

CITOLOGIA DO EPITÉLIO SEMINÍFERO DE CARNEIROS

Denise Pereira LEME

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça - SP

RESUMO

Foram realizados “imprints” do parênquima testicular de 15 carneiros adultos, após orquiectomia bilateral. Os “imprints” foram secos ao ar ambiente, coradas por Giemsa e avaliadas ao microscópio de luz (125x e 1250x). As lâminas foram analisadas para identificação, descrição e quantificação das células do epitélio seminífero, de acordo com suas características morfológicas. Na avaliação qualitativa, notou-se bastante semelhança entre as células de Sertoli e germinativas de carneiros em relação ao descrito nas outras espécies. A avaliação quantitativa indicou a porcentagem de cada tipo celular germinativo e das células de Sertoli/100 células germinativas. Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão: espermatogônias ($0,71\% \pm 0,76$), espermatócitos primários ($4,63\% \pm 1,51$), espermatócitos secundários ($0,33\% \pm 0,65$), espermátides iniciais ou redondas ($35,20\% \pm 7,22$), espermátides finais ou alongadas ($28,25\% \pm 4,70$), espermatozóides ($30,80\% \pm 6,06$) e células de Sertoli ($8,35\% \pm 7,65$). Com os resultados deste estudo, muitos avanços poderão surgir no estudo sobre a reprodução de carneiros, principalmente para a identificação da atividade espermatogênica anormal. Entretanto, futuros estudos deverão ser feitos para a obtenção das amostras testiculares de carneiros e suas consequências na vida reprodutiva do animal.

Palavras-chave: testículo, citologia, carneiros

SUMMARY

Testicular imprints from 15 rams' testes were performed after orchiectomy. The imprints were air dried, stained with Giemsa and analyzed by light microscopy (x125 and x1250). Different cell types from seminiferous epithelium were identified and quantified according to their morphologic characteristics. In qualitative evaluation, it was noticed that there were high similarity between germ cells and Sertoli cells from rams and other species. Qualitative evaluation showed the percentage of each cell type and Sertoli cell/ 100 germ cell ratio. The results were presented as a mean and standard deviation of mean: spermatogonia ($0,71\% \pm 0,76$), primary spermatocytes ($4,63\% \pm 1,51$), secondary spermatocytes ($0,33\% \pm 0,65$), early or round spermatids ($35,20\% \pm 7,22$), late or elongated ($28,25\% \pm 4,70$), spermatozoa ($30,80\% \pm 6,06$) and Sertoli cell/100 germ cell ($8,35\% \pm 7,65$). These results could be very important for further studies about rams reproduction, mainly for abnormal spermatogenic activity identification. However, further studies should be carried out for obtaining testicular samples from rams' testis without damaging their reproductive lives.

