

Morfometria dos túbulos seminíferos e ductos epididimários de cães e gatos provenientes de cirurgia de castração

**Patrícia Hoshino
Laura Satiko Okada Nakaghi*
Maria Rita Pacheco
Jeffrey Frederico Lui
Euclides Braga Malheiros**

* Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP
Campus de Jaboticabal. Rodovia Paulo Donato Castellane, s/n. CEP 14884-900.
Jaboticabal – São Paulo.
e-mail: laurankg@fcav.unesp.br

Aceito para publicação em 27/02/2002

Resumo

Esta pesquisa teve como objetivo a avaliação morfométrica e comparativa de testículos e epidídimos entre as espécies canina e felina em diferentes idades provenientes de cirurgias de castração, processados histologicamente e incluídos em parafina. As lâminas coradas em HE foram analisadas morfometricamente em Microscópio acoplado ao sistema analisador de imagem da Kontron Elektronik – Videoplan Zeiss. Foram medidas 30 secções transversais de túbulos seminíferos e ductos epididimários para cada testículo e epidídimo, respectivamente, e analisados os parâmetros de diâmetro máximo e mínimo, área e altura do epitélio. Os resultados mostraram que os animais adultos apresentam as maiores medidas, tanto nos túbulos seminíferos

como nos ductos epididimários, onde sempre as medidas dos cães se mostraram maiores do que a dos gatos. A cinética da espermatogênese em túbulos seminíferos e ductos epididimários em cães ocorre em função de um processo fisiológico da maturação. Em gatos esta cinética espermatogênica também ocorre, porém somente a técnica de morfometria não mostrou ser um método indicado, devendo-se considerar também a avaliação morfológica.

Unitermos: Morfometria, testículos, epidídimos, cães, gatos.

Summary

This study reports on a morphometric and comparative evaluation carried out between canine and feline species and among different age groups. Testes and epididymides were obtained surgically and were processed for histology. HE-stained slides were analyzed morphometrically on a microscope coupled to an image analyzer system (Kontron Elektronik – Videoplan Zeiss). Transversal sections of seminiferous tubulus and epididymal ducts of each testis and epididymis were measured respectively for the maximum and minimum diameter, area and height of the epithelium. Results show that adult animals had the highest measures in both the seminiferous tubules and in the epididymal ducts, the dogs' measures being always higher than those of the cats. The spermatogenic kinetic in seminiferous tubules and epididymal ducts in dogs occurs as a consequence of a physiological process of maturation. This spermatogenic kinetic also occurs in cats, but the morphometric technique alone does not prove to be an adequate method, being necessary also to carry out the morphological evaluation.

Key words: Morphometry, testis, epididymis, dog, cat.

Introdução

Alguns estudos foram realizados sobre morfometria dos túbulos seminíferos e ductos epididimários, em cães e gatos. Paula e Cardoso (1994) correlacionaram o diâmetro testicular ultrasonográfico de cães, com o peso testicular; Kawakami et al. (1991) fizeram análises histológicas nos órgãos reprodutivos de cães desde o nascimento à maturidade sexual e Eilts et al. (1993) apresentaram a relação do estudo de medidas de ultra-som de testículos, com o peso do animal. A análise histométrica e alterações etárias na espermatogênese do cão foram analisados por Paula e Cardoso (1994) e Schimming et al. (1997).

Em gatos, Elcock e Schoning (1984) relacionaram mudanças no epidídimo como o espessamento da túnica adventícia do testículo, hiperplasia das células intersticiais, degeneração e espessamento da membrana basal dos túbulos seminíferos em função das idades de 0,5 a 7 anos (5 animais) e acima de 7 anos (7 animais). Kirkpatrick (1985) mostrou o coeficiente de correlação ($r = 0,929$, $P < 0,05$) entre o peso testicular estacional e concentrações de testosterona plasmática, além da taxa de "clearance" de testosterona indicando nenhuma diferença significativa durante os quatro meses estudados. França e Godinho (2000) realizaram em nove gatos maduros a histometria testicular, ciclo do epitélio seminífero e produção espermática diária em gatos sexualmente maduros. Estudos ultra-estruturais do epidídimo foram realizados por Viotto et al. (1996) correlacionando o epitélio do epidídimo de gatos às características ultra-estruturais de diferentes tipos de células, em diferentes regiões anatômicas com funções descritas ao epidídimo.

