

AVALIAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE PELA CITOLOGIA ASPIRATIVA POR AGULHA FINA (CAAF) EM TESTÍCULOS DE CORDEIROS PRÉ-PÚBERES

Fernando José Delai PARDO

Eber Rogério ASSIS

Marcos Kunio MIYAZAWA

Luiz Humberto Alduini BORGES

Discentes do 4º ano da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – SP. FAMED/FAEF

Denise Pereira LEME

Docente da Fundação Municipal de Ensino Superior de Bragança Paulista, FESB - SP

RESUMO

Foram utilizados 15 cordeiros mestiços, inicialmente com quatro meses de idade para avaliação da espermatogênese e da consequência das punções testiculares no desenvolvimento testicular. O estudo foi realizado durante o aumento final do fotoperíodo (verão). Os animais foram divididos em três grupos; GI: testículo puncionado nas semanas cinco, três e uma e no dia do abate; GII: testículo puncionado no dia do abate; GC: controle. Os animais foram pesados e a circunferência escrotal (CE) medida nas semanas antes e no dia do abate. Não houve diferenças significativas no peso e CE dos animais ao longo das semanas observadas. Também não houve diferenças significativas no peso e CE entre os grupos, exceto entre GI e GC, na semana três antes do abate, quando a CE foi significativamente diferente ($P= 0,046$). Havia somente espermatogônias e espermatócitos primários em três animais do GI, na semana cinco; progredindo em um animal na semana três e no outro, na semana antes do abate. No dia do abate, todos os cordeiros do GI e GII apresentavam espermatogênese completa. As punções testiculares não interferiram no desenvolvimento testicular do GI.

PALAVRAS-CHAVE: testículo, citologia, carneiros, espermatogênese

ABSTRACT

Fifteen four-month mixed breed lambs were used for evaluating spermatogenesis and consequences of testicular punctures over normal testicular development. The study was carried out during final phase of photoperiod increasing (summer). Lambs were divided into three groups; GI: testicular puncture at five, three and one week before and in the slaughtering day; GII: testicular puncture in the slaughtering day; GC: control. There were no differences in weight and scrotal circumference (CE) along the five weeks. There were also no differences in weight and scrotal circumference (CE) between groups, except for CE in GI and GC in the week three before slaughtering, where CE was significantly different ($P=0,046$). Spermatogenesis was only with spermatogonia and primary spermatocytes in three GI lambs; progressing in one lamb in the next week and in another in the last week. In the slaughtering day, all GI and GII lambs presented complete spermatogenesis. Testicular punctures were not deleterious for normal testicular development.

KEY WORDS: testicle, cytology, lambs, spermatogenesis

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o rebanho ovino brasileiro conta com aproximadamente 18 milhões de animais (Lima, 1999); portanto é fundamental buscar implementar ações que objetivem a uma melhor compreensão das características dos ovinos, sempre priorizando a demanda de mercado. Dentre estas ações está a aplicação de técnicas que visam conhecer melhor a fisiologia reprodutiva destes animais nas diferentes condições que podem ser criados no Brasil.

A análise citológica na avaliação de machos pode ser realizada por um completo exame do sêmen e análise da espermatogênese pelos testículos, com técnicas que permitem a obtenção do material diretamente do testículo, sem que haja necessidade do sêmen, como punções e biópsias testiculares (Pàpic et al., 1988). Tais técnicas são de grande valia quando não há amostras de sêmen ou quando a avaliação do sêmen não foi conclusiva (Gottshalck-Sabag et al, 1996). Entretanto, a citologia aspirativa por agulha fina (caaf) é preferida entre as técnicas invasivas, pois tem se mostrado mais simples, barata e de grande contribuição tanto na obtenção dos resultados como na diminuição de seqüelas indesejáveis (Foresta et al, 1992; Leme e Papa, 2000).