1. INTRODUÇÃO

A análise citológica na avaliação de machos inférteis é composta de dois procedimentos muito importantes: um completo exame do sêmen e a análise do testículo como órgão produtor de espermatozóides (Pàpic et al., 1988). Recentemente, a avaliação citológica de testículos na Medicina Veterinária (Leme e Papa, 1997, Leme e Papa, 2000) têm incentivado estudos sobre a identificação e quantificação das células do epitélio seminífero em exames citológicos, principalmente por ser mais uma alternativa na avaliação do macho de diferentes espécies. Um bom entendimento da espermatogênese, dos diferentes tipos celulares que constituem o epitélio seminífero e de que forma esses elementos celulares aparecem nos exames citológicos são essenciais para a interpretação de um exame citológico de testículo, com o objetivo de se verificar a atividade espermatogênica, independente da espécie. Com base nestes aspectos, o objetivo deste trabalho foi identificar, caracterizar e quantificar as células do epitélio seminífero de carneiros adultos, em amostras de testículos normais, para avaliação citológica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Quinze carneiros, adultos, foram submetidos à orquiectomia bilateral. Um testículo de cada animal foi aberto longitudinalmente, expondo o parênquima testicular, e sobre sua superfície realizou-se o "imprint" com lâminas histológicas. Após serem secas em ar ambiente, as lâminas foram coradas pelo método de Giemsa e posteriormente avaliadas ao microscópio de luz, sob aumentos de 125x e 1250x. As células foram identificadas e classificadas segundo Schenk e Schill (1988), Pàpic et al. (1988) e Leme (1997). Nos campos de maior celularidade, foram contadas 200 células consecutivas da linhagem espermatogênica. As células foram separadas em porcentagens de espermatogônias, espermatócitos primários, espermatócitos secundários, espermatídes iniciais (redondas), espermatídes finais (alongadas) e espermatozóides. As espermatogônias foram classificadas em um único grupo e as células de Leydig não foram identificadas. As células de Sertoli, interpostas às células da espermatogênese, foram contadas separadamente, e o resultado transformado em uma taxa de células de Sertoli:100 células germinativas. Os resultados para cada animal foram agrupados e apresentados como média e desvio padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as lâminas apresentaram material suficiente para a identificação e quantificação das células do epitélio germinativo, embora a maioria delas apresentassem grande quantidade de material sobreposto, o que dificultou, em parte, a interpretação dos "imprints". As seguintes células foram identificadas e descritas de acordo com suas respectivas características: **Espermatogônia:** embora os carneiros tenham, no mínimo cinco subtipos de espermatogônias, todas foram classificadas como um único tipo. São células de tamanho intermediário entre as células germinativas, possuem o núcleo oval ou arredondado, com a cromatina variando de fina e homogênea a densa e filamentosa. Algumas espermatogônias apresentam a cromatina disposta perifericamente em forma semilunar. Um ou mais nucléolos presentes podem aparecer bem corados. O citoplasma é basofílico e escasso, acompanhando o formato do núcleo. **Espermatócito Primário:** os espermatócitos primários apresentam uma estrutura nuclear bastante característica devido à disposição em forma de cordões da cromatina, tornando seu contorno bastante irregular. São geralmente as maiores células entre as células germinativas. Podem ser encontrados núcleos isolados ou danificados pela própria realização da técnica. O citoplasma é escasso e mais basofílico que nas espermatogônias. **Espermatócito Secundário:** raramente são encontradas em exames citológicos devido ao curto tempo desta fase da divisão meiótica. São menores que os espermatócitos primários e maiores que as espermatídes iniciais. O núcleo é redondo e centralizado com um padrão de cromatina fina uniformemente granular, que proporciona um contorno regular e suave do núcleo. O citoplasma é menos basofílico e podem conter pequenos vacúolos. **Espermátide Inicial (redonda):** possui o núcleo periférico arredondado, com a cromatina fina e granular, homogênea e mais clara, podendo apresentar pontos mais escuros de cromatina mais densa. À medida que tornam-se mais maduras, assumem formato triangular com regiões mais escuras de cromatina condensada. Uma região externa ao núcleo e não corada pode indicar a presença do acrossomo em formação. O citoplasma é menos basofílico com vacúolos de diferentes tamanhos. **Espermátide Final (alongada):** núcleo alongado fortemente corado, com restos citoplasmáticos aderido a uma de suas extremidades. Geralmente, aparecem em grupos numerosos. A região apical mais clara indica a presença do acrossomo, que nesta fase ainda não impede a coloração do núcleo bastante condensado. **Espermatozóides:** células alongadas isoladas ou em pequenos grupos menores que as espermatídes finais. Nesta fase, o acrossomo não permite uma boa coloração da cabeça do espermatozóide, deixando-os bem menos visíveis que as espermatídes finais. Por esse motivo, os espermatozóides podem ser confundidos com o fundo da lâmina, pois a cauda, já formada, também nem sempre é visível. **Células de Sertoli:** possuem o núcleo redondo ou oval, e em geral, estão isolados, por perderem o citoplasma durante a realização da técnica. Apresentam a cromatina finamente granular, que proporciona um contorno nuclear liso. Um nucléolo bem visível é bastante característico deste tipo celular. **Células em divisão:** podem ser vistas em diferentes fases (metáfase, anáfase e telófase). O processo de divisão dificulta a classificação destas células quanto ao tipo celular. **Arranjos Celulares:** os grupos com diversos tipos celulares são menos frequentes, mas facilitam a classificação das células testiculares por comparação.

