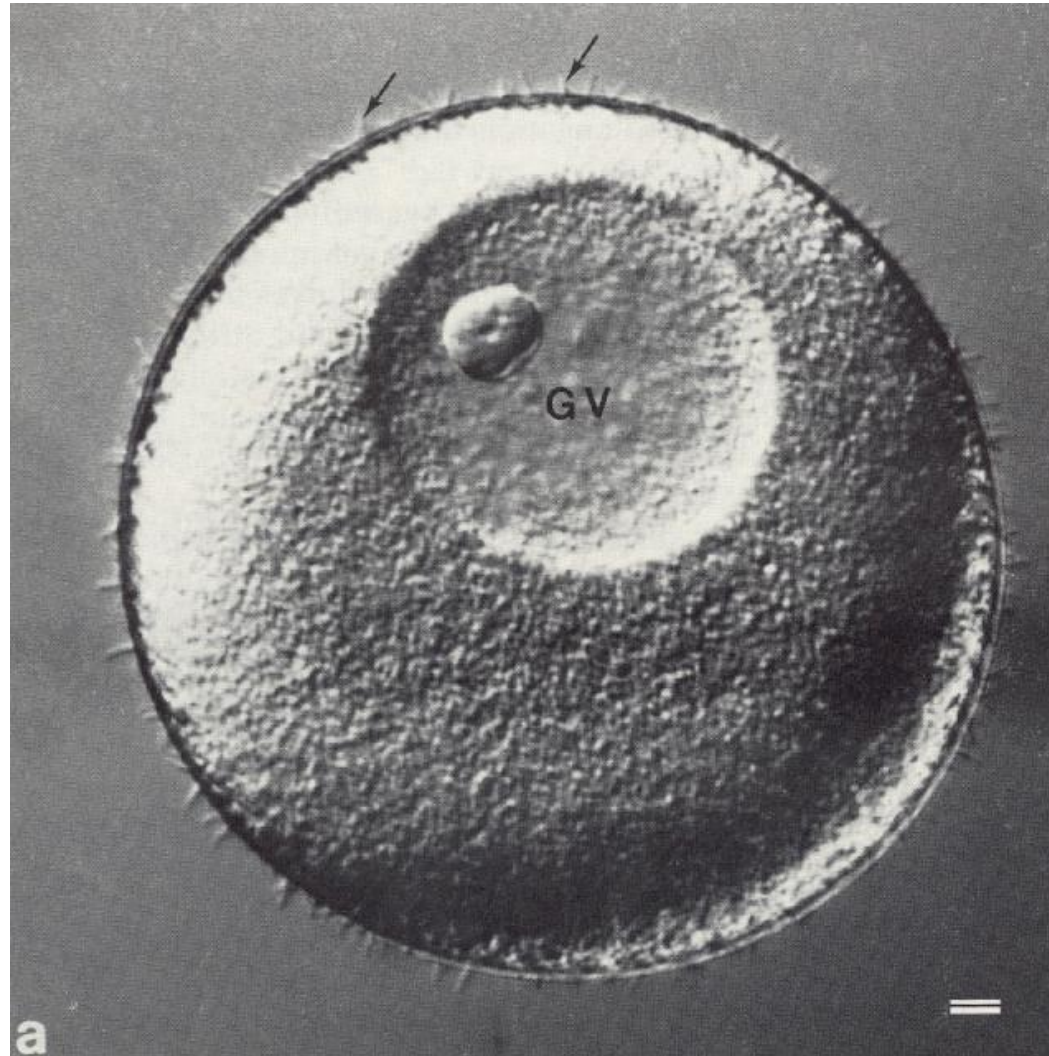


Vesícula acrossômica

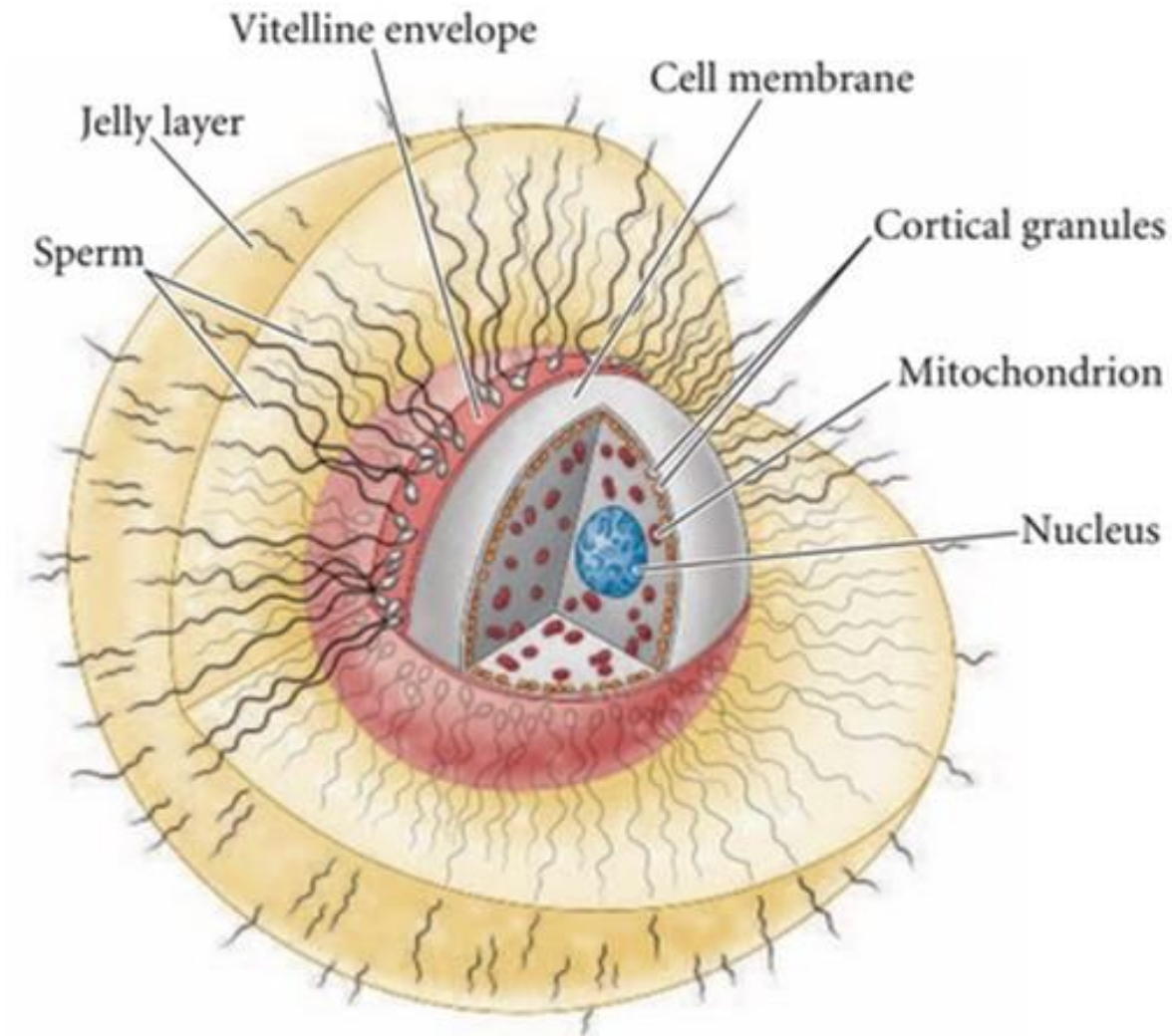
Modificação de uma célula germinativa para formar o espermatozoide de mamífero.

O centríolo produz um longo flagelo, onde será a extremidade posterior do espermatozoide. O complexo de Golgi forma a vesícula acrossômica na futura região anterior. As mitocôndrias se acumulam ao redor do flagelo. O citoplasma restante é descartado e o núcleo se condensa (as histonas são substituídas).

