

# Biologia epididimária: maturação espermática e expressão gênica

Epididymal biology: spermatc maturation and gene expression

Biología Epididimaria: maduración espermática y expresión génica

*Samara Urban de Oliva\**

*Pâmela Alt Rinaldo\*\**

*Taiza Stumpp\*\*\**

**RESUMO:** O epidídimo dos mamíferos é um órgão formado por um ducto único e enovelado que liga os ductos eferentes ao ducto deferente, sendo anatomicamente dividido em segmento inicial, cabeça, corpo e cauda. A classificação baseia-se no estudo da altura do epitélio, do diâmetro tubular e da variação na frequência dos diferentes tipos celulares. A passagem dos espermatozoides, que são produzidos nos testículos, ao longo do ducto epididimário determina a aquisição da capacidade fertilizante e da motilidade progressiva, processo denominado maturação espermática. Durante a passagem através do epidídimo, o fluido ao qual os espermatozoides são expostos sofre alterações substanciais na composição, incluindo mudanças da osmolaridade, da proporção iônica, das reservas energéticas e de tipos protéicos. A expressão gênica programada e diferencial ao longo do epidídimo, responsável pela formação de um microambiente especializado, é importante para o sucesso do processo de maturação espermática. Embora vários estudos tenham identificado inúmeros genes com expressão seletiva e específica no epidídimo, os quais são importantes para o entendimento da expressão gênica complexa deste órgão, muito ainda permanece a ser determinado como, por exemplo, os tipos protéicos codificados por estes genes, bem como a identificação dos sítios de ação destas proteínas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Epidídimo. Expressão gênica. Reprodução.

**ABSTRACT:** The mammalian epididymis consists of a single coiled duct that connects the efferent ducts to the different duct. Anatomically, four segments are distinguished in this organ: the caput, the corpus and the cauda epididymidis. This classification is based in the epithelium height, in the diameter of the duct and in the cell types present in each segment. During their transit through the epididymis, the sperm, produced in the testis, acquire progressive motility and become able to fertilize the oocyte, a process called sperm maturation. During this transit, the epididymis fluid changes its osmolarity, energetic reserves and proteins, in a way to promote sperm maturation. The programmed and differential gene expression along the epididymis provides the appropriate environment to sperm maturation. Although different studies have identified many epididymis-enriched and specific genes that are important to understand the transcriptome of this organ, many aspects of epididymis gene expression is still to be shown, such as what proteins are produced by the genes described so far, what are the functions of these proteins and where they act.

**KEYWORDS:** Epididymis. Gene expression. Reproduction.

**RESUMEN:** El epidídimo de los mamíferos es un órgano formado por un único ducto anovelado que conecta los ductos eferentes al ducto deferente, siendo dividido anatómicamente en segmento inicial, cabeza, cuerpo y cola. La clasificación se basa en el estudio de la altura del epitelio, del diámetro tubular y de la variación en la frecuencia de los diversos tipos celulares. El pasaje de espermatozoides (producidos en los testículos en toda la superficie del ducto epididimario), determina la adquisición de la capacidad de fertilización y de la motilidad progresiva, proceso denominado maduración espermática. Durante el pasaje a través del epidídimo, el líquido a lo que los espermatozoides se exponen sufre alteraciones substanciales en su composición, incluyendo cambios de la osmolaridad, del cociente iónico, de las reservas de energía y de los tipos proteínicos. La expresión génica programada y de distinción y diferencial a través del epidídimo, responsable de la formación de un microambiente especializado, siendo importante para el éxito del proceso de maduración espermática. Aunque algunos estudios hayan identificado genes innumerables con expresión selectiva y específica en el epidídimo, genes que son importante como para entender la expresión génica compleja de este órgano, todavía siguen muchos factores a ser determinados como, por ejemplo, los tipos de proteínas codificados por estos genes, así como la identificación de las áreas de acción de estas proteínas.

**PALABRAS LLAVE:** Epidídimo. Expresión Génica. Reproducción.

\* Doutora em Ciências (Morfologia) pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Docente do Centro Universitário São Camilo – São Paulo, SP.  
E-mail: samaraurban@gmail.com

\*\* Aluna de Graduação em Biomedicina. Centro Universitário São Camilo – São Paulo, SP.

\*\*\* Doutora em Ciências (Morfologia) pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Pós-doutora pela Medical Research Council – Human Genetics Unit, MRC-HGU, Escócia. Docente da Disciplina de Biologia do Desenvolvimento – Departamento de Morfologia e Genética, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – São Paulo, SP.