Foram coletados testículos e epidídimos de cães e gatos provenientes da castração do Programa de Controle de Natalidade firmado com a Prefeitura Municipal de Jaboticabal e o "Instituto de Reprodução e Obstetrícia de Cães e Gatos Prof^º Vicente Borelli" na FCAV – Campus de Jaboticabal. Objetivou-

se proceder a análise morfométrica e morfológica dos túbulos seminíferos e dos ductos epididimários, analisando-se o diâmetro máximo, mínimo, a área e altura do epitélio e comparando-se entre cães e gatos e entre as idades, para descrever e compreender o desenvolvimento reprodutivo destes animais.

Material e Métodos

Após a castração, testículos e epidídimos de cães e gatos foram removidos e dissecados, em seguida, aproximadamente na região média de cada órgão, foram seccionados e cada porção foi fixada em solução de Bouin, por 24 horas, para, posteriormente, serem processados na rotina de inclusão em parafina. A seguir, fez-se a microtomia semi-seriada a uma espessura de 5 µm, corou-se pelas técnicas de HE, observou-se e selecionou-se ao microscópio de luz. Os melhores cortes foram fotografados em fotomicroscópio AXIOSKOP – ZEISS. Em seguida analisou-se morfometricamente em microscópio binocular a um aumento de 10x, acoplado ao sistema analisador de imagem da Kontron Elektronik – Videoplan, ambos da Carl Zeiss, no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV – UNESP.

Os cães foram divididos em três grupos de cinco animais: Grupo 1 (G1) jovens, com até 1 ano de idade; Grupo 2 (G2) adulto, entre 1 e 5 anos e Grupo 3 (G3) adulto, com mais de 5 anos. Os felinos foram divididos em dois grupos: Grupo 4 (G4) com 19 felinos jovens com até 1 ano de idade e Grupo 5 (G5) com 16 felinos adultos entre 1 e 5 anos de idade. Em função da grande demanda de cirurgias de castração em felinos pela população, houve maior coleta de jovens desta espécie.

Mediram-se 30 secções transversais, com contornos o mais circular possível, de túbulos seminíferos e ductos epididimários para cada testículo e epidídimo, respectivamente, analisando os

seguintes parâmetros: diâmetro máximo e mínimo, área e altura do epitélio.

Resultados e Discussão

A análise morfológica do testículo de cães mostrou que os túbulos seminíferos são formados por três compartimentos, (i) o intersticial, que circunda os túbulos e contém tecido conjuntivo com vários tipos celulares, incluindo as células intersticiais ou de Leydig, (ii) o basal, dentro dos túbulos, entre a membrana basal e os complexos juncionais das células de sustentação ou de Sertoli, que contém estas células e as espermatogônias, e (iii) o luminal que corresponde à parte central do túbulo, contém os processos citoplasmáticos internos das células de sustentação e demais células espermatogênicas do epitélio de revestimento (Figura 1a), conforme o observado por Banks (1992). Nos felinos as células intersticiais são mais abundantes e praticamente preenchem os espaços intertubulares (Figura 1c). Tal observação também foi relatada por Ettinger (1992) e Banks (1992).