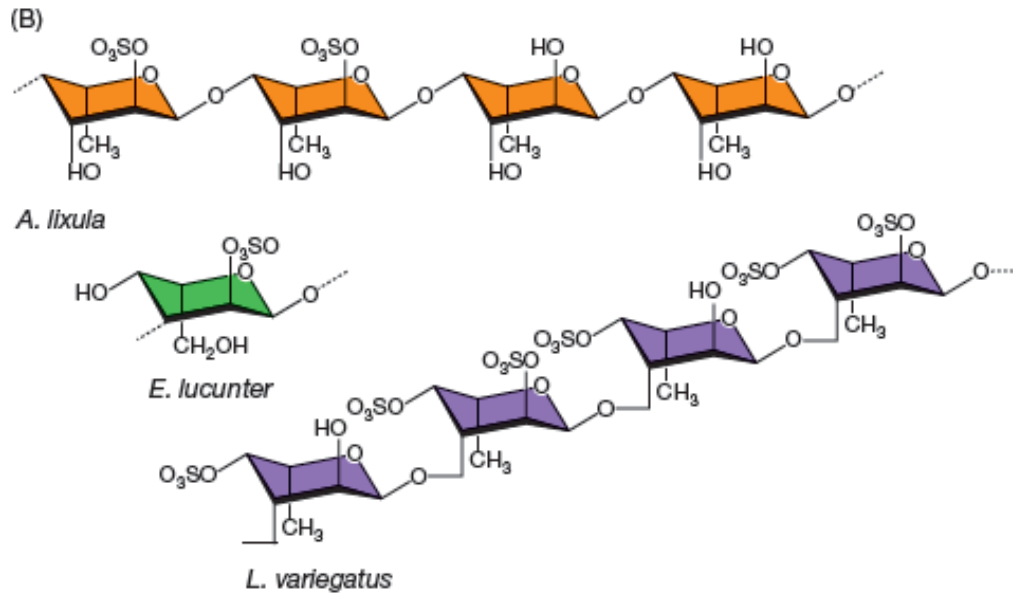
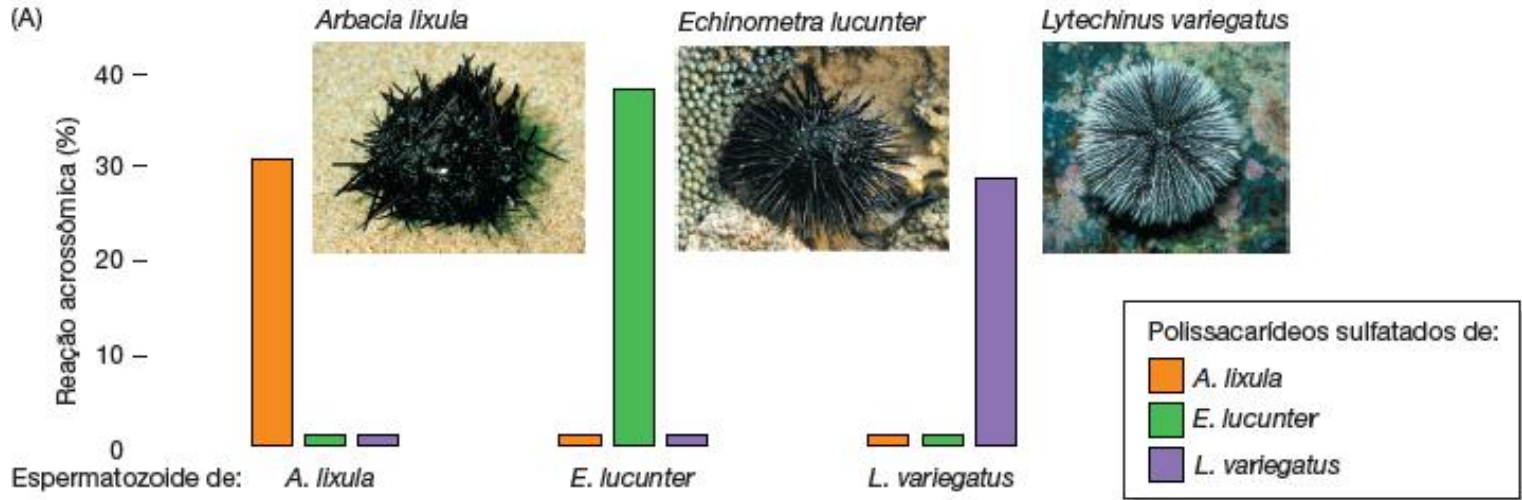
O "óvulo"



Ouriço-do-mar

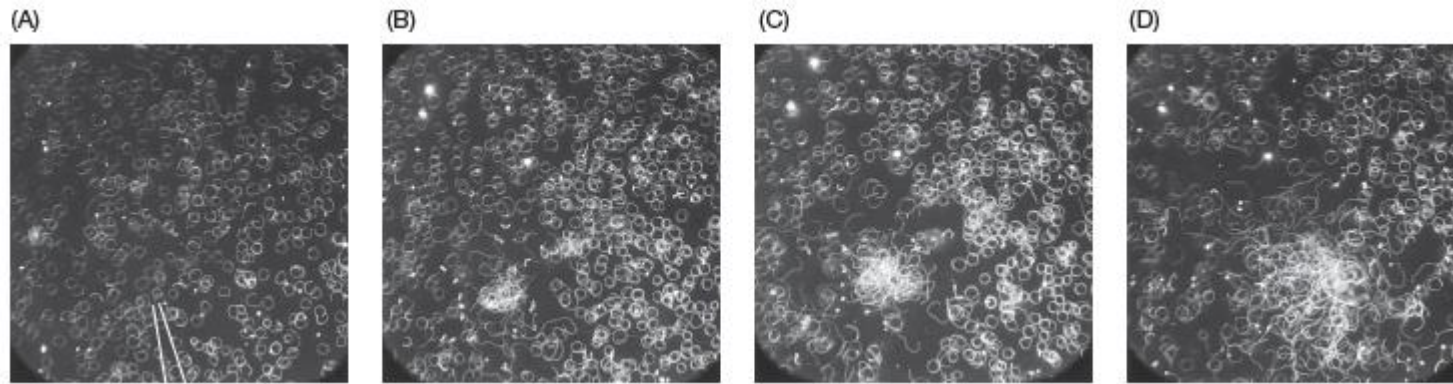


Ovo de ouriço do mar rodeado por espermatozoides



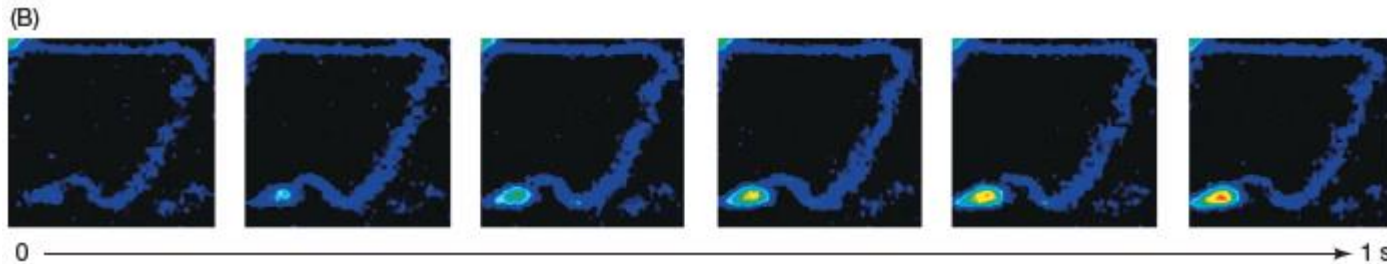
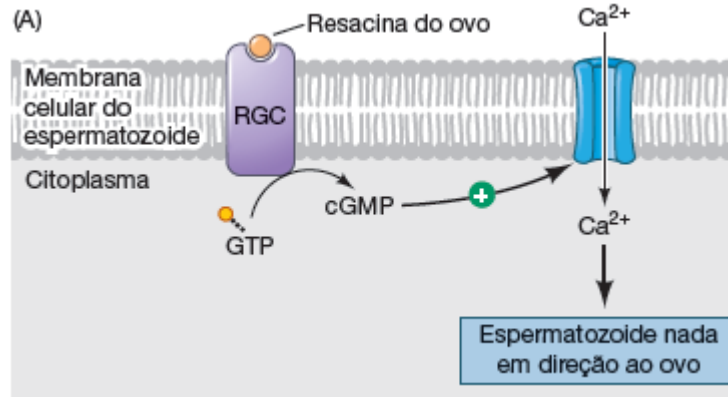
Indução espécie-específica da reação acrossômica pelos peptídeos (polissacarídeos sulfatados) liberados pela cobertura (geleia) do óvulo.