## Introdução

Após sua formação no ambiente testicular, o espermatozóide necessita passar por um processo de maturação para que ele seja capaz de fertilizar o oócito. A maturação espermática, que se inicia na cabeça do epidídimo e segue pelo corpo até a cauda proximal, envolve intensas alterações morfológicas e bioquímicas, garantindo a formação de espermatozoides aptos a reconhecer e fertilizar oócitos secundários no trato reprodutor feminino, permitindo que os espermatozoides adquiram motilidade progressiva bem como potencial para sobrevivência e para o sucesso na fertilização. Estas alterações resultam de interações entre espermatozoides e o microambiente epididimário.

Durante a passagem através do epidídimo, o fluido ao qual os espermatozoides são expostos sofre alterações substanciais na composição, incluindo mudanças da osmolaridade, da proporção iônica, das reservas energéticas e de tipos protéicos. No espermatozóide, a membrana plasmática e as membranas acrossômicas alteram-se em relação às suas composições macromoleculares e à fluidez. A cromatina nuclear, por sua vez, é estabilizada por um aumento nas ligações dissulfídicas. Muitas alterações das membranas dos espermatozoides, que coincidem com a maturação espermática, são mediadas por proteínas secretadas em regiões restritas do ducto epididimário (algumas das quais são andrógeno-dependentes) e por associações subsequentes dessas proteínas com os espermatozoides<sup>1</sup>.

## Morfofisiologia Epididimária

O epidídimo consiste de um longo ducto, altamente contorcido, que conecta os ductos eferentes ao ducto deferente. Dependendo

da espécie, o comprimento do ducto epididimário pode variar de 3-4 metros, na espécie humana, até 80 metros como nos equinos. Morfológicamente, o epidídimo é geralmente dividido em três regiões: cabeça, corpo e cauda. Entretanto, Benoit (1926)<sup>2</sup> introduziu o conceito de segmento inicial, devido às características morfológicas peculiares deste segmento, sendo esta uma região situada entre os ductos eferentes e a cabeça epididimária. Desta forma, o epidídimo pode ser dividido em segmento inicial, cabeça, corpo e cauda<sup>3</sup>. A classificação baseia-se no estudo da altura do epitélio, do diâmetro tubular e da variação na frequência dos diferentes tipos celulares, que incluem as células principais, basais, apicais, halo, claras e estreitas<sup>4</sup>, características tais que se relacionam com a função destas regiões. Além disso, a altura das células epiteliais que revestem o ducto epididimário diminui da região do segmento inicial para a cauda, e conseqüentemente, o lúmen deste aumenta nesta direção<sup>3,4</sup>.

O tipo celular mais abundante é a célula principal, encontrada em todos os segmentos epididimários. Algumas variações nas características morfológicas das células principais podem ser observadas entre o segmento inicial e as demais regiões. Desta forma, na cabeça, corpo e cauda do epidídimo, os núcleos destas células apresentam formas irregulares e localizam-se na porção basal enquanto que, no segmento inicial, os núcleos mostram-se arredondados, dispostos em vários níveis. As células principais são encontradas em todos os segmentos sendo, entretanto, mais abundantes no segmento inicial e na cabeça epididimária (aproximadamente 80% do total de células epiteliais)<sup>4</sup>. Estas células são responsáveis pelo transporte e secreção de íons e de pequenas moléculas orgânicas, pela síntese e secreção protéica,

como também pela reabsorção de fluido<sup>3,5</sup>. Nas regiões da cabeça e do corpo, as células principais também participam da manutenção do pH luminal ácido<sup>6</sup>.

As células apicais não estabelecem contato com a membrana basal e são semelhantes às células principais, apresentando núcleos que se localizam na porção apical<sup>4,7</sup>. As células estreitas, que são exclusivamente observadas no segmento inicial, apresentam citoplasma mais acidófilo que o das células principais, núcleo alongado e localizado na metade superior da célula e região basal estreita, difícil de ser visualizada. Estas células estão relacionadas à manutenção da quiescência do espermatozóide, modificando o pH do lúmen pela produção de enzimas da família da anidrase carbônica. Além disso, as células apicais e estreitas têm a função de degradação de proteínas específicas<sup>6,8</sup>.

Por outro lado, as células claras são encontradas somente nas porções da cabeça, do corpo e, especialmente, da cauda e são caracterizadas, principalmente, pela presença de numerosos vacúolos apicais<sup>4</sup>, participando da remoção da gota citoplasmática presente nos espermatozoides<sup>8</sup>.

