

A microscopic image showing numerous spermatozoa, which are small, tadpole-shaped cells with long tails, swimming in a fluid medium. The heads are oval and slightly refractile, while the tails are long and thin. The background is dark, making the light-colored spermatozoa stand out.

ANDROLOGIA VETERINÁRIA BÁSICA

Autores: Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri
Editora CAED - UFMG
Universidade Federal de Minas Gerais

Universidade Federal de Minas Gerais

ANDROLOGIA

VETERINÁRIA BÁSICA



**CURSO DE ANDROLOGIA
VETERINÁRIA BÁSICA**

Belo Horizonte
Centro de Apoio à
Educação a Distância
CAED-UFGM
2013

Elaboração, distribuição e informações:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR

Prof^o. Clélio Campolina Diniz

VICE-REITORA

Prof^a. Rocksane de Carvalho Norton

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^o. Ricardo Santiago Gomez

PRÓ-REITORA DE EXTENSÃO

Prof^o. Efigênia Ferreira e Ferreira

COORDENADOR DE EDUCAÇÃO A DISTÂNCIA - PROGRAD

Fernando Selmar Rocha Fidalgo

DIRETOR DA ESCOLA DE VETERINÁRIA

José Aurélio Garcia Bergmann

VICE-DIRETORA DA ESCOLA DE VETERINÁRIA

Zélia Inês Portela Lobato

COLEGIADO DA PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Roberto Maurício Carvalho Guedes

COLEGIADO DA GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Marcelo Resende de Souza

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária da UFMG

Campus Pampulha

Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Caixa Postal 567

Campus Pampulha da UFMG

CEP: 30.123-970 - Belo Horizonte / Minas Gerais

Tel.: +55 (31) 3409-2001

CURSO DE ANDROLOGIA VETERINÁRIA

COORDENAÇÃO GERAL

Marc Henry

Ana Maria Loaiza Echeverri

COORDENAÇÃO PEDAGÓGICA

Rosilene Oliveira de Carvalho

Fernanda Araújo Coutinho Campos

COORDENAÇÃO DE TUTORIA

Marc Henry

Ana Maria Loaiza Echeverri

EQUIPE ELABORADORA

Ana Maria Loaiza Echeverri

Custódio Antônio Carvalho Júnior

Eduardo Kenji Nunes Arashiro

Laila Succar Teixeira do Rosário Rahme

Luiza Fernandes Mendonça

Marc Henry

Rebeca Marques Mascarenhas

Valéria Spyridion Moustacas

APOIO FINANCEIRO

Projeto "Núcleo em Capacitação Técnica em Agronegócio"

Edital 64-MAPA/CNPq 2008

Processo nº 578656/2008-6

Instituto Nacional em Ciência e Tecnologia da Informação
Genética Sanitária da Pecuária Brasileira - INCT Pecuária



INCT | Pecuária
INFORMAÇÃO GENÉTICO-SANITÁRIA
DA PECUÁRIA BRASILEIRA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca da Escola de Veterinária da UFMG, MG, Brasil)

A574 Andrologia veterinária básica: curso de andrologia veterinária básica
/ Marc Henry e Ana Maria Loaiza Echeverri, [coordenadores]. –
Belo Horizonte : CAED-UFMG, 2013.
194 p. : il. ; 27 cm.

Inclui bibliografia.
ISBN: 978-85-64724-38-9

1. Andrologia veterinária. 2. Reprodução animal – Aspectos
endócrinos. 3. Inseminação artificial. 4. Ensino a distância. I.
Echeverri, Ana Maria Loaiza. II. Henry, Marc. III. Universidade
Federal de Minas Gerais. Centro de Apoio à Educação a Distância.