Os histogramas demonstram a habilidade de cada polissacarídeo de iniciar a reação acrossômica nas diferentes espécies de ouriço-do-mar. Repare que se o peptídeo não for da mesma espécie, a reação não ocorre e ainda, cada polissacarídeo tem uma química diferente. (segundo VilelaSilva et al 2008). (Os ouriços usados nesse experimento ocorrem no litoral do Rio de Janeiro).



Arbacia punctulata

Resacina



Strongilocentrotus purpuratus
Esperact – semelhante à Resacina

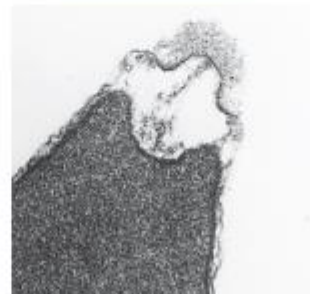
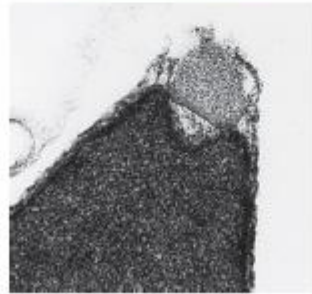
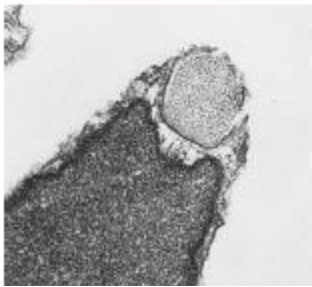
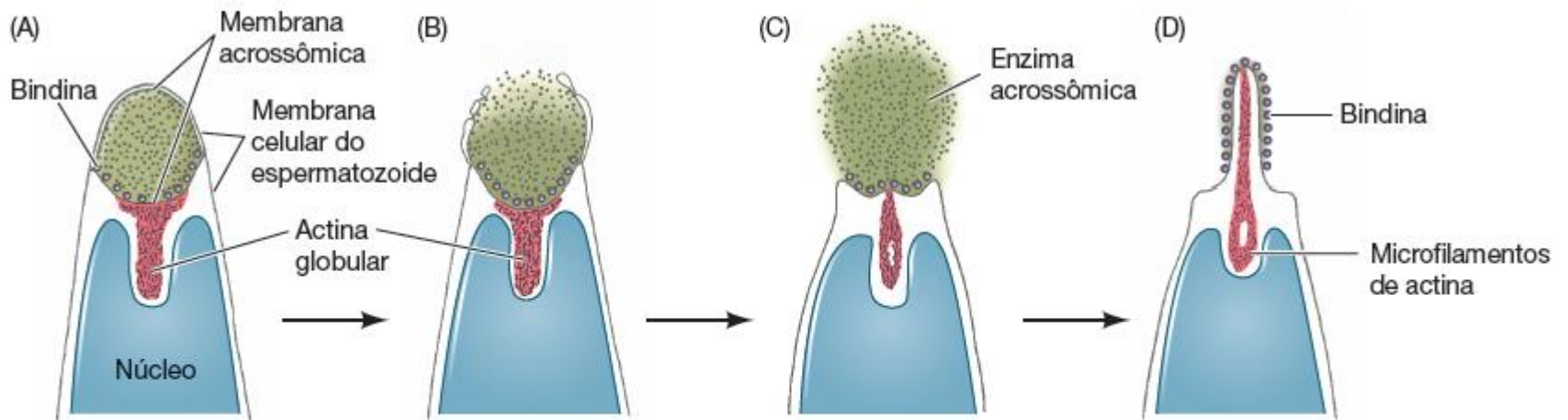
Quando o espermatozoide entra em contato com o peptídeo de sua própria espécie ele reage.

Modelo proposto para explicar a quimiotaxia observada em espermatozoides de ouriço-do-mar

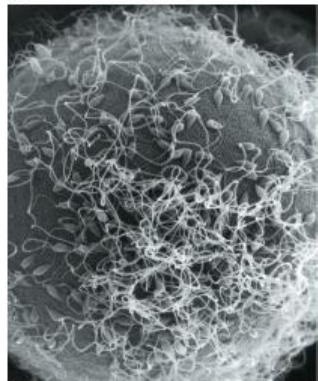
A gelatina que reveste o óvulo de *Arbacia punctulata* se dissolve lentamente ao contato com a água do mar e libera para o meio um peptídeo formado por 14 aminoácidos, denominado **resacina**, específico dessa espécie. Esse peptídeo ao encontrar o espermatozoide, dessa mesma espécie, ativa o receptor guanilato-ciclase (**RGC**) formando o cGMP intracelular no espermatozoide, permitindo a entrada de Ca^{2+} . O influxo de Ca^{2+} ativa a motilidade do sp (dineína) e este nada em direção ao gradiente de resacina e ao óvulo.

A Figura B mostra níveis de cálcio em diferentes regiões do espermatozoide (nesse caso, *Strongilocentrotus purpuratus*) após exposição à **speract** (análogo de resacina). O sinal em vermelho significa altos níveis de Ca^{2+} . Os níveis máximos de cálcio são atingidos em 1 segundo. (segundo Kirkman-Brown et al 2003 e Wood et al 2003).

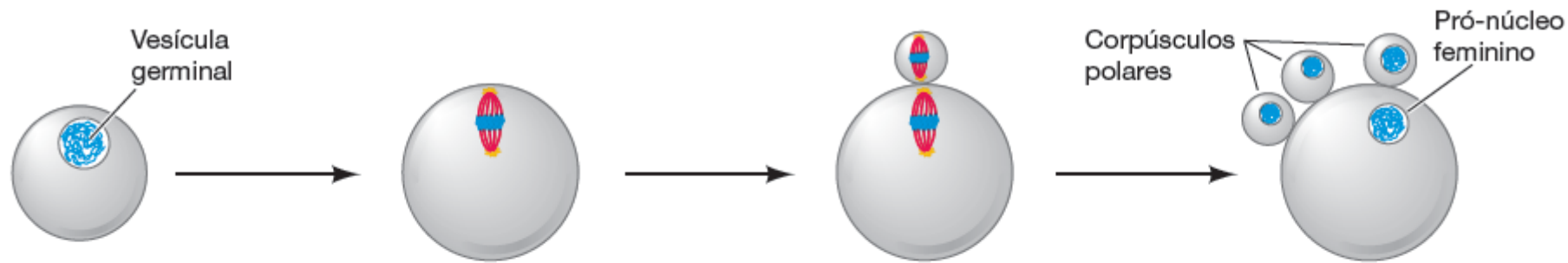
Reação acrossômica: liberação de enzimas do acrossomo - polimerização da actina – exposição de bindinas



(A)



Reação acrossômica no espermatozoide de ouriço-do-mar. (A-C) A porção da membrana acrossômica situada diretamente abaixo da membrana celular do espermatozoide se funde com a membrana celular para liberar o conteúdo da vesícula acrossômica. (D) As moléculas de actina se organizam para formar microfilamentos, estendendo o processo acrossômico para fora. Fotografias reais da reação acrossômica no espermatozoide de ouriço-do-mar são mostradas abaixo do diagrama. (Por Summers e Hylander, 1974; fotos por cortesia de G.L. Decker e W. Lennarz.)