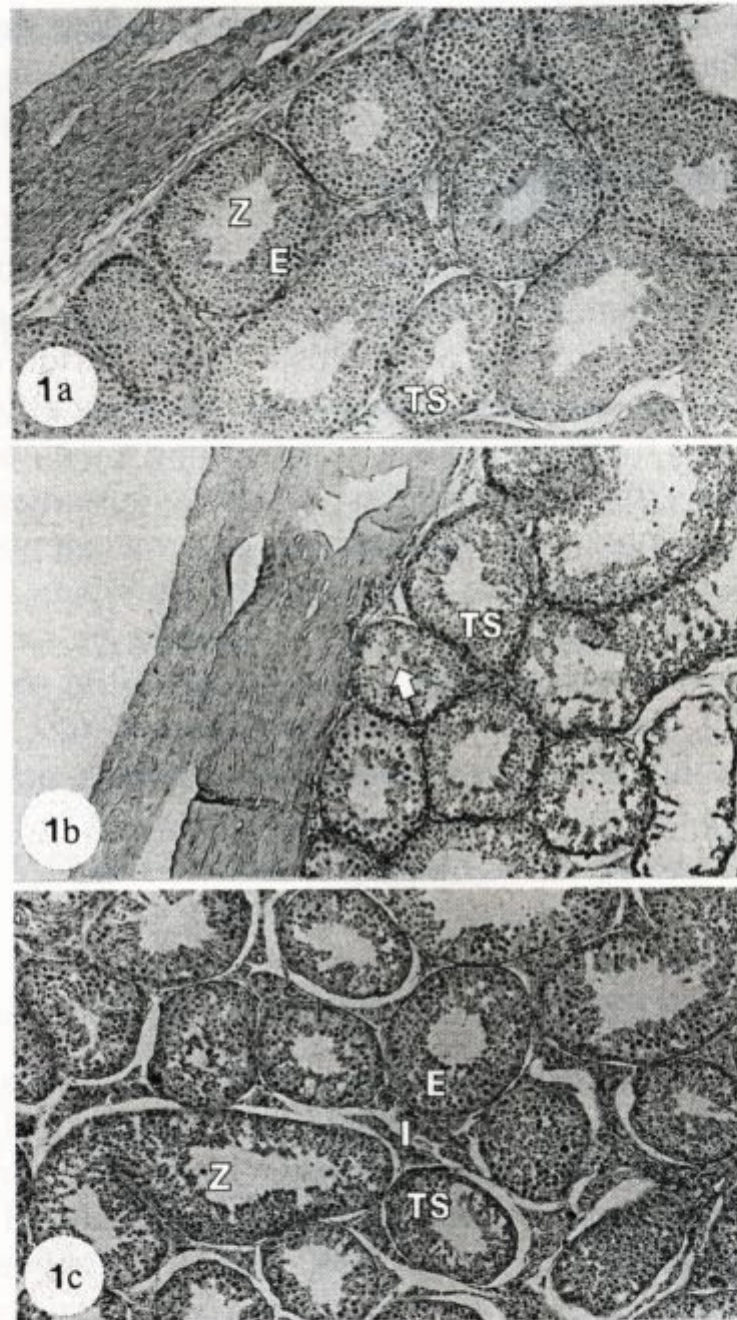


FIGURA 1 – Fotomicrografia de testículos.

- 1a – Cão adulto. Túbulos seminíferos (TS) com seu epitélio germinativo (E) e espermatozóides na luz tubular (Z). A=77,4X Col. HE.
- 1b – Cão adulto com mais de 5 anos, evidenciando túbulos seminíferos (TS). A seta na figura 1b mostra a degeneração das células germinativas. A=77,4X Col. HE.
- 1c – Gato adulto, mostrando túbulos seminíferos (TS), epitélio (E) dos túbulos e o interstício com suas células (I). A=77,4X Col. HE.

O epidídimo dos gatos mostra-se revestido por um epitélio colunar pseudoestratificado, constituído predominantemente de células basais redondas contendo lipídios e células prismáticas longas e finas onde podem ser observados grandes vacúolos (Figura 2c) ou cistos intraepiteliais em animais com 16 semanas de vida. Estes cistos incomuns estão de acordo com as observações de Elcock e Schoning (1984). Estas células prismáticas com longos microvilos ramificados (estereocílios) (Figura 2b) projetam-se para a luz do ducto e foram descritas também por Ham (1972). Segundo Dellmann e Brown (1982) e Banks (1992) esses processos são imóveis e servem para aumentar a superfície absorptiva e/ou secretora do revestimento. As células apóiam-se sobre uma lâmina basal envolta por fibras musculares lisas e um tecido conjuntivo frouxo, rico em capilares sanguíneos e linfáticos (Figura 2a).

