

ANÁLISE DO SÊMEN E MORFOMETRIA DA CABEÇA ESPERMÁTICA EM DIFERENTES PORÇÕES DO EPIDÍDIMO EM TOUROS DE CORTE

D. N. A. Sodré^{1*}, C.E. Fernandes², A. L. Zart³, L. J. F. Campos⁴,

INTRODUÇÃO

A análise de importantes defeitos, como os de cabeça e núcleo espermático, ainda se baseia na análise microscópica visual. Embora seja rápida e útil para o diagnóstico, é passível de erros por não permitir a identificação e quantificação de pequenas variações entre sub-populações espermáticas. Ambos os defeitos são os mais importantes para o diagnóstico e prognóstico das alterações reprodutivas no touro, porém sua relação nem sempre pode ser estimada em termos de fertilidade. Neste contexto, diferentes defeitos morfológicos na estrutura nuclear, contorno, forma da cabeça espermática e compactação da cromatina, têm sido empregados com o objetivo de identificar diferenças entre indivíduos e seu impacto sobre a fertilidade (Ostermeier et al., 2001). Desta forma, a morfometria digital têm sido usada com resultados promissores em relação a estimativa de diferentes medidas do núcleo espermático e relação com anormalidades na cromatina (Fernandes et al., 2005).

Análise morfométrica refere-se ao emprego de diferentes medidas em imagens captadas digitalmente com objetivo de estimar e comparar mudanças estruturais em células e tecidos. Sua aplicação é de extrema utilidade no diagnóstico e esclarecimento das alterações histológicas decorrentes de inúmeros processos patológicos (Micklem & Sandersons, 2001). Nos bovinos, a análise da morfometria do núcleo espermático permite e tem sido útil para estabelecer parâmetros relacionas diretamente com o nível de alterações nucleares provenientes da espermiogênese (Beletti et al., 2004).

Em touros Nelore, a variação da área da cabeça espermática (μm^2) pode diminuir 21 dias após início de um processo degenerativo por estresse térmico. Isso representa severa alteração na formação e organização nuclear das espermátides, resultando em falhas na integridade da cromatina com subsequente diminuição do tamanho da cabeça espermática (Fernandes et al., 2005).

Os objetivos desse estudo são estabelecer o perfil seminal em touros com e sem processo degenerativo comparando-o com diferentes regiões epididimais e estimar a variação de medidas morfométricas do núcleo espermático entre distintas regiões epididimais, relacionando-as com o perfil morfológico seminal.

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 clínico geral e especial, os animais foram submetidos a colheita de sêmen (eletro-ejaculação) e classificados quanto a condição reprodutiva em aptos (n=77) quando apresentaram no

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

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

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

⁴FAMEZ, UFMS, Campo Grande, MS; com laryssa.jfc@gmail.com

mínimo 50% de motilidade, vigor 3 e 70% espermatozóides normais; e inaptos (n=24), quando apresentaram valores inferiores aos reportados acima. Espermatozóides normais foram quantificados em microscopia de contraste de fase em 1000x.

Do total de animais avaliados, 8 aptos (10,4%) e 7 inaptos (29,0%) foram submetidos à orquiectomia. Fragmentos do parênquima testicular e das regiões da cabeça, corpo e cauda do epidídimo, selecionados ao acaso, foram recuperados e usados em impressões em lâminas para avaliação da morfologia do núcleo espermático pela reação de Feulgen (Barth & Oko, 19989). Para avaliação dos núcleos espermáticos estimou-se em 200 células (microscopia de contraste de fase, 1000x) os percentuais de vesículas nucleares (*pouch*, vacúolos, crateras e condensação anormal de cromatina) e defeitos de cabeça (piriforme, estreito na base, estreito e forma anormal).

