

ALTERAÇÕES NO PERFIL ESPERMÁTICO E CONSTITUIÇÃO HISTOLÓGICA DOS TESTÍCULOS DE COELHOS SOB INFLUÊNCIA DO AUMENTO TRANSITÓRIO DA TEMPERATURA TESTICULAR

João Flávio Panattoni MARTINS^{1,2}; Michele Andrade de BARROS³;
Marcos Alexandre IVO²; Priscila Carvalho de OLIVEIRA²;
Cristiano de Carvalho BALIEIRO²; Carlos Eduardo AMBRÓSIO²;
Maria Angélica MIGLINO⁴; Ana Flávia de CARVALHO²

¹ Coordenador do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEQB, São João da Boa Vista/SP.

² Professor do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEQB, São João da Boa Vista, SP.

³ Aluna do Curso de Medicina Veterinária da UNIFEQB, São João da Boa Vista/SP.

⁴ Professora Titular do Departamento de Cirurgia da FMVZ/USP, São Paulo/SP.

RESUMO: Este estudo foi conduzido para se investigar o perfil espermático de coelhos, avaliando-se concentração, motilidade, vigor e incidência de espermatozoides com alterações na compactação do material genético (patologias do complexo DNA-proteína), em condições normais e sob influência do aumento transitório da temperatura testicular. Foram utilizados oito coelhos férteis avaliando-se os parâmetros de 3 ejaculados em dias alternados e em seguida os animais foram submetidos ao aumento da temperatura testicular por 3 dias, coletando-se amostras de sêmen às segundas, quartas e sextas-feiras durante 38 dias para análise. A cada 5 dias um coelho sofreu orquiectomia para avaliação histológica de testículos e epidídimos.

PALAVRAS-CHAVE: coelhos, sêmen, espermatozoides, temperatura testicular

INTRODUÇÃO

O efeito da temperatura sobre a espermatogênese e as características dos espermatozoides dos mamíferos é a muito tempo assunto de interesse dos pesquisadores (AUSTIN et al., 1961; BARNABE, 1970; MUCCILOLO et al., 1974; RAO & RAO, 1990 e 1991; ZAKARIA et al., 1998; XU et al., 2000; MANN et al., 2002; YZAWA et al., 2003) É fato que a espermatogênese pode sofrer retardamento ou ser até completamente reduzida em resposta ao aumento da temperatura normal dos testículos, como acontece em animais criptóquios ou por influência do meio ambiente devido às

variações estacionais (PRABHAKAR, 1990; RAO & RAO, 1990 e 1991; ZAKARIA et al., 1998; XU et al., 2000). Alguns pesquisadores considerando a importância e frequência da degeneração testicular, procuram reproduzi-la experimentalmente para estudar as consequências e desenvolver maneiras mais eficazes e rápidas de se detectar a afecção e com isso evitar maiores perdas para os criadores (BARNABE, 1970; MUCCILOLO et al., 1974; PRABHAKAR, 1990; RAO & RAO, 1990; XU et al., 2000). Por outro lado, anomalias de compactação do material genético denominadas patologias do complexo

DNA-proteína (DNP), vêm sendo sugeridas como importante causa de subfertilidade em touros (BELETTI, 1992; BELETTI & MELLO, 1996) e outros mamíferos (BELETTI & MELLO, 1995; POTTS et al., 1999). O objetivo deste trabalho é investigar os parâmetros espermáticos de coelhos incluindo-se a incidência de DNP, em condições normais e sob influência do aumento transitório da temperatura testicular.

MATERIALE MÉTODOS

Foram utilizados oito coelhos híbridos comerciais férteis. Na 1ª etapa duas amostras de sêmen de cada animal foram coletadas em dias alternados, analisando-se motilidade, vigor, concentração e incidência de espermatozoides com patologias do complexo DNA-proteína (DNP), utilizando-se o método "metacromasia induzida" (MELLO, 1982) com o corante azul de toluidina em pH 4,0 e pH 5,0. Após a segunda coleta, os animais sofreram intervenção cirúrgica como método para se obter o aumento da temperatura testicular. A intervenção consistiu em deslocar os testículos e a bolsa escrotal através do anel inguinal para dentro da cavidade abdominal, em seguida fora transpassado percutâneamente ao redor do anel inguinal um fio de sutura de nylon, o qual fora tracionado e amarrado, impedindo a volta do escroto a posição normal. Após 3 dias os testículos foram liberados novamente a posição normal. Durante e após a aplicação destes métodos foram coletadas as amostras de sêmen às segundas, quartas e sextas-feiras, durante 38 dias e submetidas às mesmas análises da primeira etapa do experimento. A cada 5 dias um coelho sofreu orquiectomia para análise

histológica de testículos e epidídimos, sendo o primeiro logo após os 3 dias de retenção escrotal no abdômem e o último ao final do período de experimentação.