As tabelas 1, 2, 3 e 4 mostram os resultados estatísticos encontrados na análise morfométrica dos túbulos seminíferos e ductos epididimários de cães e gatos.

Analisando os túbulos seminíferos na tabela 1, foi observado um aumento significativo de 5% na altura do epitélio dos cães adultos. Assim como Paula e Cardoso (1994), verificou-se também médias com os maiores valores nos cães adultos. Segundo Swenson (1988) por ocasião da maturação sexual, a mitose assegura o aumento de grande número de células germinativas, durante a espermatogênese. Este aumento significativo na altura do epitélio pode ser em função da grande variação no tamanho dos testículos, e de raças utilizadas neste trabalho. Assim como o observado por Kumi-Diaka e Adeyanju (1986), o aumento gradual do diâmetro tubular é um processo fisiológico da maturação do testículo e epidídimo.

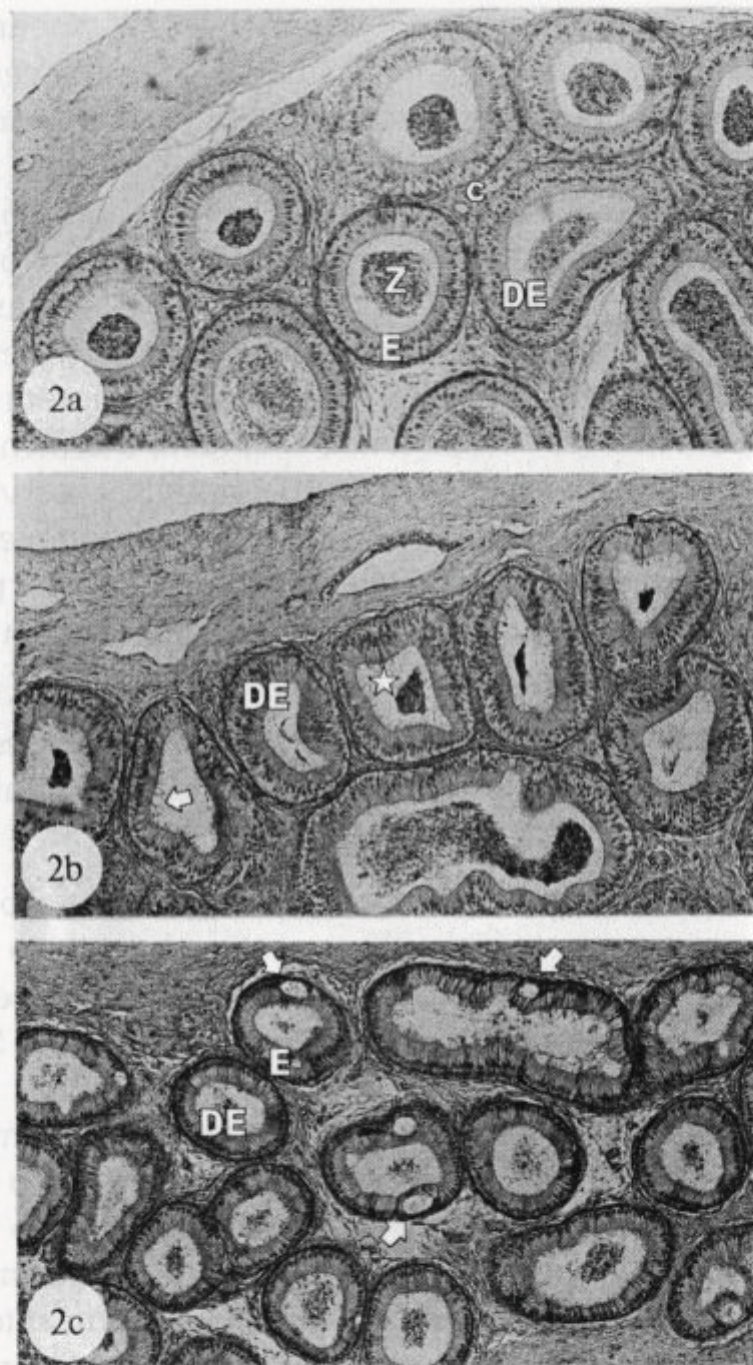


FIGURA 2 – Fotomicrografia de epidídimos.

- 2a – Cão adulto. Ductos epididimários (DE) com seus epitélios (E), espermatozoides (Z) e tecido conjuntivo rico em capilares sanguíneos (c). A=77,4X Col. HE.
- 2b – Cão adulto com mais de 5 anos, mostrando ductos epididimários (DE). A estrela (*) mostra, um lúmen com aparência estrelada e a ponta da seta, os estereocílios. A=77,4X Col. HE.
- 2c – Gato com 16 semanas de vida, mostrando ductos epididimários (DE), onde as pontas das setas mostram a presença de cistos intraepiteliais no epitélio (E). A=77,4X Col. HE.