Ovócito primário

O anelídeo *Ascaris*
 O mesozoário *Dicyema*
 A esponja *Grantia*
 O verme ploquete *Myzostoma*
 O verme do molusco *Nereis*
 O molusco *Spisula*
 O verme etiboide *Urechis*
 Cães e raposas

Primeira metáfase

O Verme nemertino
Cerebratulus
 O verme poliqueta
Chaetopterus
 O molusco *Dentalium*
 O anelídeo *Pectinaria*
 Muitos insetos
 Estrela-do-mar

Segunda metáfase

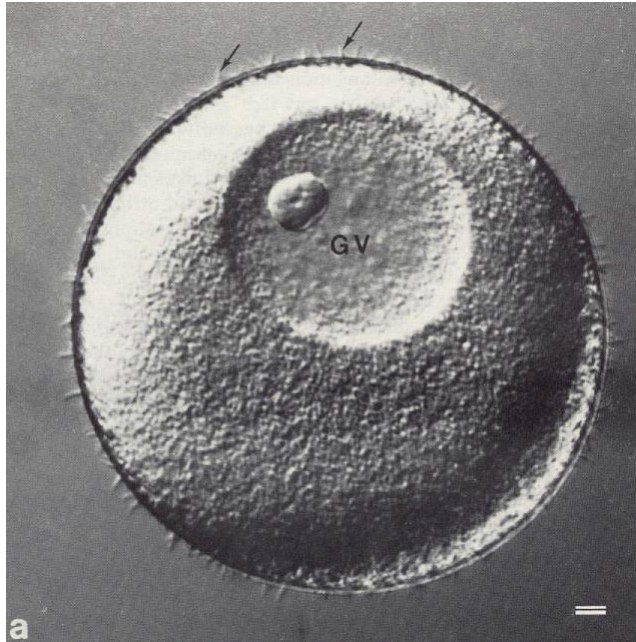
O lancelete *Branchiostoma*
 Anfíbios
 A maioria dos mamíferos
 Peixes

Meiose completa

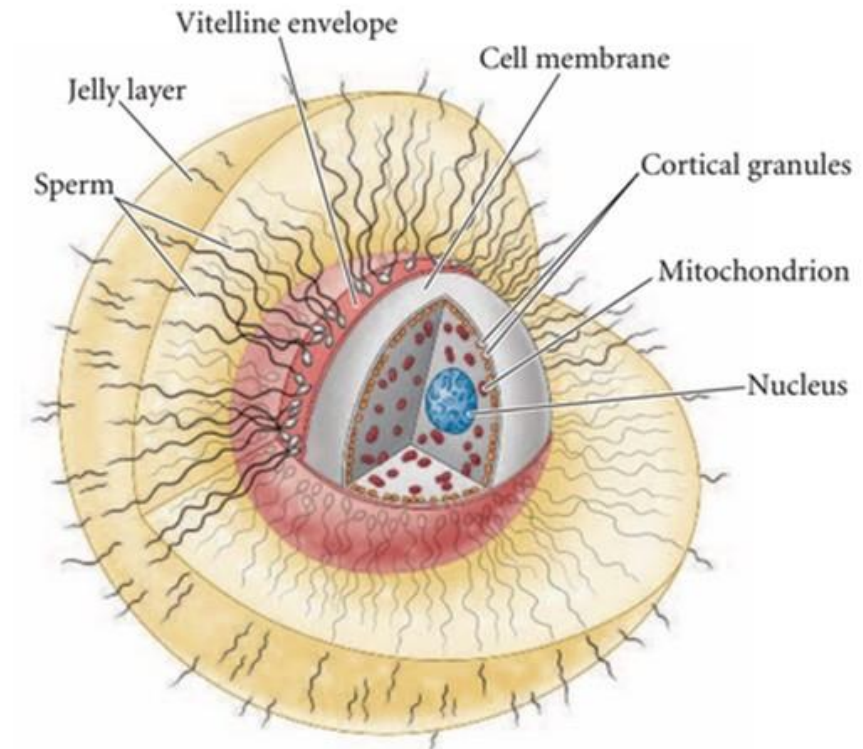
Cnidários (p. ex.,
 anêmonas)
 Ouriços-do-mar

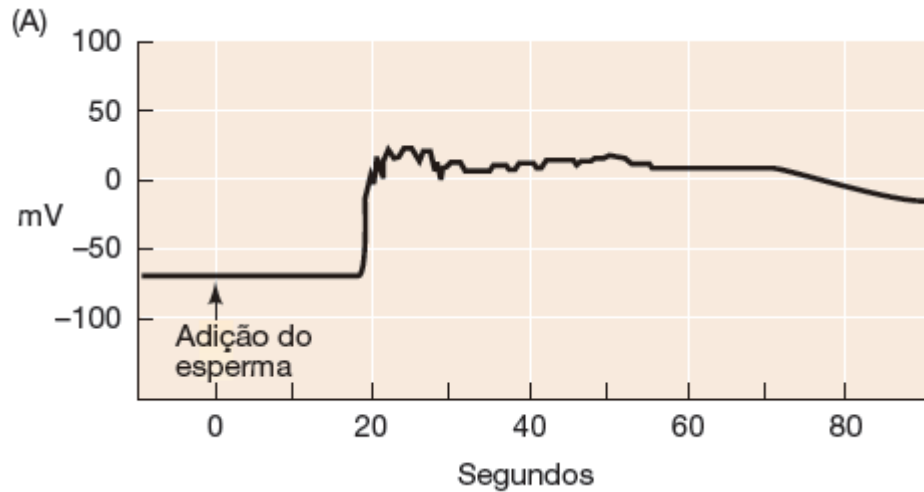
Estágios de maturação do óvulo no momento da entrada do espermatozoide. Observe que na maioria dos casos os espermatozoides entram antes da finalização da meiose.

Reações do óvulo ao espermatozoide

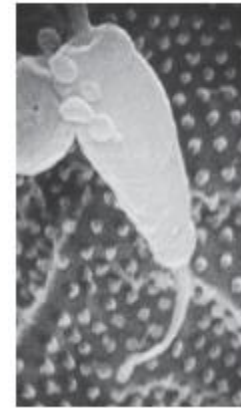


Estrutura de um óvulo de ouriço-do-mar





(B)



A- A seta indica o momento em que o sp entra em contato com o óvulo (célula em repouso).

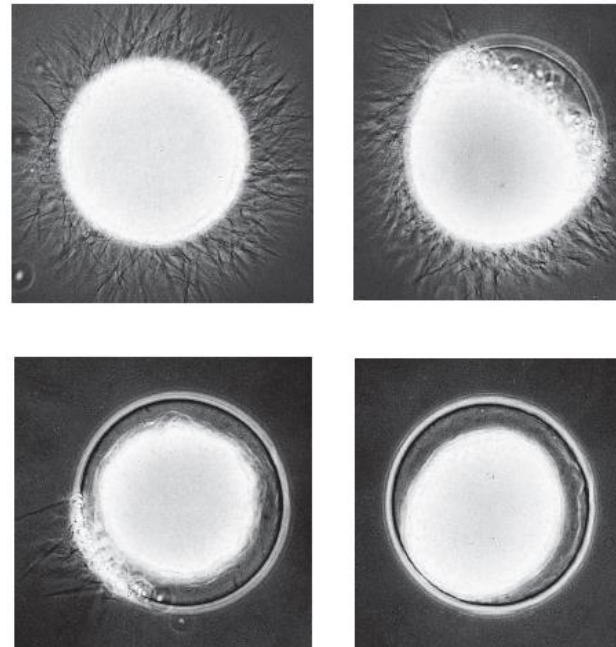
B- O sp toca a superfície do ovo.

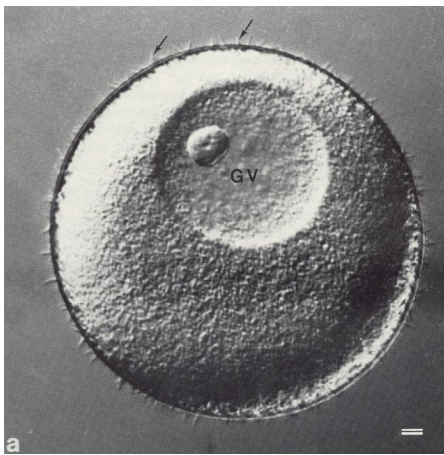
Observe – Em (A), poucos segundos depois, verificamos uma forte reação do ovo: o potencial de membrana (-70 mV) sobe (+20 mV).