Ao longo de todo epidídimo observam-se as células basais, em maior frequência nas regiões do corpo e da cauda. Trata-se de células alongadas, localizadas próximas à base do epitélio, que se dispõem em contato com a membrana basal e que não alcançam o lúmen. Possuem núcleo alongado ou esférico, com cromatina condensada<sup>4</sup>. Contribuem para a formação da barreira entre os vasos sanguíneos e o lúmen epididimário, apresentando função protetora<sup>9</sup>. Além disso, as células basais participam do processo de “destruição” de espécies reativas de oxigênio devido à expressão de altas concentrações de enzimas da família da glutatona

peroxidase, superóxido dismutase, catalase e indolamina dioxigenase, auxiliando também na regulação do transporte de água e de eletrólitos pelas células principais<sup>10,11,12</sup>.

As células halo, ainda que distribuídas em todos os níveis do epitélio epididimário, são mais frequentes no epitélio da porção da cabeça. Elas apresentam núcleo com cromatina densa, envolto por uma quantidade escassa de citoplasma, além de uma área fracamente corada, formando um "halo"<sup>4</sup>. Estão relacionadas ao sistema imune<sup>3</sup>.

A comunicação entre os diversos tipos celulares epiteliais é essencial para a coordenação da função epididimária e para a formação de um microambiente especializado, envolvendo a participação de fatores testiculares (principalmente na região do segmento inicial), endócrinos e parácrinos. A distribuição diferencial dos tipos celulares no epitélio ao longo do ducto epididimário faz com que cada região apresente um fluido luminal característico, constantemente modificado pela atividade secretória e de reabsorção do epitélio do epidídimo, e pela atividade metabólica do espermatozoide, criando um microambiente apropriado para a maturação espermática<sup>3,13,14</sup>. Além disso, a regionalização epididimária correlaciona suas características morfológicas com propriedades funcionais, sendo que o segmento inicial está relacionado com a absorção de fluidos, enquanto as regiões da cabeça e do corpo epididimários estão envolvidas com a aquisição da motilidade progressiva pelos espermatozoides, aquisição da capacidade de reconhecimento e de fertilização do oócito; a cauda do epidídimo está associada com o armazenamento espermático e com a remoção de espermatozoides anormais<sup>15</sup>.

Desta forma, as funções relacionadas ao epitélio epididimário incluem absorção de fluidos, íons

e moléculas orgânicas, secreção de glicoproteínas, íons e pequenas moléculas orgânicas, espermiofagia, armazenamento de espermatozoides, além de biossíntese de substâncias através do metabolismo intermediário, síntese e metabolização de hormônios esteróides e de outras substâncias como prostaglandinas e vitamina D<sup>3</sup>.

Durante o processo de maturação, ocorre a adsorção de proteínas e glicoproteínas produzidas pelo epitélio epididimário pela membrana plasmática do espermatozoide, assim como a remoção algumas proteínas de membrana espermática<sup>16</sup>.

O fluido luminal do ducto epididimário contém proteínas relacionadas ao sistema antioxidante como as enzimas gamaglutamiltransferase e óxido nítrico-sintetase. A produção de espécies reativas de oxigênio (EOR) em espermatozoides está associada à função fisiológica normal, mas o descontrole e o excesso de EOR representam um dos maiores fatores relacionados com a infertilidade, comprometendo a motilidade do espermatozoide e a sua viabilidade em promover a fertilização<sup>17</sup>. Estudos mostraram que entre 40% e 88% dos homens com baixa fertilidade apresentam elevados níveis de EOR no plasma seminal<sup>18</sup>. Um dos oxidantes encontrados no plasma seminal é o óxido nítrico, sendo este um mediador funcional importante em vários sistemas fisiológicos. Porém, quando gerado em quantidades excessivas por períodos longos, principalmente durante reações imunológicas, o óxido nítrico é citotóxico e citostático para micróbios invasores, bem como para as células que o geram e os tecidos adjacentes<sup>19,20</sup>. Em situações de falha na regulação da enzima óxido nítrico-sintetase, ocorre uma excessiva produção de óxido nítrico, que pode causar patologias aos espermatozoides, diminuindo a fertilidade<sup>21</sup>.

