

ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS, CONDENSAÇÃO ANORMAL DA CROMATINA ESPERMÁTICA E PERFIL LEUCOCITÁRIO ENTRE REGIÕES DO EPIDÍDIMO EM TOUROS DE CORTE

A. L. Zart^{1*}, C.E. Fernandes², L. J. F. Campos³, D. N. A. Sodré⁴,

INTRODUÇÃO

As alterações morfológicas no sêmen bovino representam o fator mais importante associado à queda da fertilidade. Dentre essas, as mais relevantes são as anormalidades ocorridas na estrutura e condensação da cromatina nuclear, mas ainda pouco estudadas na raça Nelore. Há indícios de que a função epididimal atue, através da fagocitose, na regulação da proporção de espermatozóides com defeitos morfológicos, especialmente na cauda do epidídimo, local onde ocorre o armazenamento e os estágios finais da maturação espermática. Possivelmente, touros com altos percentuais de defeitos, incluindo a cromatina nuclear, apresentem perfis distintos quanto à proporção de anormalidades entre regiões e entre aqueles sem alterações seminais.

A definição dos padrões de qualidade seminal, com vistas ao diagnóstico e prognóstico reprodutivo, sustenta-se na origem e na proporção de espermatozóides morfolologicamente anormais. Em geral, conclui-se que uma proporção de 30% de espermatozóides, com defeitos provenientes da espermiogênese e trânsito extra gonadal, seja suficiente para o diagnóstico de subfertilidade. Estudos mais recentes (Evenson et al., 2002; Fernandes et al., 2005) tem mostrado que anormalidades na condensação da cromatina espermática podem ser observadas em células com contorno e formato aparentemente normais, não sendo, assim, identificadas nos métodos convencionais. Embora a qualidade seminal tenha significado multifatorial, há uma

¹FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS; adrizart@gmail.com

²Dept. de Patologia, CCBS, UFMS, Campo Grande, MS; cefernandes@nin.ufms.br

³FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS; laryssa.jfc@gmail.com

⁴FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS; debora.nas@gmail.com

tendência no emprego de métodos específicos relacionados à cromatina nuclear com o objetivo de identificar diferenças entre amostras e impacto sobre a fertilização.

Os objetivos deste estudo foram estabelecer o perfil morfológico seminal e integridade do núcleo espermático nas regiões da cabeça, corpo e cauda do epidídimo de touros de genótipo zebuíno com e sem degeneração testicular, e, também, a relação entre o perfil da fagocitose entre as diferentes regiões do epidídimo com anomalias na cromatina espermática.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas amostras de 101 touros Nelore, com peso variando entre 287 a 862 Kg e idade entre 2 e 10 anos. Após exame de sêmen os animais foram classificados conforme características clínicas e seminais em aptos (n=77, no mínimo 50 e 70% de motilidade e espermatozóides normais, respectivamente) e inaptos (n=24, valores inferiores para esses indicadores). Desses, 8 (10,4%) aptos e 7 (29,0%) inaptos foram submetidos a orquiectomia e tiveram amostras das regiões da cabeça, corpo e cauda de um dos epidídimos escolhidos ao acaso, avaliadas para morfologia espermática (reação de Feulgen) e perfil leucocitário (coloração de Panótico).

Os resultados observados foram submetidos à análise de variância, modelo linear multivariado para efeito principal da condição reprodutiva (apto x inapto), região epididimal (cabeça, corpo e cauda) e interação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Touros inaptos apresentaram menor taxa de espermatozóides normais ($P < 0,05$) na cabeça ($49,8 \pm 6,0 \times 65,4 \pm 5,7\%$), corpo ($45,8 \pm 6,4 \times 64,6 \pm 5,6\%$) e cauda ($56,4 \pm 6,0 \times 76,1 \pm 5,7\%$) do epidídimo em relação aos aptos, respectivamente. Defeitos morfológicos geralmente atribuídos à função epididimal, tais como defeitos de cauda e de cabeça isolada normal foram superiores nos inaptos, indicando, possivelmente distúrbios nesse segmento do aparelho reprodutivo. Na região da cabeça do epidídimo houve maior percentual de anormalidades de cabeça para inaptos ($7,8 \pm 1,0 \times 2,9 \pm 0,9\%$, $P < 0,05$). Os defeitos de núcleo foram superiores ($P < 0,05$) na região da cauda do epidídimo ($11,3 \pm 2,2\%$) em relação aos aptos ($4,0 \pm 2,0\%$). As diferenças encontradas para os diferentes defeitos estudados sugerem que haja seleção espermática durante o trânsito epididimal, especialmente para defeitos de gota citoplasmática proximal, de cauda e cabeça isolada normal. Entretanto, os resultados obtidos na cauda do epidídimo demonstram que, possivelmente, haja diminuição na atividade seletiva para certos defeitos tornando o ejaculado com qualidade inferior. Nos touros inaptos, houve permanência de aproximadamente 30% de espermatozóides com a gota citoplasmática proximal na cauda do epidídimo em contraste com os aptos, cuja regressão da gota foi de aproximadamente 47%. Esses achados sugerem ainda, que além da presença de processo degenerativo no epitélio seminífero pode haver alterações no epitélio epididimal, ainda pouco evidenciado na andrologia bovina. A redução substancial de espermatozóides com morfologia normal nos touros inaptos indica que houve grande produção de células defeituosas durante a espermatogênese e que esse quadro tende a se manter até o ejaculado. Em relação ao perfil

leucocitário, apenas os neutrófilos variaram seu perfil, ao contrário dos linfócitos, eosinófilos e macrófagos (gráfico 1). Touros aptos apresentaram maior número de neutrófilos na região da cauda do epidídimo, sugerindo atividade fagocítica maior ou ainda, possibilidade de maior seleção de formas anormais no lúmen epitelial