TABELA 1 – Dados estatísticos da área tubular (μm^2), diâmetro máximo (μm) e mínimo (μm) e altura do epitélio (μm) dos túbulos seminíferos de cães em idade jovem, adulto e com mais de 5 anos, provenientes de castração. Jaboticabal (SP), 2000.

Estatísticas	Área do Túbulo	Diâmetro Máximo	Diâmetro Mínimo	Altura do Epitélio
F para tratamento	2,36	2,60	1,65	3,50
(G1 + G2 + G3) x (G4 + G5)	0,01 ^{NS}	0,00 ^{NS}	0,03 ^{NS}	3,02 ^{NS}
(G1 + G2) x G3	1,96 ^{NS}	3,04 ^{NS}	0,86 ^{NS}	1,70 ^{NS}
G1 x G2	1,84 ^{NS}	1,08 ^{NS}	1,21 ^{NS}	6,76*
Coefficiente de Variação	20,01	9,98	10,93	10,68
Médias G1	27.176,46	220,27	161,42	52,76
Médias G2	32.326,11	235,71	174,69	62,89
Médias G3	25.325,26	206,42	158,73	53,59

Nos gatos, verificamos diferenças significativas a 5% comparando as médias de área, diâmetro máximo e mínimo dos túbulos seminíferos entre jovens e adultos, menos para a altura do epitélio (Tabela 2). Notamos que durante a puberdade ocorre o crescimento ativo do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos e desenvolvimento de uma luz tubular, como podemos observar na Figura 1c. França e Godinho (2000) encontraram na espécie felina um diâmetro tubular médio de 220 μm , e uma eficiência testicular intermediária que foi atribuída ao alto percentual de túbulos seminíferos encontrados e a duração relativamente curta de cada ciclo espermatogênico (10,4 dias).

TABELA 2 – Dados estatísticos da área tubular (μm^2), diâmetro máximo (μm) e mínimo (μm) e altura do epitélio (μm) dos túbulos seminíferos de gatos em idade jovem e adulto, provenientes de castração. Jaboticabal (SP), 2000.