Glicoproteínas como a carnitina, acetilfosforil colina, ácido siálico e glicosidases ( $\beta$ -D-galactosidases,  $\beta$ -N-acetil glucosaminidase,  $\alpha$ -fucosidase,  $\alpha$ -glucosidase e  $\alpha$ -manosidase), que compõem o fluido epididimário, estão associadas a importantes mecanismos de maturação dos espermatozoides, tais como: reconhecimento de sítios específicos sobre a superfície dos oócitos durante a fertilização; formação da matriz acrossomal; ação sobre a reação acrossômica e fertilização; destruição da gota citoplasmática do espermatozoide; digestão de polissacarídeos adsorvidos e processamento e síntese de glicoproteínas pelo epidídimo<sup>14,22,23,24</sup>.

O transporte do espermatozoide através do ducto epididimário depende da contração muscular via transmissão simpática e parassimpática, da ação dos cílios presentes nas células epiteliais e do gradiente de pressão hidrostática diferencial entre as porções proximal e distal do ducto epididimário<sup>3</sup>. A regulação destes mecanismos garante um tempo do trânsito espermático adequado para a ocorrência da maturação espermática.

As funções do epitélio epididimário, bem como o controle dos mecanismos de transporte dos espermatozoides são modulados por um complexo controle hormonal, principalmente através da ação do hormônio esteróide 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT), produto da conversão de testosterona pela enzima 5 $\alpha$ -redutase. Outros hormônios envolvidos no controle hormonal incluem o estradiol, a prolactina, a aldosterona, além das vitaminas A e D<sup>3</sup>.

### Expressão gênica e regulação da função epididimária

A formação e a manutenção de um microambiente especializado no epidídimo é um processo

que envolve complexa regulação da expressão gênica. Uma série de genes, com expressão programada e altamente específica ao longo do epidídimo, tem sido identificada. O conhecimento destes genes contribui para o entendimento das bases moleculares da formação do espermatozóide e do estabelecimento das características peculiares do ducto epididimário, que são fundamentais para o processo da maturação espermática. Alterações da expressão gênica epididimária e, portanto, da transcrição de mRNA e do mecanismo de tradução de proteínas podem acarretar alterações na fertilidade masculina.

A identificação do transcrito epididimário e da expressão de diferentes genes, de maneira específica, pode possibilitar o entendimento dos complexos mecanismos que controlam a função desse órgão, bem como a compreensão das causas da infertilidade masculina idiopática e de patologias associadas ao sistema reprodutor masculino. Além disso, o entendimento dos mecanismos envolvidos na produção do fluido epididimário, que possui composição especializada em cada um de seus segmentos, é de grande interesse, pois contribui para o desenvolvimento de novas técnicas de contracepção masculina voltadas para etapas pós-gonadais, que são preferíveis àquelas testiculares e/ou que envolvam alterações hormonais.

O padrão da expressão gênica é específica em cada um dos segmentos epididimários e também apresenta alterações durante o desenvolvimento sexual, sendo que a maioria destes genes é expressa exclusivamente no epidídimo somente na fase adulta<sup>25</sup>.

Importantes genes localizados no epidídimo proximal incluem: AQP9 (aquaporin 9), que codifica proteínas membros de canais aquosos relacionados ao transporte de

fluidos na região dos ductos eferentes<sup>26</sup> e genes da família CLDN (claudinas) e CTNN que codificam proteínas envolvidas na adesão celular e membros da família de genes SERPIN (serpin peptidase inhibitor): SERPINA1, SERPINA5, SERPINA6, relacionados à inibição de uma serina-protease<sup>27,28</sup>.

Por outro lado, o transcrito do corpo epididimário revelou uma nova família de genes denominados WAP (whey acidic protein), que codificam inibidores de proteases<sup>29</sup>. Os principais membros da família de genes WAP incluem o SLPI (leucocyte protease inhibitor)<sup>30</sup>, HE4 (WAP four-disulfide core domain 2)<sup>31</sup> e SPINWL1 (serine peptidase inhibitor-like, with Kunitz and WAP domains 1 - Eppin)<sup>32</sup>. A função biológica destes genes ainda não foi elucidada, mas a proteína codificada pelo gene SLPI tem se mostrado um potente agente antimicrobiano<sup>33</sup>. Outros dois transcritos, SPINK 2 and SPINK 5, também são expressos no corpo epididimário, e codificam proteínas relacionadas à regulação do processo proteolítico de algumas proteínas de superfície espermática<sup>34,35</sup>. O segmento do corpo epididimário também apresenta mRNAs que codificam proteínas envolvidas na interação do espermatozóide com a zona pelúcida ou do espermatozóide com a membrana plasmática do ovócito, como a proteína P34H (dicarbonyl/L-xylulose reductase)<sup>36,37</sup>, ADAM7 (metallopeptidase domain 7)<sup>38</sup> and CRISP-1 (cysteine-rich secretory protein 1 - AEG1)<sup>39,40</sup>.