Neste local, a célula não é mais a mesma. Houve um **rápido bloqueio à poliespermia**. Esta reação percorre rapidamente toda a superfície do ovo.

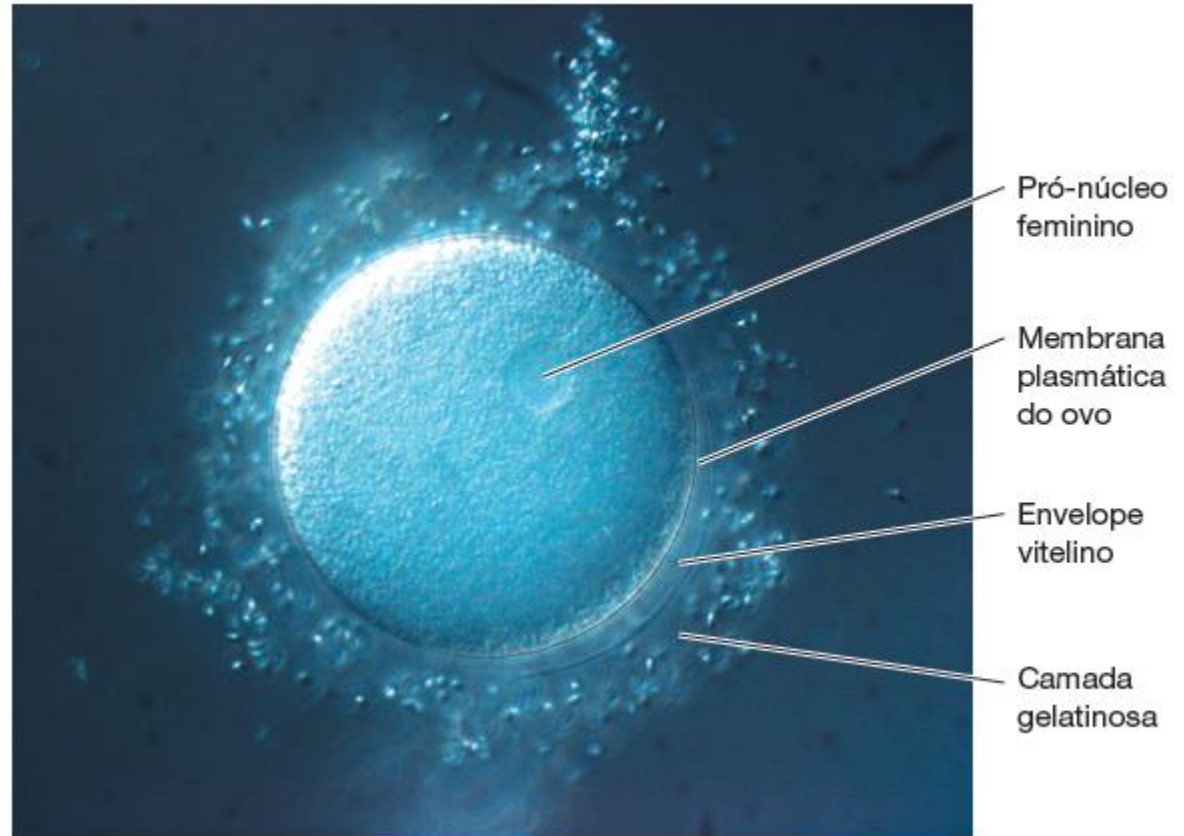
C- Forma-se uma **barreira definitiva à poliespermia** – membrana de fecundação – se expande por toda a superfície do ovo.

(C)

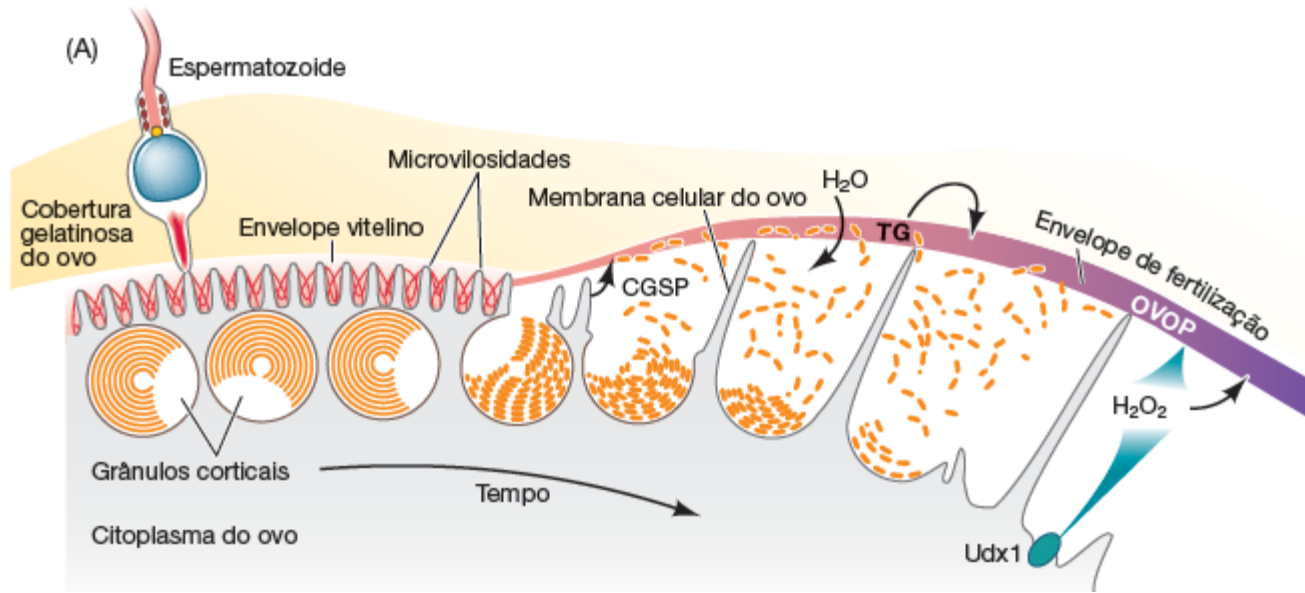




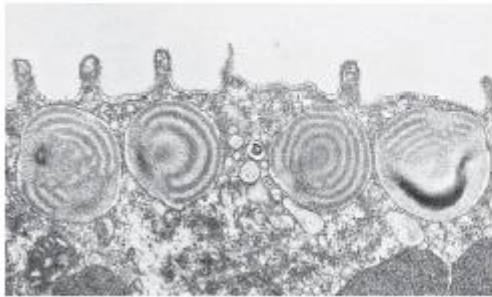
Ovo de ouriço-do-mar antes da formação da membrana de fecundação.



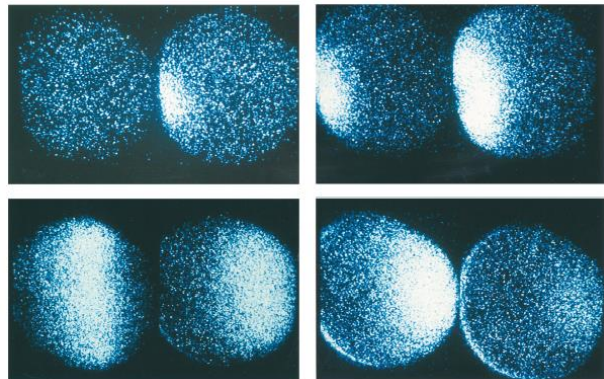
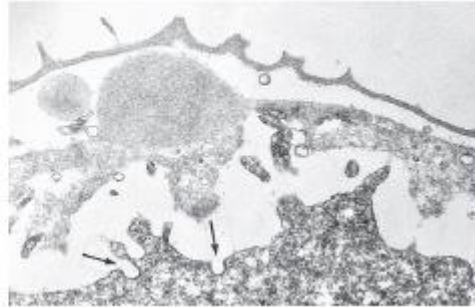
Reação do ovo: expulsão dos espermatozoides aderidos e formação da membrana de fecundação.



