

Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros

Histologic quantification of the seminiferous tubules cells and spermatogenesis yield in Agoutis (*Dasyprocta aguti*) raised in captivity

Antonio Chaves de ASSIS-NETO⁵;
Maria Isabel Vaz de MELO²;
Maria Acelina Martins de CARVALHO²;
Maria Angélica MIGLIANO³;
Moacir Franco de OLIVEIRA⁴;
Carlos Eduardo AMBRÓSIO³;
Silvana Maria Medeiros de Sousa SILVA²;
Francisco Xavier Hernandez BLASQUEZ¹;
Paula de Carvalho PAPA¹;
José Roberto Kfoury JÚNIOR¹

1- Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Patos - PB
2- Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI
3- Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo - SP
4- Escola Superior Agrícola de Mossoró, Mossoró - RN
5- Unidade Diferenciada de Dracena da Universidade Estadual Paulista, Dracena - SP

Correspondência para:
ANTONIO CHAVES DE ASSIS NETO
Unidade Diferenciada de Dracena
Universidade Estadual Paulista
Rua Bahia, 332
17900-000 - Dracena - SP
assischa@usp.br

Recebido para publicação: 15/04/2003
Aprovado para publicação: 19/02/2004

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar o rendimento da espermatogênese de cutias criadas em cativeiro, por intermédio das razões encontradas entre tipos celulares do epitélio seminífero. Os resultados apontaram que o rendimento da espermatogênese da cutia dos nove aos quatorze meses de idade não chegou a um ponto de estabilização. O coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais não aumentou com a idade. O rendimento meiótico, o rendimento geral da espermatogênese e o índice de células de Sertoli mostraram variações numéricas em função da idade, entretanto, não detectadas estatisticamente.

Introdução

Estudos acurados sobre a cinética da espermatogênese devem incluir não só a classificação dos estágios do ciclo do epitélio seminífero, mas também a enumeração dos tipos celulares presentes, de modo que se possa acompanhar, em termos quantitativos, a evolução de cada tipo ao longo do ciclo. Esta análise quantitativa, além de ser essencial no estabelecimento do padrão de divisão e renovação de espermatogônias, permite estimativas do coeficiente de eficiência do processo espermatogênico em qualquer ponto do ciclo.¹ Tal eficiência ou rendimento é traduzido em termos práticos, pelas razões encontradas entre os diferentes tipos celulares

do epitélio seminífero por secção transversal de túbulo e assim foram estudado em bovinos^{2,3,4}, suínos⁵, bubalinos⁶, coelhos⁷ e caprinos.⁸ O presente estudo tem como objetivo avaliar o rendimento da espermatogênese em cutias.

Materiais e Métodos

Grupos Experimentais

Foram utilizadas um total de 10 cutias machos (*Dasyprocta aguti*) de 09 a 14 meses de idade, oriundas do Núcleo de Estudos e Preservação de Animais Silvestres do Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí e Escola Superior de

Palavras-chave:

Cutia.
Testículo.
Túbulo seminífero.
Espermatogênese.
Dasyprocta aguti.

Agricultura de Mossoró (ESAM), Mossoró, Rio Grande do Norte (Termo de Cooperação Técnica - 02/99/IBAMA e Resolução número 57/99 – CEPEX – UFPI).

Colheita dos testículos

Os testículos dos animais foram colhidos por orquiectomias realizadas através de incisões em cada lado do escroto ou laparotomias longitudinais medianas retro-umbilicais, após pesagem utilizando-se balança KERN 430-53 Max 6000 g d = 1g. Para a anestesia os animais receberam 0,025 mg/mL de sulfato de atropina por via subcutânea e 0,2 mL/Kg de Zoletil por via intramuscular.

Processamento histológico

Os testículos de cada animal foram seccionados em três regiões (extremidade capitata, porção média e extremidade caudata), sendo posteriormente, estes fragmentos do parênquima testicular colocados em solução de Bouin por um período de 24 horas. Depois de desidratados pela passagem em álcoois de concentração crescente e diafanizados em xilol, foram incluídos em parafina, de acordo com técnica de rotina.⁹ Utilizaram-se cortes de 5 mm de espessura, os quais foram corados por hematoxilina-eosina (HE).