A cauda epididimária é o segmento que apresenta o menor nível de atividade transcricional. Os principais transcritos encontrados nesta região estão envolvidos na contração muscular e incluem actina (ACTG2), tropomiosina (TPM1), miosina (MYH11), calponina (CNN) e *smothelin* (SMTN),

que codificam proteínas do citoesqueleto<sup>25</sup>. Além disso, outros genes como o receptor de prostaglandina (PTGER3) e o ADRA1A (adrenergic, alpha-1A-, receptor) são altamente expressos na cauda epididimária em seres humanos<sup>25</sup>.

O NPC2 (Niemann-Pick disease, type C2) é o transcrito mais abundante expresso no epidídimo humano<sup>41</sup>, em todos os segmentos deste órgão, com exceção da região da cabeça proximal. Ele codifica a proteína HE1 que se relaciona ao transporte de colesterol durante a maturação espermática<sup>42,43</sup>.

Alguns genes foram identificados como sendo expressos preferencialmente no epidídimo<sup>44,45,46,47</sup> incluindo a subfamília de genes Cres (cystatin-related epididymal and spermatogenic)<sup>48</sup> e os genes Lcn5 (lipocalin 5), Lcn8 (lipocalin 8 - segmento inicial específico), Gpx5 (glutathione peroxidase 5 - especificamente expresso na cabeça epididimária), Adam 7 (metallopeptidase domain 7), Defb11 (defensin beta 11)<sup>49</sup>, Ros1 (ros1 proto-oncogene - especificamente expresso no segmento inicial), Crisp1 (corpo e cauda específicos), Spint4 (serine protease inhibitor 4), Rnase9 and Rnase10 (ribonuclease, Rnase A, family 9 and 10) e os genes ESTs (expressed sequence tag)<sup>50</sup>. O gene Defa22 (defensin beta 22), que codifica a proteína epididimária E3, mostrou ser completamente específica para o epidídimo<sup>51</sup>. Entretanto, a função da maioria destes genes ainda é desconhecida.

O controle androgênico da função epididimária é principalmente mediado pela 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT) através da conversão da testosterona (T)<sup>3,52</sup>, pela isoenzima 5 $\alpha$ -redutase tipo 1 e tipo 2, no epidídimo. O padrão de expressão destas duas enzimas no epidídimo exhibe diferenças: enquanto o segmento inicial apre-

sentado alto nível de expressão de ambas as isoformas, sua expressão diminui nos segmentos distais<sup>53,54</sup>. Além disso, a expressão de muitos genes é regulada por andrógenos como, por exemplo, os genes *Crisp*, *Gpx5*, *Lcn5*, and *Rhox5* (reproductive homeobox 5). Curiosamente, certos genes presentes no tecido epididimário e também amplamente distribuídos em outros tecidos, como o gene *Ggt1* (gamma-glutamyltransferase, são regulados por andrógenos somente no epidídimo. Além disso, a transcrição do gene *Ggt1* apresenta uma regulação androgênica diferencial nas dife-

rentes regiões epididimárias<sup>55</sup>, sugerindo uma possível ação destes andrógenos como co-reguladores de receptores de andrógenos (AR) e, portanto, ação no controle da expressão de *Ggt1*.

Em adição aos andrógenos, fatores testiculares presentes nos ductos eferentes controlam a homeostase do epitélio e a expressão gênica no segmento inicial do epidídimo<sup>56,57</sup>, incluindo os genes *Cst8* (cystatin 8)<sup>48</sup>, *Araf* (v-raf murine sarcoma 3611 viral oncogene homólogo)<sup>58</sup>, *Gpx5*<sup>59,60</sup>, *Adam7* (metallopeptidase domain 7)<sup>61</sup>,

*Lcn8*<sup>62</sup> e *PEA3* (ETS-domain transcription factor *pea3*)<sup>63</sup>.

### Considerações finais

Embora análises transcricionais em diversas espécies e a identificação de inúmeros genes seletivos e específicos no epidídimo estejam fornecendo importantes dados para o entendimento da expressão gênica complexa deste órgão, muito ainda permanece a ser determinado como, por exemplo, os tipos protéicos codificados por estes genes, bem como a identificação dos sítios de ação destas proteínas.