(B) Não fertilizado



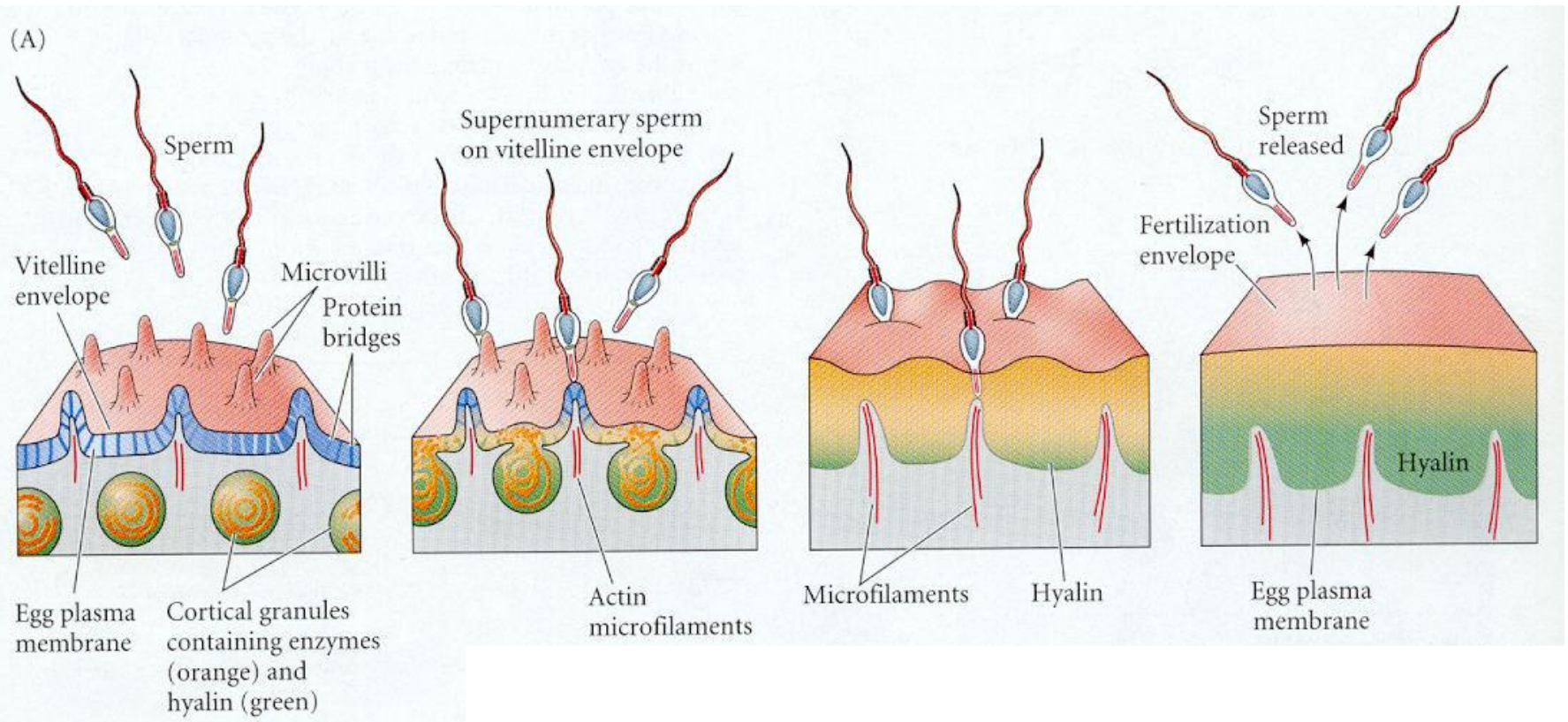
(C) Recentemente fertilizado

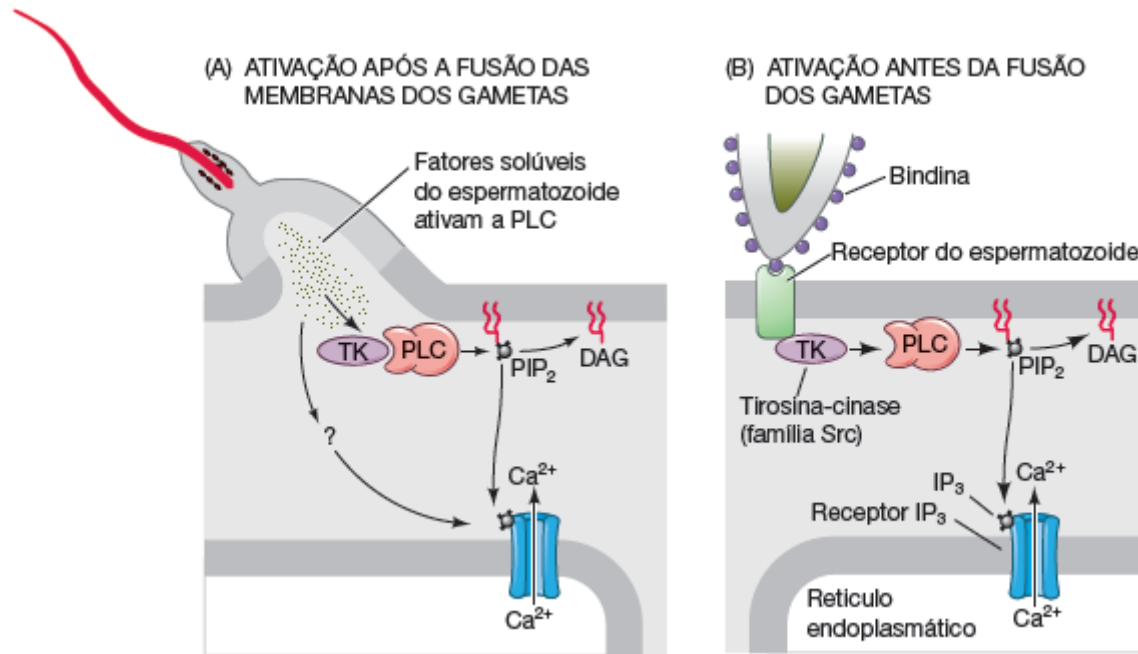


(C)

C- Liberação de íons cálcio (Ca²⁺) pelo óvulo de ouriço-do-mar durante a fecundação, reação que percorre o ovo em 30 segundos.