RESULTADOS

Os valores médios dos parâmetros analisados estão representados no gráfico. Observou-se que a motilidade começou a diminuir no 8º dia após a intervenção, de maneira lenta e progressiva, da mesma maneira o vigor e a concentração apresentaram decréscimo a partir do 3º dia, chegando todos os três valores a zero no 22º dia (quadro de azoospermia). A partir do 27º dia se inicia uma recuperação brusca do vigor e da motilidade e de maneira mais suave vem aumentando a concentração (GRÁFICO 1). As patologias morfológicas primárias e secundárias aumentaram logo após a alteração térmica testicular, atingindo maior índice no 27º e 17º dias respectivamente. A tendência à normalização começou a partir do 29º dia para ambas. Em relação à incidência de DNP, o aumento se deu a partir do 13º dia chegando ao limiar máximo no 28º dia e mostrando-se sem recuperação até o encerramento da pesquisa. Constatou-se através de regressão quadrática que os corantes azul de toluidina pH4,0 e pH 5,0 não diferem quanto à eficiência na coloração para diagnóstico de patologias do complexo DNA-proteína. A análise histopatológica revelou que logo após o aumento da temperatura testicular, o epitélio germinativo já apresentava processo degenerativo, com a presença de células gigantes multinucleadas. O epidídimo apresentou conteúdo também constituído de células anormais. Observou-se indícios de recuperação do

epitélio germinativo a partir do 18º dia, mas até o final do experimento não constatou-se a total recuperação.

CONCLUSÕES

O método praticado mostrou-se eficiente para a obtenção do aumento da temperatura testicular em coelhos.

Os corantes azul de toluidina pH4,0 e pH 5,0 não diferem quanto à eficiência na coloração para diagnóstico de patologias do complexo DNA-proteína.

Os parâmetros concentração e incidência de DNP apresentaram tendência de recuperação, sendo o número de coletas, insuficiente para a constatação da normalização total dos valores.

Os parâmetros vigor, motilidade e incidência de patologias morfológicas atingiram total recuperação ao final do experimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUSTIN, J.W.; HUPP, E.W. & MURPHREE, R.L. Effect of scrotal insulation on sêmen of hereford bulls. **J. Anim. Sci.**, v.20, n.2, p.307-10, 1961.

BARNABE, R.C. Degeneração testicular experimental em reprodutores da espécie suína. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v.8, n.2, p.499-507, 1970.

BELETTI, M.E. & MELLO, M.L.S. A methodological contribution to detection of abnormal DNA-protein complexes in bull spermatozoa. **Brazilian J. of Genetics**, v.19, n.1, p. 97-103, 1996.

MANN, S.L.; PATTON, W.C.; KING, A.; CHAN, P.J. Comparative genomic hybridization analysis of sperm DNA apoptosis after exposure to heat shock. **J. Assist. Reprod. Genet.**, v.19, n.4, p. 95-200, 2002

MELLO, M.L.S.; Induced metachromia in bull spermatozoa. **Histochemistry**, v.74, p.387-92, 1982.

MUCCILOLO, R.C.; BARNABE, R.C.; BARNABE, V.H. Variações no quadro espermático de carneiros submetidos à degeneração testicular experimental. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo**, v.11, p.155-77, 1974.

POTTS, R.J.; NOTARIANNI, L.J.; JEFFERIES, T.M. Extra-epididymal spermatozoa express nuclear abnormalities. **Int. J. Androl.**, v.22, n. 4, p.282-8, 1999.

RAO, K.B. & RAO, A.R. Effect of scrotal insulation on ejaculate characteristics in Ongole and crossbred bulls. **Indian Vet. J.**, v.67, n.7, p.627-30, 1990.

RAO, K.B. & RAO, A.R. Testicular degeneration in crossbred bulls. **Indian Vet. J.**, v.68, n.2, p.132-34, 1991.

XU, J.; XU, Z.; JIANG, Y.; QIAN, X.; HUANG, Y. Cryptorchidism induces mouse testicular germ cell apoptosis and changes in bcl-2 and bax protein expression. **J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.**, v.19, n. 1-2, p.25-33, 2000.

YAZAWA, T.; NAKAYAMA, Y.; FUJIMOTO, K.; MATSUDA, Y.; ABE, K.; KITANO, T.; ABÉ, S.; YAMAMOTO, T. Abnormal spermatogenesis at low temperatures in the Japanese red-bellied newt, *Cynops pyrrhogaster*: possible biological significance of the cessation of spermatocytogenesis. **Mol. Reprod. Dev.**, v.66, n. 1, p.60-6, 2003.

ZAKARIA, O.; SHONO, T.; IMAJIMA, T.; SUITA, S. Fertility and histological studies of the contralateral testes in two different intra- and extra-abdominal rat models of unilateral ptorchidism. **Br. J. Urol.**, v.82, n. 4, p.574-577, 1998.

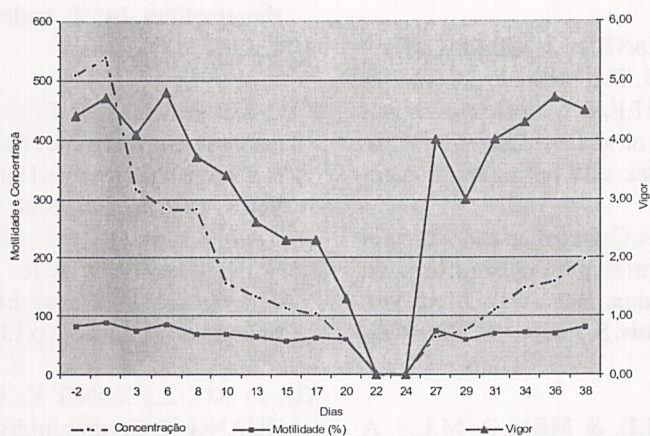


Figura 1. Variação dos valores médios de concentração, vigor e motilidade. Dia 0 corresponde ao dia em que os testículos dos animais foram liberados à posição normal, após 3 dias de aumento da temperatura testicular