Estadísticas	Área do Túbulo	Diâmetro Máximo	Diâmetro Mínimo	Altura do Epitélio
F para tratamento	2,36	2,60	1,65	3,50
(G1 + G2 + G3) x (G4 + G5)	0,01 ^{NS}	0,00 ^{NS}	0,03 ^{NS}	3,02 ^{NS}
G4 x G5	5,38*	5,97*	4,37*	1,69 ^{NS}
Coefficiente de Variação	20,01	9,98	10,93	10,68
Médias G4	25.604,47	210,99	156,72	51,66
Médias G5	30.581,37	231,48	170,98	54,52

Nos animais com mais de 5 anos estudados, as médias de todos os parâmetros analisados nos túbulos seminíferos foram inferiores a dos adultos e houve aumento de células espermatogênicas degeneradas (Figura 1b). Fato também relatado por Paula e Cardoso (1994) em cães, que concluíram ser devido ao aumento de tecido conjuntivo intratesticular e falha na maturação de muitas células espermatogênicas. Elcock e Schoning (1984) verificaram a degeneração de células espermatogênicas, em gatos entre 0,5 e 1 ano de idade e atribuiu-se a causas nutricionais, em função de um desbalanço proteico.

Portanto observou-se que os cães possuem, maiores valores médios de diâmetro máximo e mínimo, área tubular e altura do epitélio quando comparados com os gatos. Estas evidências podem ser atribuídas ao porte heterogêneo dos cães e homogêneo dos gatos independentemente da raça, nesta espécie felina.

As tabelas 3 e 4 evidenciam que para os ductos epididimários houve aumento significativo para todos os parâmetros (1%), nos

cães em geral, e a causa se deve, provavelmente, à grande heterogeneidade destes em relação aos gatos. Também a medida de área dos ductos epididimários tende a ser significativamente maior nos cães adultos do que nos jovens (5 %). Comparando os valores medidos em área, diâmetro máximo e mínimo, e altura do epitélio dos ductos, verificamos os maiores valores em cães e estes aumentam com a idade até o adulto (Figuras 2a, 2b). O aumento destes parâmetros pode ser explicado com base nos relatos de Swenson (1988), quando observou que o desenvolvimento epitelial, com o avançar da idade do animal, se faz importante para a maturação e armazenamento dos espermatozoides, que são produzidos continuamente, o que obviamente aumenta os demais parâmetros (área, diâmetro máximo e mínimo). Observou-se ainda, na espécie canina, alguns ductos de epitélio irregular, lúmen com aparência estrelada e estereocílios irregulares (Figura 2b) conforme descrito por Schimming et al. (1997).

TABELA 3 – Dados estatísticos da área tubular (μm^2), diâmetro máximo (μm) e mínimo (μm) e altura do epitélio (μm) dos ductos epididimários de cães em idade jovem, adulto e com mais de 5 anos, provenientes de castração. Jaboticabal (SP), 2000.

Estatísticas	Área do Ducto	Diâmetro Máximo	Diâmetro Mínimo	Altura do Epitélio
F para tratamento	18,98	17,97	15,10	4,15
(G1 + G2 + G3) x (G4 + G5)	70,57**	67,21**	54,99**	13,83**
(G1 + G2) x G3	1,08 ^{NS}	0,73 ^{NS}	0,79 ^{NS}	0,51 ^{NS}
G1 x G2	3,91*	3,31 ^{NS}	3,50 ^{NS}	2,20 ^{NS}
Coeficiente de Variação	25,52	13,04	13,54	20,20
Médias G1	33.284,70	237,43	175,63	38,55
Médias G2	42.152,82	270,46	202,24	45,96
Médias G3	41.605,98	266,88	199,44	45,22

TABELA 4 – Dados estatísticos da área tubular (μm^2), diâmetro máximo (μm) e mínimo (μm) e altura do epitélio (μm) dos ductos epididimários de gatos em idade jovem e adulto, provenientes de castração. Jaboticabal (SP), 2000.