Os objetivos deste estudo foram verificar a possibilidade de utilização do exame de citologia aspirativa por agulha fina (Caaf) em testículos na avaliação da espermatogênese em cordeiros pré-púberes; avaliar a evolução da espermatogênese de cordeiros pré-púberes a um mês do solstício de verão e verificar a ocorrência de efeitos deletérios da punção testicular repetida no desenvolvimento testicular de cordeiros pré-púberes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 cordeiros, mestiços Santa Inês e Ile de France, sob regime de pastagem, mantidos no mesmo lote e condições de manejo durante toda avaliação. O estudo iniciou-se quando os animais tinham em média quatro meses de idade, durante o aumento final do fotoperíodo, próximo ao solstício de verão, com abate em 16 de dezembro de 2003.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos; GI: testículo direito puncionado nas semanas cinco, três, uma e imediatamente antes do abate; GII: testículo direito puncionado imediatamente antes do abate; GC: controle. Todos os animais foram pesados (Kg) e tiveram a circunferência escrotal (CE) medida em centímetros nas cinco semanas e no momento imediatamente antes do abate. Com o material das punções, foram confeccionados esfregaços em lâminas histológicas. Após serem secas em ar ambiente, as lâminas foram coradas pelo método de Panótico e posteriormente avaliadas ao microscópio de luz, sob aumentos de 125x e 1250x. As lâminas foram avaliadas quanto à presença dos diferentes tipos de células germinativas, caracterizando ou não espermatogênese completa pela presença de espermatozóides. As células foram identificadas e classificadas segundo Leme (2000). Os resultados para cada animal foram agrupados e apresentados como média e desvio padrão. A análise dos dados foi realizada pela análise de variância apropriada para a comparação entre os dados do mesmo grupo e entre os grupos. Diferenças foram consideradas significativas para $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das lâminas apresentou material suficiente para a identificação das células germinativas, porém foi algumas vezes inadequado para quantificação das células do epitélio germinativo, em parte pela presença de sangue ou coagulação do material.

Não houve diferenças significativas para os valores dos pesos e das CE de todos os animais ao longo das cinco semanas que antecederam ao abate (Tabelas 1 e 2).

Também não houve diferenças significativas para o peso e para CE entre os três grupos nos momentos avaliados, exceto entre GI e GC, na semana três antes do abate, quando a CE foi significativamente diferente ($P = 0,046$) (Tabelas 1 e 2).

A espermatogênese apresentava-se apenas com espermatogônia e espermatócito primário em três animais do GI, na semana cinco, evoluindo em um animal na semana três e no último animal do grupo, na semana antes do abate (Tabela 3). No dia do abate, todos os cordeiros do GI e GII apresentavam espermatogênese completa (Tabela 3).

As punções testiculares não interferiram no desenvolvimento testicular do GI como observado pela comparação entre os grupos no dia do abate (Tabela 2).

Tabela 1: Peso (Kg) de cordeiros pré-púberes submetidos à citologia aspirativa por

Grupos	Semanas Antes do Abate					
	5	4	3	2	1	0
GI	17,7 ± 2,51	19,2 ± 2,80	18,3 ± 2,77	19,6 ± 3,19	20,2 ± 3,03	19,4 ± 2,70
GII	18,4 ± 2,30	19,1 ± 2,10	19,3 ± 3,07	20,2 ± 1,68	20,9 ± 2,51	17,8 ± 1,92
GC	21,15 ± 1,60	22 ± 0,00	20,5 ± 0,70	19,75 ± 1,10	23,3	21 ± 1,40

agulha fina (caaf) em testículos, nas cinco semanas que antecederam ao abate.

Tabela 2: Circunferência Escrotal (cm) de cordeiros pré-púberes submetidos à

Grupos	Semanas Antes do Abate					
	5	4	3	2	1	0
GI	18,1 ± 2,75	18,44 ± 2,64	18,24 ^a ± 2,27	19,08 ± 2,05	19,3 ± 2,11	20,24 ± 2,11
GII	17,86 ± 1,82	18,75 ± 1,34	19,35 ± 1,02	18,85 ± 1,45	18,55 ± 1,32	20,55 ± 1,44
GC	18,05 ± 0,64	18,75 ± 0,49	19,35 ^b ± 0,07	18,85 ± 0,49	18,55 ± 0,64	20,25 ± 0,35

citologia aspirativa por agulha fina (caaf) em testículos, nas cinco semanas que antecederam ao abate.