Com esses resultados é possível concluir que a função epididimal é capaz de exercer efeito seletivo em formas anormais de espermatozoides, especialmente em touros com indícios de degeneração testicular, independente do perfil leucocitário luminal, porém touros com qualidade seminal superior, tendem a apresentar maior atividade leucocitária na cauda do epidídimo. Defeitos observados no sêmen ejaculado, tais como gota citoplasmática proximal, cauda e cabeça isolada normal estão em percentuais elevados no trânsito epididimal e podem representar alterações na atividade epitelial nas regiões epididimais estudadas.

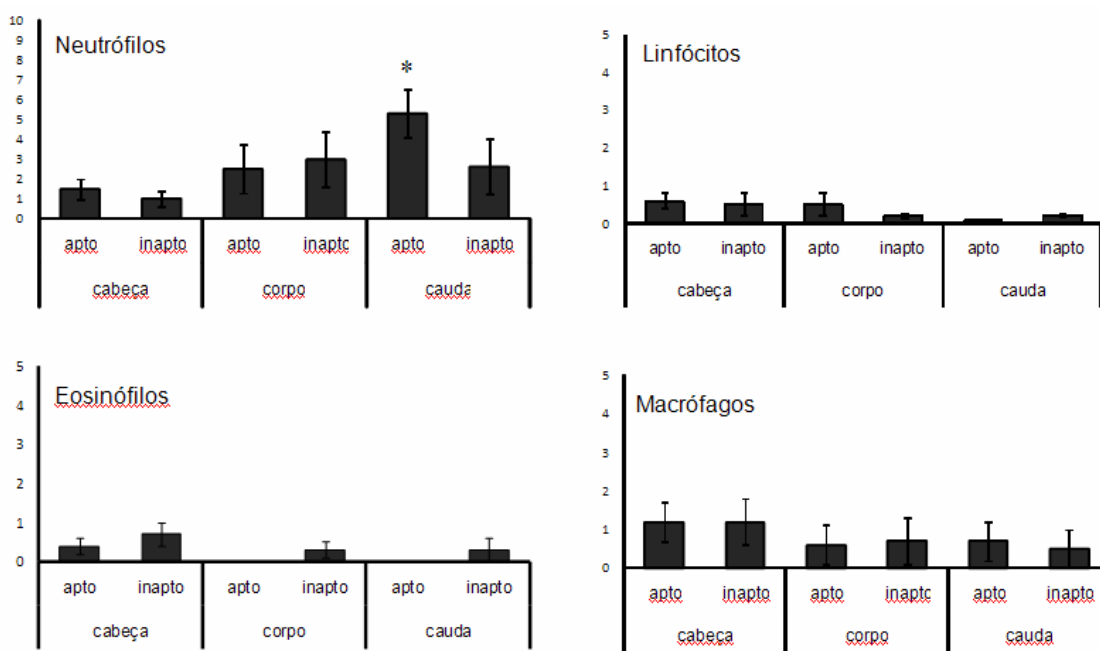


Gráfico 1. Médias (\pm epm) para leucócitos conforme condição reprodutiva e região epididimal em touros Nelore. * $P < 0,05$

*Projeto apoiado pela FUNDECT/MS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barth, A.D., Bowman, P.A. The sequential appearance of sperm abnormalities after scrotal insulation or dexamethasone treatment in bull. *Can. Vet. J.* v.34, p.93-102. 1994.

Behmer, O.A., Tolosa, E.M.C., Fretias Neto, A.G. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. EDART, São Paulo. 241 p. 2003.

Crabo, B., Gustafsson, B., Nicander, L., Rao, R.A. Subnormal testicular function in a bull concealed by phagocytosis of abnormal spermatozoa in the efferent ductules. *J. Reprod. Fert.*, 26, 393-396. 1971.

de Lamirande, E., Gagnon, C. Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J. Androl.*, v. 13, p. 368–378. 1992.

Evenson, D.P., Larson, K.L., Jost, L.K. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detection sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques. *J. Androl.*, v. 23, p. 25-43. 2002.

Fernandes, C.E. **Perfil eletroforético, características estruturais e fertilidade *in vitro* do sêmen de touros Nelore submetidos à degeneração testicular por insulação**. 2005. 106 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Curso de Pós-graduação da FMVZ, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

Foot, R. Effect of processing and measuring procedures on estimated sizes of bull sperm heads. *Theriogenology*, v.59, p.1765-1773. 2003.

Goyal, H.O. Light microscopic and ultrastructural evidence of epithelial phagocytosis of sperm in the rete testis and ductuli efferentes in the bull. *Am. J. Vet. Res.*, v. 43, 785-790. 1982.

Hermo, L., Oko, R., Morales, C.R. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. *Int. Rev. Cytol.* v.154, p.105-189. 1994.

Horn, M.M., Moraes, J.C.F., Edelweiss, M.A. Evidence of differential selection of spermatozoa in the epididymes of hybrid bulls with altered spermatogenesis. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, v. 97, p. 171-174. 2002.