## REFERÊNCIAS

- Zenick H, Clegg ED, Perreault SD, Klinefelter GR, Gray LE. Assessment of male reproductive toxicity: a risk assessment approach. Principles and methods of toxicology. New York: Raven Press; 1994.
- Benoit J. Recherches anatomiques, cytologiques et histophysiologiques sur les voies excrétrices du testicule chez les mammifères. Archs Anat Histol Embryol. 1926;5:173-412.
- Robaire B, Hermo L. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions and their regulation. Knobil E, Neill J, editors. The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press; 1988.
- Reid BL, Cleland KW. The structure and function of the epididymis. I. The histology of the rat epididymis. Aust J Zool. 1957;5:223-45.
- Dacheux JL, Castella S, Gatti JL, Dacheux F. Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. Theriogenology. 2005;63:319-41.
- Pastor-Soler N, Pietrement C, Breton S. Role of acid/base transporters in the male reproductive tract and potential consequences of their malfunction. Physiology (Bethesda). 2005;20:417-28.
- Sun EL, Flickinger CJ. Proliferative activity in the rat epididymis during postnatal development. Anat Rec. 1982;203:273-84.
- Herme L, Chong DL, Moffatt P, Sly WS, Waheed A, Smith CE. Region - and cell -specific differences in the distribution of carbonic anhydrases II, III, XII, and XIV in the adult rat epididymis. J Histochem Cytochem. 2005;53:699-713.
- Veri JP, Herme L, Robaire B. Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. J Androl. 1993;14:23-44.
- Vernet P, Aitken RJ, Drevet JR. Antioxidant strategies in the epididymis. Mol Cell Endocrinol. 2004;216:31-9.
- Leung GP, Cheung KH, Leung CT, Tsang MW, Wong PY. Regulation of epididymal principal cell functions by basal cells: role of transient receptor potential (Trp) proteins and cyclooxygenase-1 (COX-1). Mol Cell Endocrinol. 2004;216:5-13.
- Cheung KH, Leung GP, Leung MC, Shum WW, Zhou WL, Wong PY. Cell-cell interaction underlies formation of fluid in the male reproductive tract of the rat. J Gen Physiol. 2005;125:443-54.
- Setchell BP, Maddocks S, Brooks DE. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. Knobil E, Neill J, editors. The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press; 1988.
- Hinton BT, Setchell BP. Fluid secretion and movement. Russell LD, Griswold MD, editors. The Sertoli cell. Vienna IL: Cache River Press; 1993.
- Serre V, Robaire B. Segment-specific morphological changes in aging Brown Norway rat epididymis. Biol Reprod. 1998;58:497-513.
- Vernon RB, Muller CH, Eddy EM. Further characterization of a secreted epididymal glycoprotein in mice that binds to sperm tails. J Androl. 1987;8(3):123-8.