Contagem dos tipos celulares dos túbulos seminíferos

Estas contagens foram efetuadas em 10 secções transversais de túbulos seminíferos, de contorno o mais circular possível, contendo um mesmo estágio do ciclo do epitélio seminífero (C.E.S), em cada testículo. Para a contagem dos diferentes tipos celulares, foram escolhidos os estágios 1 do C.E.S de acordo com o método da morfologia tubular.⁶

Todos os números celulares encontrados, exceto o número de células de Sertoli, foram corrigidos para espessura do corte e diâmetro nuclear de acordo com o

fator de correção de Abercrombie¹⁰:

Contagem real = contagem bruta X espessura do corte / espessura do corte + diâmetro nuclear

O diâmetro nuclear médio foi obtido pela medida de 10 núcleos do tipo celular estudado, em cada testículo. Os diâmetros nucleares foram medidos com auxílio de ocular micrométrica Zeiss CPL 10 x, acoplada a objetiva de 100 x.

Em se tratando de células de Sertoli, a contagem obtida foi corrigida para o diâmetro do nucléolo e a espessura do corte utilizando a fórmula de Abercrombie¹⁰, conforme recomendado por Berndtson.¹¹

Rendimento da espermatogênese e Índice de célula de Sertoli

As razões entre os números celulares¹⁰ foram calculados a partir da puberdade da seguinte forma: Coeficiente de eficiência de mitoses; rendimento meiótico; rendimento geral da espermatogênese e Índice de células de Sertoli.

Análise estatística

Empregou-se a análise não-paramétrica para testar o efeito da idade sobre as variáveis estudadas e o teste de Kruskal-Wallis para comparar as médias obtidas (programa SPSS 8.0).

Resultados

População de células dos túbulos seminíferos

Na tabela 1 acham-se discriminados os números médios corrigidos de células espermatogênicas e de Sertoli por secção transversal de túbulo seminífero nos grupos etários de nove a quatorze meses. Observa-se que as espermatogônias apresentaram população celular estável e os espermatócitos primários, e espermátides arredondadas continuaram aumentando. Ainda pela tabela 1 pode-se verificar que o número de células de Sertoli diminuiu no grupo etário de dez meses, mas os valores

estão próximos no restante dos grupos.

Rendimento da espermatogênese e Índice de células de Sertoli

A avaliação do rendimento da espermatogênese é a razão entre os tipos celulares estudados (Tabela 2). Está dividida em rendimento mitótico, rendimento meiótico e rendimento geral da espermatogênese. O rendimento mitótico ou coeficiente de eficiência das mitoses foi representado pela razão de espermatogônia e espermatócito primário jovem em pré-leptóteno/leptóteno no estágio 1 do C.E.S. Observou-se que a razão entre os animais de nove e doze meses foi semelhante. O rendimento meiótico, o qual foi representado pela razão entre espermátides arredondadas e espermatócitos primário jovem em pré-leptóteno, inicialmente mostrou-se mais baixo e posteriormente manteve-se crescente. O rendimento geral da espermatogênese avaliado de acordo com a razão entre espermátides arredondadas e

espermatogônia mostrou-se crescente. Os grupos etários de nove e doze meses e os de doze e quatorze meses apresentaram razões bem próxima. O índice de célula de Sertoli calculado a partir da razão entre esta e as espermátides arredondadas a partir dos dez meses mostravam valores bem próximos (Tabela 2). Entretanto é importante salientar que estas tendências não puderam ser confirmadas com a análise estatística.