Para as análises da morfometria da cabeça espermática, impressões dos distintos fragmentos foram corados com Panótico (Behmer et al., 2003). Para cada lâmina, a área (μm^2), comprimento (μm), largura superior (μm) e inferior ou base (μm) de, no mínimo, 30 núcleos espermáticos foram mensurados para estimar sua variância entre as regiões epididimais de acordo com a condição reprodutiva. Para isso foi usado o sistema de captação e processamento de imagens digitais KS400-2 (Kontron Elektronik Imaging System) de acordo com Fernandes et al. (2005).

A análise estatística foi feita com base no modelo linear multivariado, verificando-se os efeitos de condição reprodutiva (apto x inapto), região epididimal (cabeça, corpo e cauda) e sua interação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em geral esses resultados do exame de sêmen demonstram os critérios adotados para classificação dos touros mediante exame andrológico e tem sido amplamente usados. Destaca-se que 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.

A análise morfométrica, revelou efeito interativo para a base e comprimento (μm). Esse resultado demonstra variações importantes na forma e tamanho do núcleo espermático durante o trânsito epididimal. Os touros inaptos apresentaram núcleos mais finos e mais longos após liberação para o ducto eferente e região da cabeça epididimal. Isso sugere remodelação diferenciada na forma e contorno da matriz nuclear com origem na espermiogênese e maior tendência na formação de defeitos do tipo delgado na base, delgado e piriforme (Barth & Oko, 1989). Essa característica nuclear relaciona-se com o maior percentual de vesículas nucleares no corpo e cauda do epidídimo.

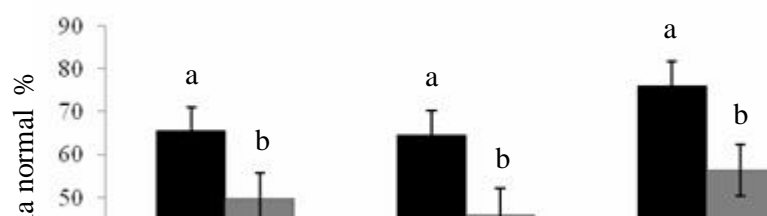


Figura 1. Comparação do percentual médio de espermatozoides com morfologia normal, com vesículas nucleares e defeitos de cabeça pela reação de Feulgen. Letras distintas entre colunas denotam diferença ($P < 0,05$) entre aptos inapto, *denota efeito ($P < 0,05$) entre regiões epididimais.

Embora os resultados desse estudo ainda sejam parciais é possível inferir que há variações importantes na organização do núcleo espermático em touros com redução na qualidade seminal e indícios de processo degenerativo testicular. Esses aspectos seriam importantes para serem estudados em grandes populações, bem como, o seu impacto sobre a fertilidade. Espermatozoides mais estreitos na base estão associados à maiores percentuais de

defeitos nucleares e permanecem ao longo do trânsito epididimal constituindo uma sub-população importante na redução da qualidade seminal em touros de corte.

*Projeto apoiado pela FUNDECT/MS.

REFEÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barth, A.D., Oko, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**. Ames: Iowa State University Press, 1989.

Beletti, M.E., Costa, L. da Costa, Viana, M.P. A computational approach to characterization of bovine sperm chromatin alterations. *Biot. Histoc.* v. 79, n. 1, p. 17- 23. 2004.

Fernandes, C.E., Feliciano Silva, A.E.D., Azevedo, H., Bicudo, S.D. Effect of the testicular degeneration on the sperm head morphometry in Nelore bulls. In: ICAR 2004 - *15 th International Congress on Animal Reproduction*. Porto Seguro, BA. *Anais...* v. 1, p. 269. 2005.

Foote, R.H. Fertility estimation: a review of past experience and future prospects. *Anim. Reprod. Sci.* v. 75, p. 119-139. 2003.

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.

Micklem, K., Sandersons, J. Digital imaging in pathology. *Cur. Diag. Pat.*, v. 7, p. 131-140. 2001.

Ostermeier, G.C. Sargeant, B.S. Yandell, D.P. Evenson, J.J. Parrish, Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape, *J. Androl.*, v. 22, p. 595-603. 2001.