Estadísticas	Área do Ducto	Diâmetro Máximo	Diâmetro Mínimo	Altura do Epitélio
F para tratamento	18,98	17,97	15,10	4,15
(G1 + G2 + G3) x (G4 + G5)	70,57**	67,21**	54,99**	13,83**
G4 x G5	0,75 ^{NS}	0,95 ^{NS}	1,38 ^{NS}	0,28 ^{NS}
Coefficiente de Variação	25,52	13,04	13,54	20,20
Médias G4	20.096,55	182,93	138,04	33,73
Médias G5	22.082,33	191,99	146,58	35,08

Como conclusão, podemos observar que:

- A análise morfométrica dos testículos e epidídimos permitiu demonstrar a cinética da espermatogênese em cães.
- Face à pequena modificação da altura do epitélio dos túbulos seminíferos e dos ductos epididimários em gatos, somente a técnica morfométrica não foi um método indicado para traçar um perfil da espermatogênese nesta espécie, devendo-se considerar também a avaliação morfológica.

Agradecimentos

Às Médicas Veterinárias Carla Marconato, Carla Braga Martins e Flávia Rato, do Instituto de Reprodução e Obstetrícia de Cães e Gatos, ao histotécnico Orandi Mateus e ao Prof. Dr.

Célio Raimundo Machado do Depto. de Morfologia da FCAV – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, pela colaboração neste trabalho.

Referências bibliográficas

Banks, W. J. 1992. Sistema Reprodutor Masculino SRM. In: Banks, W.J. (ed.) **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. Ed. Manole Ltda.: São Paulo, p. 546-559.

Dellmann, H. D.; Brown, E. M. 1982. O Sistema Reprodutor Masculino SRM. In: Dellmann H. D. & Wrobel, K. H. eds. **Histologia Veterinaria**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 233-242.

Eilts, B. E.; Williams, D. B.; Moser, E. B. 1993. Ultrasonic measurement of canine testes. **Theriogenology**, **40** : 819-828.

Elcock, L. H.; Schoning, P. 1984. Age-related changes in the cat testis and epididymis. **American Journal Veterinary Research**, **45** (11): 2380-2384.

Ettinger, S. J. 1992. Fisiologia Reprodutiva e Endocrinologia da Fêmea e do Macho. In: Shille, V. M. (ed.). **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3. ed. Guanabara, São Paulo. v. 3, p.1859-1870.

França, L. R.; Godinho, C. L. 2000. Histometria testicular, ciclo do epitélio seminífero e produção espermática diária em gatos (*Felis domestica*) sexualmente maduros. **Brazilian Journal Morphology Science**, **17** (supl.): 169.

Ham, A. W. 1972. O Sistema Reprodutor Masculino SRM. In: Ham, A. W.(ed.) **Histologia**. 6. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 898-916.

Kawakami, E.; Tsutsui, T.; Ogasa, A. 1991. Histological observations of the reproductive organs o the male dog from birth to sexual maturity. **Journal of Veterinary Medical Science**, **53** (2): 241-248.

Kirkpatrick, J. F. 1985. Seasonal testosterone levels, testosterone clearance, and testicular weights in male domestic cats. **Canadian Journal of Zoology**, **63** (6): 1285-1287.

Kumi-Diaka, J.; Adeyanju, J. B. 1986. Histological assessment of puberty in dogs in the Zaria area of Northern Nigeria. **Research in Veterinary Science**, **40**: 281-284.

Paula, T. A. R.; Cardoso, F. M. 1994. Alterações etárias a espermatogênese do cão. I. Análise histométrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, **46** (1): 19-30.

Schimming, B. C.; Vicentini, C. A.; Orsi, A. M.; Franceschini-Vicentini, I. B.; Abreu-Rays, M. A. 1997. Regional histology of the ductus epididymidis in the dog (*Canis familiaris*, L.). **Revista Chilena de Anatomía**, **15** (1): 5-12.

Swenson, M. J. 1988. Processos Reprodutivos no Macho PRM. In: Stabenfeld, G. H. & Edqvist, L. (eds.). **Dukes / Fisiologia dos Animais Domésticos**. 10. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 719-730.

Viotto, M. J. S.; Orsi, A. M.; Gregório, E. A. 1996. Ultrastructural characteristics of epididymal epithelium of the cat (*Felis domestica*, L.). **Brazilian Journal Morphology**, **13** (1): 51-58.