17. Alkan I, Simsek F, Haklar G, Kervancioglu E, Ozveri H, Yalcin S, Akdas AH. Reactive oxygen species production by the spermatozoa of patients with idiopathic infertility: relationship to seminal plasma antioxidants. *J Urol*. 1997;157(1):140-3.
18. Lewis SE, Boyle PM, McKinney KA, Young IS, Thompson W. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. 1995;64(4):868-70.
19. Pasqualotto FF, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ, Agarwal A. Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fert Steril*. 2000;73(3):459-64.
20. Rosselli M, Dubey RK, Imthurn B, Macas E, Keller PJ. Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. *Hum Reprod*. 1995;10(7):1786-90.
21. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*. 1992;18(258):1898-02.
22. Hinton BT, Brooks DE, Dott HM, Setchell BP. Effects of carnitine and some related compounds on the motility of rat spermatozoa from the caput epididymidis. *J Reprod Fertil*. 1981;61:59-64.
23. Tulsiani DR, Skudlarek MD, Holland MK, Orgebin-Crist MC. Glycosylation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation. *Biol Reprod*. 1993;48:417-28.
24. Dacheux JL, Gatti JL, Dacheux F. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech*. 2003;61:7-17.
25. Thimon V, Koukoui O, Calvo E, Sullivan R. Region-specific gene expression profiling along the human epididymis. *Mol Hum Reprod*. 2007;13(10):691-704.
26. Pastor-Soler N, Bagnis C, Sabolic I, Tyszkowski R, McKee M, Van Hoek A, Breton S, Brown D. Aquaporin 9 expression along the male reproductive tract. *Biol Reprod*. 2001;65:384-93.
27. Hu ZH, Liu Q, Shang Q, Zheng M, Yang J, Zhang YL. Identification and characterization of a new member of serpin family- Hon-greS1 in rat epididymis. *Cell Res*. 2002;12:407-10.
28. Yamazaki K, Adachi T, Sato K, Yanagisawa Y, Fukata H, Seki N, Mori C, Komiyama M. Identification and characterization of novel and unknown mouse epididymis-specific genes by complementary DNA microarray technology. *Biol Reprod*. 2006;75:462-8.
29. Clauss A, Lilja H, Lundwall A. A locus on human chromosome 20 contains several genes expressing protease inhibitor domains with homology to whey acidic protein. *Biochem J*. 2002;368:233-42.
30. Thompson RC, Ohlsson K. Isolation, properties, and complete amino acid sequence of human secretory leukocyte protease inhibitor, a potent inhibitor of leukocyte elastase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83:6692-6.
31. Kirchoff C, Habben I, Ivell R, Krull N. A major human epididymis-specific cDNA encodes a protein with sequence homology to extracellular proteinase inhibitors. *Biol Reprod*. 1991;45:350-7.
32. Richardson RT, Sivashanmugam P, Hall SH, Hamil KG, Moore PA, Ruben SM, French FS, O'Rand M. Cloning and sequencing of human Eppin: a novel family of protease inhibitors expressed in the epididymis and testis. *Gene*. 2001;270:93-102.
33. Tomee JF, Koeter GH, Hiemstra PS, Kauffman HF. Secretory leukoprotease inhibitor: a native antimicrobial protein presenting a new therapeutic option? *Thorax*. 1998;53:114-6.
34. Moritz A, Lilja H, Fink E. Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA encoding the human acrosin-trypsin inhibitor (HUSI-II). *FEBS Lett*. 1991;278:127-30.
35. Jalkanen J, Kotimaki M, Huhtaniemi I, Poutanen M. Novel epididymal protease inhibitors with Kazal or WAP family domain. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;349:245-54.
36. Boue F, Berube B, De Lamirande E, Gagnon C, Sullivan R. Human sperm-zona pellucida interaction is inhibited by an antiserum against a hamster sperm protein. *Biol Reprod*. 1994;51:577-87.
37. Legare C, Gaudreault C, St-Jacques S, Sullivan R. P34H sperm protein is preferentially expressed by the human corpus epididymidis. *Endocrinology*. 1999;140:3318-27.
38. Lin YC, Sun GH, Lee YM, Guo YW, Liu HW. Cloning and characterization of a complementary DNA encoding a human epididymis-associated disintegrin and metalloprotease 7 protein. *Biol Reprod*. 2001;65:944-50.
39. Hayashi M, Fujimoto S, Takano H, Ushiki T, Abe K, Ishikura H, Yoshida MC, Kirchoff C, Ishibashi T, Kasahara M. Characterization of a human glycoprotein with a potential role in sperm-egg fusion: cDNA cloning, immunohistochemical localization, and chromosomal assignment of the gene (AEGL1). *Genomics*. 1996;32:367-74.
40. Ellerman DA, Cohen DJ, Da Ros VG, Morgenfeld MM, Busso D, Cuasnicu PS. Sperm protein "DE" mediates gamete fusion through an evolutionarily conserved site of the CRISP family. *Dev Biol*. 2006;297:228-37.
41. Kirchoff C, Osterhoff C, Young L. Molecular cloning and characterization of HE1, a major secretory protein of the human epididymis. *Biol Reprod*. 1996;54:847-56.
42. Legare C, Thabet M, Gatti JL, Sullivan R. HE1/NPC2 status in human reproductive tract and ejaculated spermatozoa: consequence of vasectomy. *Mol Hum Reprod*. 2006;12:461-8.