As letras a e b indicam valores que diferiram significativamente ($P < 0,05$)

Tabela 3: Número de cordeiros pré-púberes com presença de apenas células

Grupo	Semanas Antes do Abate							
	5		3		1		0	
	CP	EC	CP	EC	CP	EC	CP	EC
GI	3	2	1	4	1	4	0	5
GII	0	5

primordiais (CP) e espermatogênese completa (EC) avaliados por citologia aspirativa por agulha fina (caaf) em testículos.

A caaf tem sido utilizada em humanos e mais recentemente em na medicina Veterinária para a diferenciação entre as causas de diminuição na produção espermática (Leme e Papa, 2000). Entretanto, em gatos domésticos foi possível acompanhar o aparecimento de espermatozoides nos testículos, bem como no epidídimo, antes de se poder obter um ejaculado, ou seja, antes da puberdade (Visacre et al, 2003). Neste estudo, a caaf testicular também foi um instrumento de avaliação do início da puberdade em cordeiros pré-púberes. Tais cordeiros iniciaram a puberdade no momento do ano quando a intensidade de luz atingia seu ponto mais alto, dias antes do solstício de verão, contradizendo a dependência ao fotoperíodo curto para o início das atividades reprodutivas, mas confirmando a adaptabilidade das raças, principalmente as mestiças com origem equatorial, às condições climáticas dos trópicos (Jainudeen e Hafez, 2004). Podemos confirmar também, que em condições tropicais, o início da puberdade de determinadas raças estão mais ligadas ao peso (16 a 20 Kg), do que à idade ou época do ano (Jainudeen e Hafez, 2004).

4. CONCLUSÕES

Neste estudo foi possível utilizar a Caaf testicular como meio de avaliação da espermatogênese em cordeiros pré-púberes, bem como verificar a ocorrência de desenvolvimento da espermatogênese próxima ao solstício de verão, em cordeiro mestiços Santa Inês e Ille de France, criados em condições tropicais. A realização de repetidas punções testiculares não afetou o desenvolvimento dos testículos de cordeiros pré-púberes durante a puberdade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- 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.

- 2- GOTTSCHALK-SABAG, S., WEISS, D. B., GLICK, T., et al Assessment of testicular spermatozoa morphology by image analysis. *Eur. Urol.*, v.30, p.77-79,1996.
- 3- JAINUDENN, MR, HAFEES, ESE. Ovinos e caprinos. In: Hafez, ESE e Hafez, B. *Reprodução Animal*. 7Ed, Manole, São Paulo, 2004, p.173-182 .
- 4- LEME, DP. Citologia do epitélio seminífero de carneiros. In: IV MOSTRA CIENTÍFICA DA FMVZ - UNESP - BOTUCATU, 2000, Botucatu.
- 5- 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.
- 6- LIMA, H. D. F. Produção ovina no Brasil: situação e perspectivas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.23, n.2, p.145, 1999.
- 7- PAPIC', Z., KATONA, G., SKRABALO, Z. The cytologic identification and quantification of testicular cell subtypes. *Acta Cytol.*, v.32, p. 697-706, 1988.
- 8- SCHENK, V., SCHILL, W. Cytology of the human seminiferous epithelium, *Acta Cytol.*, v. 32, p.689-96,1988.
- 9- VISACRE, E., LOPES, MD. LEME, DP. Citologia do epitélio seminífero do gato doméstico pela técnica de citologia aspirativa por agulha fina (Caaf) testicular. In: CONGRESSO DE INTEGRAÇÃO EM BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO, 2003, TecArt.