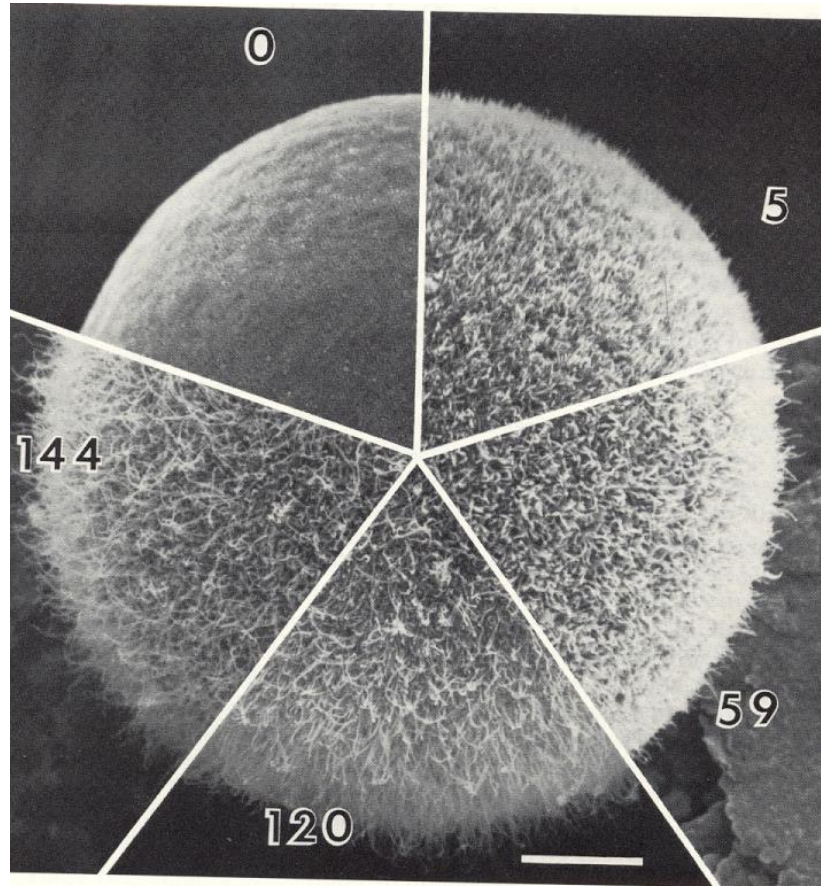
Reação cortical





Mecanismos prováveis de ativação do ovo. Em ambos os casos, a fosfolipase C (PLC) é ativada e forma IP₃ e diacilglicerol (DAG). A) Liberação de Ca²⁺ e ativação do ovo por PLC ativada diretamente do espermatozoide, ou por uma substância do espermatozoide que ativa PLC do ovo. Esse pode ser o mecanismo em mamíferos. B) O receptor de bindina (possivelmente agindo através de uma proteína G) ativa tirosina-cinase (TK, uma Src-cinase) que ativa PLC. Esse é provavelmente o mecanismo usado pelos ouriços-do-mar.

Modificações da superfície do "óvulo" após a fecundação



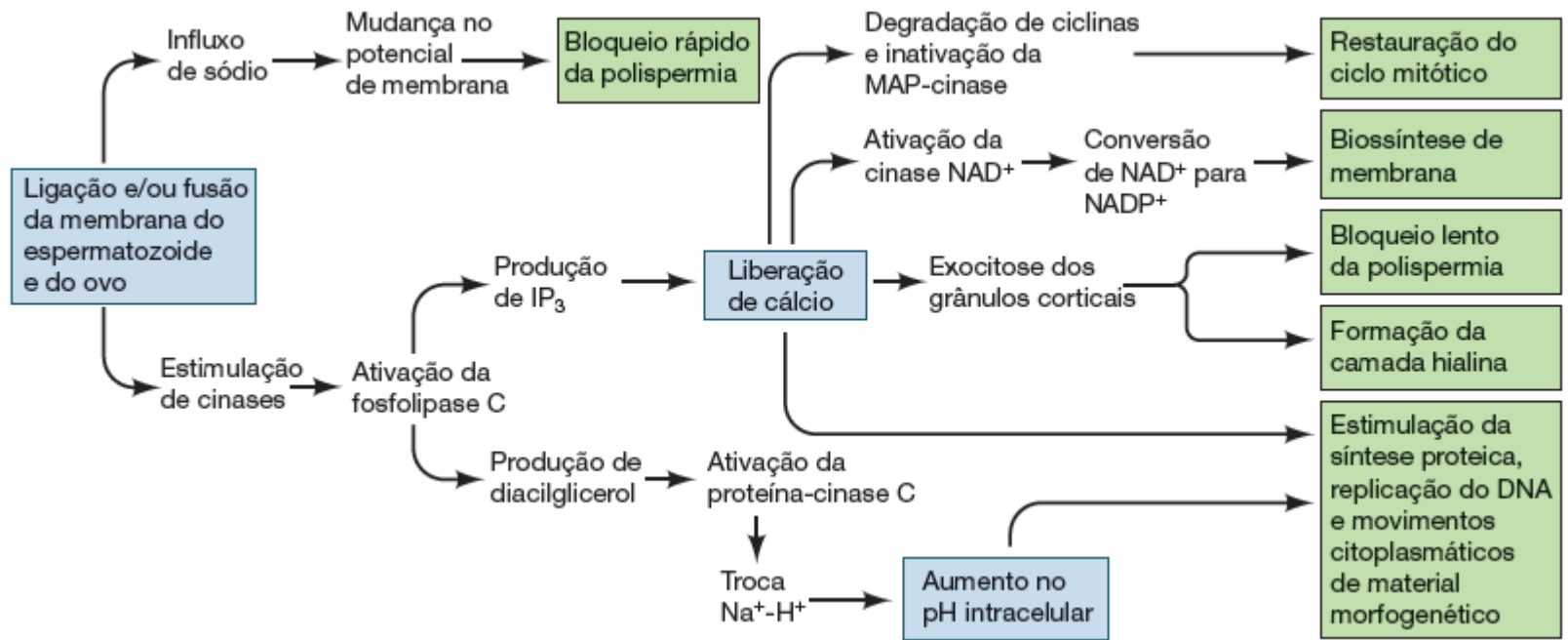
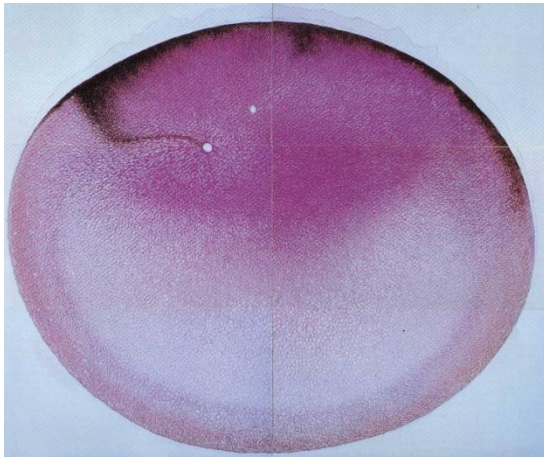
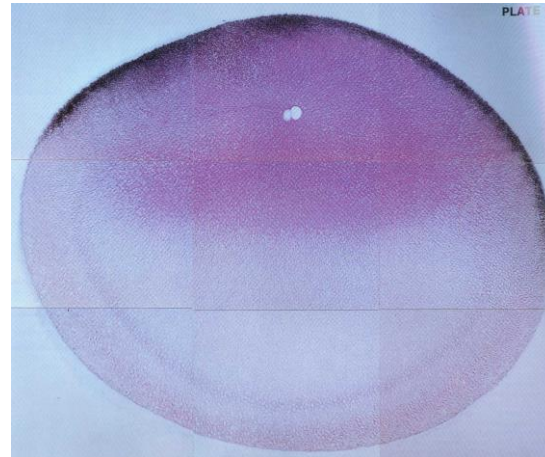


FIGURA 7.23 Via postulada da ativação do ovo no ouriço-do-mar. (Segundo Epel, 1980, e L. A. Jaffe, Pers. Comm.)