43. Legare C, Sullivan R. Expression and localization of c-ros oncogene along the human excurrent duct. *Mol Hum Reprod.* 2004;10:697-703.
44. Rankin TL, Ong DE, Orgebin-Crist MC. The 18-kDa mouse epididymal protein (MEP 10) binds retinoic acid. *Biol Reprod.* 1992;46(5):767-77.
45. Kirchoff C, Pera I, Rust W, Ivell R. Major human epididymis-specific gene product, HE3, is the first representative of a novel gene family. *Mol Reprod Dev.* 1994;37(2):130-7.
46. Kitajima K, Matsumoto K, Tahara M, Takahashi H, Nakamura T. A newly identified AMSH-family protein is specifically expressed in haploid stages of testicular germ cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(1):135-42.
47. Baek N, Woo JM, Han C, Choi E, Park I, Kim DH, Eddy EM, Cho C. Characterization of eight novel proteins with male germ cell-specific expression in mouse. *Reprod Biol Endocrinol.* 2008;24:6-32.
48. Cornwall GA, Orgebin-Crist MC, Hann SR. The CRES gene: a unique testis-regulated gene related to the cystatin family is highly restricted in its expression to the proximal region of the mouse epididymis. *Mol Endocrinol.* 1992;6:1653-64.
49. Li JY, Wang HY, Liu J, Liu Q, Zhang JS, Wan FC, Liu FJ, Jin SH, Zhang YL. Transcriptome Analysis of a cDNA Library from Adult Human Epididymis. *DNA Res.* 2008;15(3):115-22.
50. Penttinen J, Pujianto DA, Sipila P, Huhtaniemi I, Poutanen M. Discovery in silico and characterization in vitro of novel genes exclusively expressed in the mouse epididymis. *Mol Endocrinol.* 2003;17(11):2138-51.
51. Johnston DS, Turner TT, Finger JN, Owtscharuk TL, Kopf GS, Jelinsky SA. Identification of epididymis-specific transcripts in the mouse and rat by transcriptional profiling. *Asian J Androl.* 2007;9(4):522-7.
52. Robaire B, Syntin P, Jervis K. The coming age of the epididymis. In: Jegou B, editor. *Testis, Epididymis and Technologies in the Year 2000.* New York: Springer-Verlag; 2000.
53. Viger RS, Robaire B. Differential regulation of steady state 4-ene steroid 5 alpha-reductase messenger ribonucleic acid levels along the rat epididymis. *Endocrinology.* 1991;128:2407-14.
54. Viger RS, Robaire B. The mRNAs for the steroid 5 alpha-reductase isozymes, types 1 and 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *J Androl.* 1996;17:27-34.
55. Palladino MA, Hinton BT. Expression of multiple gamma-glutamyl transpeptidase messenger ribonucleic acid transcripts in the adult rat epididymis is differentially regulated by androgens and testicular factors in a region-specific manner. *Endocrinology.* 1994;135:1146-56.
56. Nicander L, Osman DI, Ploen L, Bugge HP, Kvisgaard KN. Early effects of efferent ductule ligation on the proximal segment of the rat epididymis. *Int J Androl.* 1983;6:91-102.
57. Abe K, Takano H, Ito T. Interruption of the luminal flow in the epididymal duct of the corpus epididymidis in the mouse, with special reference to differentiation of the epididymal epithelium. *Arch Histol Jpn.* 1984;47:137-47.
58. Winer MA, Wolgemuth DJ. The segment-specific pattern of A-raf expression in the mouse epididymis is regulated by testicular factors. *Endocrinology.* 1995;136:2561-72.
59. Rigaudiere N, Ghyselincq NB, Faure J, Dufaure JP. Regulation of the epididymal glutathione peroxidase-like protein in the mouse: dependence upon androgens and testicular factors. *Mol Cell Endocrinol.* 1992;89:67-77.
60. Vernet P, Faure J, Dufaure J-P, Drevet JR. Tissue and developmental distribution, dependence upon testicular factors and attachment to spermatozoa of GPX5, a murine epididymis-specific glutathione peroxidase. *Mol Reprod Dev.* 1997;47:87-98.
61. Cornwall GA, Hsia N. ADAM7, a member of the ADAM (a disintegrin and metalloprotease) gene family is specifically expressed in the mouse anterior pituitary and epididymis. *Endocrinology.* 1997;138:4262-72.
62. Lareyre JJ, Winfrey VP, Kasper S, Ong DE, Matusik RJ, Olson GE, Orgebin-Crist MC. Gene duplication gives rise to a new 17-kilodalton lipocalin that shows epididymal region-specific expression and testicular factor(s) regulation. *Endocrinology.* 2001;142:1296-308.
63. Lan ZJ, Palladino MA, Rudolph DB, LabusLabus JC, Hinton BT. Identification, expression, and regulation of the transcriptional factor polyomavirus enhancer activator 3, and its putative role in regulating the expression of gamma-glutamyl transpeptidase mRNA-IV in the rat epididymis. *Biol Reprod.* 1997;57(1):186-93.

---

*Recebido em 22 de julho de 2009*  
*Aprovado em 31 de agosto de 2009*