Discussão e Conclusão

População celular dos túbulos seminíferos

A população de células espermatogênicas dos túbulos seminíferos da cutia estudada a partir da puberdade ainda mostrou-se instável em alguns tipos celulares. O número de espermatogônia manteve-se mais ou menos constante após o período de diferenciação. Observações semelhantes foram encontrados em camundongos⁸, caprinos⁸, búfalos mestiços⁶ e no suíno Piau.⁵ O número

Tabela 1

Números corrigidos¹ de células por secção transversal de túbulo seminífero de cutia (*Dasyprocta aguti*), de 9 a 14 meses de idade, São Paulo, 2002

Idade	SPG	Espermatócito Primário		SPD Ar	Células de Sertoli
		PL/L	P		
9 _(n=2)	1,71±0,62	4,38±0,22	11,03±1,10	30,07±8,34	11,00±4,67
10 _(n=3)	1,69±0,69	2,35±1,79	6,89±1,11	29,02±1,11	6,63±1,50
12 _(n=3)	2,06±0,02	4,20±2,91	12,15±2,76	42,09±12,34	9,47±1,36
14 _(n=2)	2,11±0,02	5,48±0,83	8,64±0,63	42,91±6,28	10,60±1,41

¹- Correção segundo ABERCROMBEI, (1946); SPG - espermatogônia; PL/L - espermatócito primário jovem em pré-leptóteno/Leptóteno; P - espermatócitos primário velho em paquíteno; SPD Ar - Espermátide arredondada no estágio 1

Tabela 2

Razão entre o número de células espermatogênicas por secção transversal de túbulo seminífero de cutia (*Dasyprocta aguti*), de 9 a 14 meses de idade, São Paulo, 2002

Idade (meses)	Índice de Célula de Sertoli SPD Ar:CS	Razões celulares		
		Rendimento mitótico PL/L:SPG	Rendimento meiótico SPD Ar:PL/L	Rendimento geral SPD Ar:SPA
9	3,93	2,71	6,83	17,88
10	6,23	1,91	18,09	19,56
12	6,36	2,03	17,08	20,40
14	5,06	2,60	8,01	20,37

C.S. - células de Sertoli; SPG - espermatogônia; PL/L - espermatócitos primário jovem em pré-leptóteno/leptóteno; SPD Ar - espermátide arredondada

de espermatogônia do tipo A a partir da puberdade mantém-se constante até a vida adulta em mamíferos.¹² Os espermátocitos primários apresentaram valores numéricos inconstantes, indicando que a população destas células ainda não está estabilizada. Sinais de instabilização também pode ser comprovado ao analisar-se o número de espermátides arredondadas, pois ainda observa-se um crescimento gradual com a idade. Estas observações nos fazem concluir que as cutias, do presente estudo, até quatorze meses de idade não atingiram a maturidade sexual. Apesar da aparente precocidade ao nascimento, a maioria dos *hystricomorfos* leva muito tempo para alcançar a maturidade sexual, até mesmo em condições de laboratório que favorecem mais cedo a procriação.¹³

O número de células de Sertoli contadas a partir da puberdade também mostrou valores não estáveis nos grupos etários estudados a partir de nove meses de idade, apesar de já apresentarem características morfológicas de maturidade, como visto nas descrições histológicas.

Rendimento da espermatogênese e Índice de célula de Sertoli

O rendimento da espermatogênese é um indicativo importante da capacidade de produção espermática e pode servir como parâmetro na determinação da idade ideal para a entrada em serviços de reprodutores. Esse rendimento, a partir da puberdade, cresce gradualmente e chega a estabilizar-se por ocasião da maturidade sexual.^{5,6} Os resultados do presente estudo apontaram que o rendimento da espermatogênese da cutia de nove a quatorze meses de idade não chegou a um ponto de estabilização. O coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, aqui reapresentados pelos números de espermátocitos primários derivado de cada

espermatogônia, não se mostrou crescente com a idade. Da mesma forma se comportou o rendimento meiótico, o qual foi representado pela razão de espermátides arredondadas e espermátocitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, e o rendimento geral da espermatogênese, avaliado de acordo com a razão entre espermátides arredondadas e espermatogônias. O rendimento da espermatogênese em capivaras¹⁴ encontrou nove espermátocitos primários para cada espermatogônia e 21 espermátides arredondada para cada espermatogônia, tais valores referem respectivamente aos rendimento mitótico e rendimento geral da espermatogênese. Segundo o autor estes rendimentos são os mais baixos encontrados na literatura. Da mesma forma que o observado pelo referido autor, o rendimento da espermatogênese da cutia de nove a quatorze meses de idade apresentaram-se muito baixo, inclusive com valores abaixo do dele encontrado. De acordo com Johnson et al.,¹⁵ as degenerações das células germinativas apresentam o maior impacto durante a espermatocitogênese e a meiose.¹⁵ Ainda segundo os autores, essas perdas celulares aliadas a fatores tais como desenvolvimento puberal, idade e estação do ano, influenciam diretamente na eficiência do processo espermatogênico.