A partir destes resultados, pode-se notar que as células de Sertoli e das células germinativas não apresentaram nenhuma particularidade quando comparadas com o descrito para outras espécies (Shenck e Schill, 1988, Pàpic et al., 1988, Leme e Papa, 1997, Leme e Papa, 2000); exceto em algumas espermatídes iniciais, que apresentavam pontos bastante escuros correspondentes à condensação da cromatina, em contraste com um fundo mais claro com distribuição mais homogênea.

A Tabela 1 mostra a média e o desvio padrão dos tipos celulares encontrados nos exames de “imprint” testicular em ovinos.

A relação crescente entre as células germinativas é característico de um processo de espermatogênese normal; entretanto ela é interrompida pelo baixo percentual de espermatócitos secundários. Este fato pode ser explicado pela curta vida destas células durante o processo de divisão meiótica, prejudicando a visualização deste tipo celular (Schenk & Schill, 1988). A partir de espermátides iniciais, as células germinativas sofrem alterações morfológicas que irão conferir a característica do gameta masculino, sem que haja divisões celulares, portanto é de se esperar que as porcentagens de espermátides iniciais, finais e espermatozóides sejam semelhantes, como foi observado neste estudo.

O reconhecimento das células do epitélio seminífero é um dos fatores mais importantes na avaliação da função do testículo como órgão produtor de espermatozóides (Foresta et al., 1992, Gottschalk-Sabag et al., 1996). Com os resultados deste estudo, pela identificação e quantificação das células do epitélio seminífero de carneiros, muitos avanços poderão ocorrer no estudo sobre a reprodução desta espécie, principalmente pela a identificação de problemas testiculares referentes à atividade espermatogênica. Entretanto, futuros estudos deverão ser feitos para a obtenção das amostras testiculares de carneiros e suas conseqüências na vida reprodutiva do animal.

Tabela 1: Média da porcentagem e desvio padrão dos valores das células germinativas e células de Sertoli encontrados em exames de “imprint” de testículos de carneiros.

Tipos celulares	Ovinos
Espermatogônias	0,71 ± 0,76
Espermatócitos primários	4,63 ± 1,51
Espermatócitos secundários	0,33 ± 0,65
spermátides iniciais	35,20 ± 7,22
Espermátides finais	28,25 ± 4,70
Espermatozóides	30,80 ± 6,06
Células de Sertoli: 100 células germinativas	8,35 ± 7,65

4. CONCLUSÕES

Foi possível identificar e quantificar as células do epitélio seminífero de carneiros pela técnica de “imprint” testicular .Os resultados poderão servir como base para futuros estudos sobre a avaliação da atividade espermatogênica de carneiros em exames de citologia testicular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FORESTA, C., VAROTTO, A., SCANDELLARI, C. **Assessment of testicular cytology by fine needle aspiration as a diagnostic parameter in the evaluation of the azoospermic subject.** Fertil. Steril., v.57, p.858-65, 1992.
- GOTTSCHALK-SABAG, S., WEISS, D. B., GLICK, T., SHERMAN, Y. **Assessment of testicular spermatozoa morphology by image analysis.** Eur. Urol., v.30, p.77-79,1996.
- LEME, D. P. Utilização da citologia aspirativa testicular como método de diagnóstico de auxiliar de infertilidade. JORNADA DE INTEGRAÇÃO DOS ALUNOS DE GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO EM REPRODUÇÃO ANIMAL, 1, Botucatu, 1997. Proceedings... Botucatu: Gráfica do Campus. p.175-87.
- LEME, D. P.; PAPA, F. O. **Identificação das células testiculares de cão através da punção aspirativa por agulha fina.** Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.21, p.67-68, 1997.
- LEME, D.P., PAPA, F.O. **Cytologic identification and quantification of testicular cell types using fine needle aspiration in horses.** Equine vet J, v.32, p.444-446, 2000.
- PAPIC', Z., KATONA, G., SKRABALO, Z. *The cytologic identification and quantification of testicular cell subtypes.* Acta Cytol., v.32, p. 697-706, 1988.

SCHENK, V., SCHILL, W. **Cytology of the human seminiferous epithelium**, Acta Cytol., v. 32, p.689-96,1988.