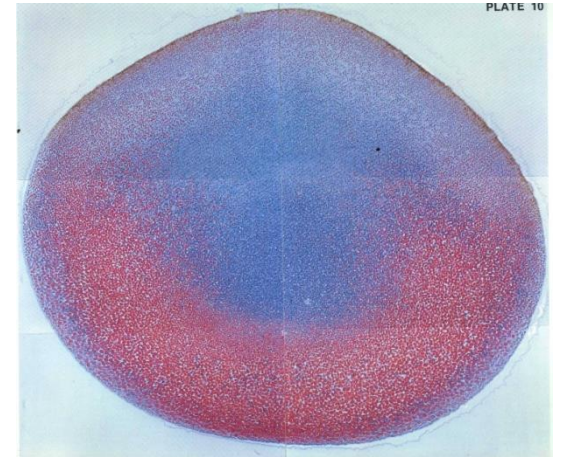
Inicia-se o desenvolvimento



Pró-núcleos



O encontro



A preparação

O embrião e sua primeira mitose

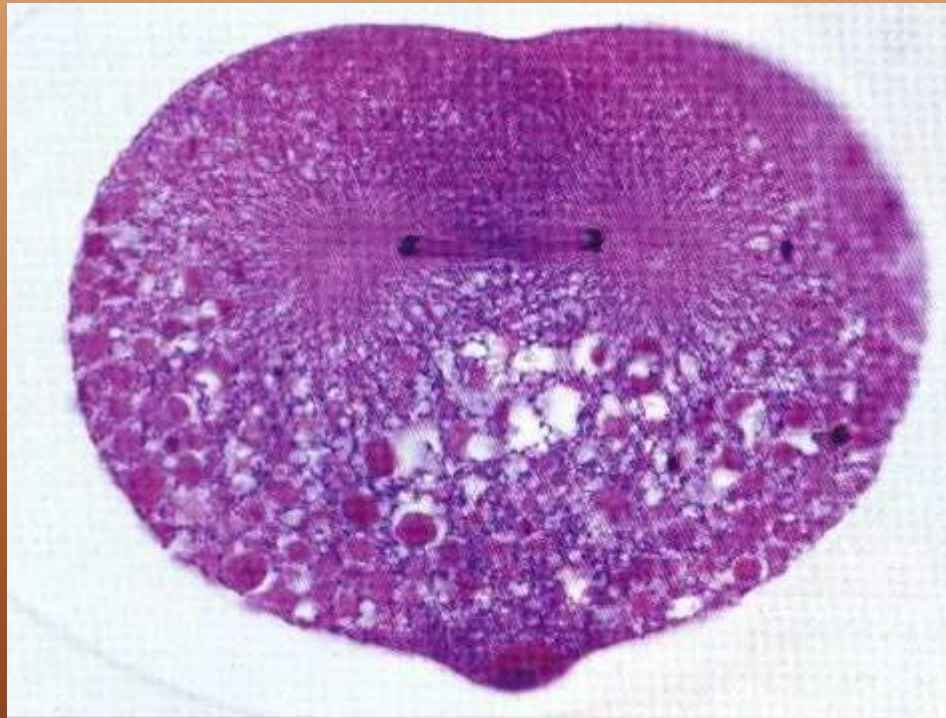
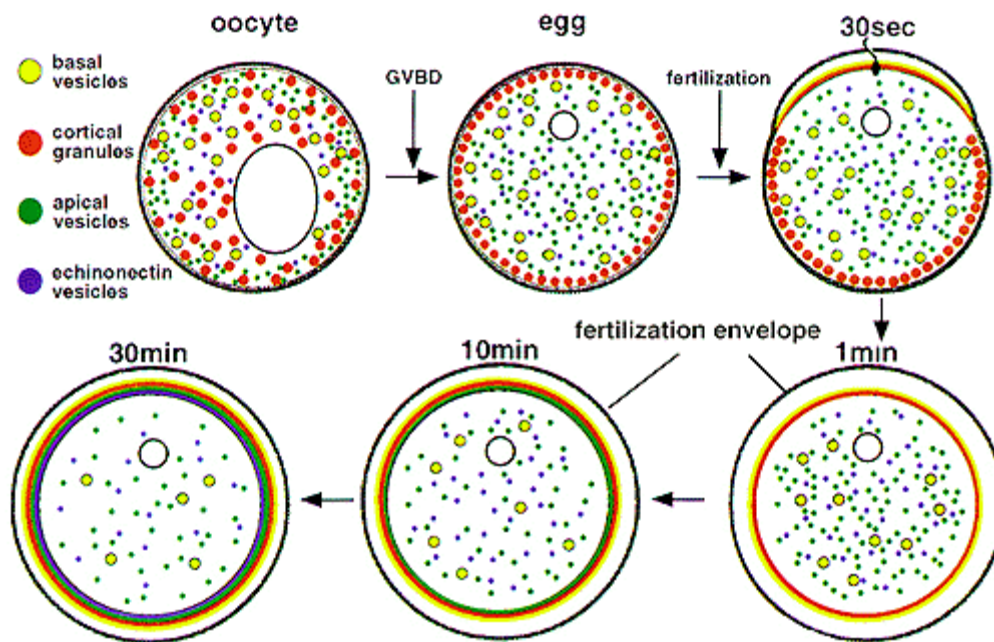


TABELA 7.1 Eventos da fertilização de ouriço-do-mar

Evento	Tempo aproximado pós-inseminação ^a
RESPOSTAS PRECOCES	
Ligação espermatozoide-ovo	0 s
Aumento do potencial de fertilização (bloqueio rápido da polispermia)	Entre 1 s
Fusão membrana ovo-espermatozoide	Entre 1 s
Primeira detecção do aumento de cálcio	10 s
Excitose dos grânulos corticais (bloqueio lento da polispermia)	15-60 s
RESPOSTAS TARDIAS	
Ativação da NAD-cinase	Começa em 1 min
Aumento de NADP ⁺ e NADPH	Começa em 1 min
Aumento no consumo de O ₂	Começa em 1 min
Entrada do espermatozoide	1-2 min
Efluxo ácido	1-5 min
Aumento no pH (permanece alto)	1-5 min
Descondensação da cromatina do espermatozoide	2-12 min
Migração no núcleo do espermatozoide até o centro do ovo	2-12 min
Migração do núcleo do ovo até o núcleo do espermatozoide	5-10 min
Ativação de síntese proteica	Começa em 5-10 min
Ativação de transporte de aminoácidos	Começa em 5-10 min
Iniciação da síntese de DNA	20-40 min
Mitose	60-80 min
Primeira clivagem	85-95 min



Reorganização do citoplasma após a fertilização

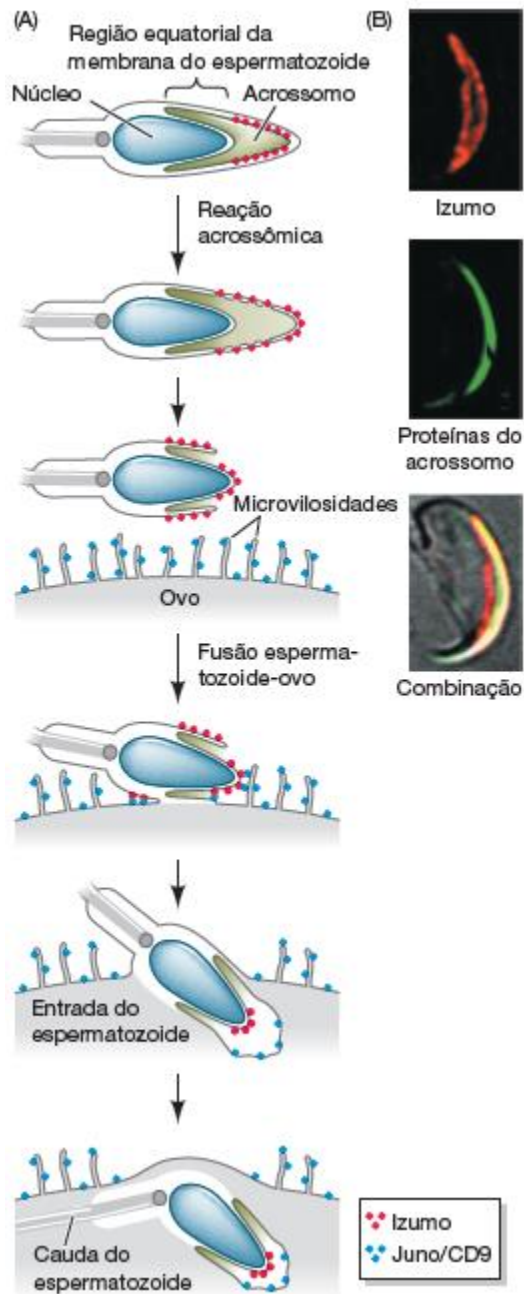


FIGURA 7.30 Proteína Izumo e a fusão das membranas na fertilização do camundongo. (A) Localização de Izumo nas membranas acrossômicas interna e externa. Izumo está corado de vermelho, as proteínas acrossômicas, de verde. (B) Diagrama da fusão das membranas celulares ovo-espermatozoide. Durante a reação acrossômica, Izumo, localizada no acrossomo, é translocada para a membrana celular do espermatozoide. Lá, ela se encontra com o complexo de proteínas Juno e CD9 nas microvilosidades do ovo, iniciando a fusão da membrana e a entrada do espermatozoide no ovo. (Segundo Satouh et al., 2012; fotos por cortesia de M. Okabe.)