O índice de célula de Sertoli é a razão existente entre estas células e o número espermátides arredondadas no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. Tal índice tem sido utilizado como um bom parâmetro para avaliar a eficiência reprodutiva. Esta avaliação foi realizada nas cutias que já haviam alcançado a puberdade, uma vez que a população de células é mais estável após a puberdade.^{5,6,8,14,16,17} Na cutia, o índice de célula de Sertoli não apresentou tendência à estabilização, indicando que os animais estudados não atingiram a maturidade sexual aos 14 meses de idade.

Abstract

This study has as objective to evaluate the spermatogenesis yield of Agoutis raised in captivity, through the rates found between cellular

Key-words:

Agouti.
Testicle.
Seminiferous tubule.
Spermatogenesis.

types of the seminiferous epithelium. The results showed that the spermatogenesis yield of the Agoutis since 9 to 14 months of age did not reach the stabilization point. The coefficient of efficiency of the spermatogonium mitoses, did not increase with the age. The meiotic yield, usual spermatogenesis yield and the Sertoli cells index didn't showed numeric variation at function of the age, however, it was not detected by statistic data.

Referências

- CASTRO, A. C. S.; BERNEDSON, 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, 1997.
- AMANN, R. P.; ALMQUIST, J. O. Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. **Am. J. anatomy**, v. 110, p. 69–78, 1962.
- BERNSTON, W. E.; DESJADINS, C. The cycle of the somniferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. **Am. J. Anat.**, v. 140, p. 167–180, 1974.
- CARDOSO, F. M. **Morfologia, cinética e quantificação da espermatogênese em zebus (*Bos indicus*)**. 1981. 208 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1981.
- FRANÇA, L. R.; CARDOSO, F. M. Desenvolvimento testicular de suíno. IV. População celular dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 5, p. 339–353, 1988.
- MELO, M. I. V. **Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade**. 1991. 66 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1991.
- CASTRO, A. C. S. **A proposed acrossomal system for identifying stages of the cycle of the seminiferous epithelium and a model for the kinetics of spermatogenesis in the rabbit**. 1995. 148 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) - University of New Hampshire, Durham, 1995.
- SILVA, S. C. B. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos Saanem, criados em sistema intensivo**. 2000. 117 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2000.
- LUNA, L. G. **Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.
- ABERCROMBIE, M. Estimation of nuclear population from microtome sections. **Anat. Rec.**, v. 49, p. 238–248, 1946.
- BERNDTSON, W. E. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 818–883, 1977.
- ABDEL-ROUF, M. et al. Studies on the age at puberty of Najdi rams. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 20, n. 1, p. 67–69, 1989.
- WEIR, B. J. The Biology of Hystricomorph Rodents. Reproductive Characteristics of Hystricomorph Rodents. **Symp. Zool. Soc., Lond.**, v. 34, p. 265–446, 1974.
- PAULA, T. A. R. **Análise histométrica e funcional do testículo de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adulta**. 1999. 84 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1999.
- JOHNSON, L. et al. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 471–480, 2000.
- COUROT, M.; HOCHEREAU-DE REVIERS, M. T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. The testis. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p. 339–431.
- KUMI-DIANA, J. et al. Quantitative estimation of spermatogenesis in bulls (*Bos indicus*) in a tropical environment of Nigeria. **Vet. Res. Commum.**, v. 6, n. 3, p. 215–222, 1983.
- ORTAVANT, R. et al. Spermatogenesis in domestic animals. In: COLE, H. H., CUPPS, P. T. (Ed.). **Reproduction in domestic animals**. New York: Academic, 1977. p. 203–227.