CDD: 591.16
CDU: 591.1

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	11
Nota dos editores	11
 CAPÍTULO 01 - DIFERENCIAÇÃO SEXUAL E DESENVOLVIMENTO GONADAL	 14
Autores: Laila Succar Teixeira do Rosario Rahme Marc Henry	
1. Introdução	15
2. Desenvolvimento embrionário	16
3. Diferenciação genética	18
4. Diferenciação gonadal	19
4.1 - Gônada indiferenciada	19
4.2 - Gônada diferenciada (genes envolvidos)	20
5. Diferenciação da genitália	23
6. Diferenciação sexual cerebral	24
6.1 Existiria um cérebro fêmea ou macho?	24
6.2 Se o cérebro é um órgão envolvido na expressão sexual o que comanda a diferenciação cerebral? Hormônios? Fatores genéticos? Ou fatores ambientais?	25
6.3 Porque então a fêmea que tem ovários e produz estradiol não tem cérebro macho?	26
7. Diferenciação sexual pós-natal	26
8. Conclusão	27
9. Resumo	27
 CAPÍTULO 02 - ANATOMOFISIOLOGIA DO SISTEMA GENITAL DOS MACHOS	 28
Autores: Eduardo Kenji Nunes Arashiro Marc Henry	
1. Introdução	29
2. Sistema genital do macho	29
2.1 Escroto	31
2.2 Testículos - local de produção dos espermatozoides	31
2.3 Epidídimos - local da maturação espermática	35
2.4 Ductos deferentes e ampolas dos ductos deferentes – A ligação entre a cauda do epidídimo e a uretra	36
2.5 Glândulas sexuais acessórias – Fonte de secreções, partes integrantes do ejaculado	36
2.5.1 <i>Glândulas vesiculares</i>	37
2.5.2 <i>Próstata</i>	38
2.5.3 <i>Bulbouretrais</i>	38
2.6 Cordões espermáticos – estrutura de sustentação dos testículos	39
2.7 Pênis - órgão copulatório	39
2.8 Prepúcio	41
3. Conclusão	42
4. Resumo	42

CAPÍTULO 03 - CONTROLE ENDÓCRINO DO DESENVOLVIMENTO SEXUAL DO MACHO **44**

Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri
Marc Henry

1. Introdução	45
2. Neuroendocrinologia da reprodução do macho	46
2.1 Hipotálamo	46
2.1.1 <i>Função do hipotálamo</i>	48
a. Fase pré-natal	48
b. Fase infantil	48
c. Fase pré-puberal	49
d. Fase puberal	49
2.2 Hipófise	49
2.2.1 <i>Função da hipófise</i>	50
a. Fase pré-natal	50
b. Fase infantil	51
c. Fase pré-puberal	51
d. Fase puberal	51
2.3 Testículos	52
2.3.1 <i>Função endócrina dos testículos</i>	52
a. Fase pré-natal	52
b. Fase infantil	53
c. Fase pré-puberal	54
d. Fase puberal	54
3. Interação entre hormônios	54
3.1 Eixo hipotálamo-hipófise-gonadal	55
4. Hormônios metabólicos envolvidos no crescimento testicular	57
5. Conclusão	58
6. Resumo	58

CAPÍTULO 04 - ESPERMATOGÊNESE **60**

Autores: Rebeca Marques Mascarenhas
Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri

1. Introdução	61
2. Onde acontece a espermatogênese?	62
3. Quais são as principais células envolvidas na espermatogênese?	63
3.1 Apresentando as células de sertoli	63
3.2 Apresentando as células germinativas	64
3.3 Apresentando as células de leydig	64
4. Como acontece a espermatogênese?	65
4.1 Fase proliferativa	65
4.2 Fase de meiose	65
4.3 Fase de diferenciação	66
5. Ciclo do epitélio seminífero	68
6. Conclusão	71
7. Resumo	71

CAPÍTULO 05 - ANATOMIA DO ESPERMATOZOIDE E FISIOLOGIA DO MOVIMENTO	72
Autores: Laila Succar Teixeira do Rosario Rahme Marc Henry	
1. Introdução	73
2. Cabeça	73
3. Cauda	75
4. Como o espermatozoide se movimenta?	76
4.1 Como é gerado, então, o movimento da cauda?	77
5. Conclusões	79
6. Resumo	79
 CAPÍTULO 06 - MATURAÇÃO E CAPACITAÇÃO ESPERMÁTICA, REAÇÃO ACROSSÔMICA E FERTILIZAÇÃO	 80
Autores: Marc Henry Ana Maria Loaiza Echeverri	
1. Introdução	81
2. Maturação espermática	82
2.1 O que acontece com os espermatozoides?	83
2.2 Que tipo de mudanças são estas?	83
2.3 Quais mudanças estariam ocorrendo nos espermatozoides durante seu trajeto pelo epidídimo?	84
3. Capacitação espermática	86
3.1 O que é a capacitação, onde e quando deve ocorrer?	87
4. Reação acrossômica	88
5. Fertilização	90
5.1 Penetração da zona pelúcida	91
5.2 União e fusão com a membrana plasmática do oócito	91
5.3 Eventos seguintes à fusão das membranas	92
6. Conclusão	94
7. Resumo	94
 CAPÍTULO 07 - PUBERDADE	 96
Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri Marc Henry	
1. Introdução	97
2. O início da puberdade	98
2.1 Diferenças entre espécies	99
3. Fatores que influenciam a puberdade nos machos	99
3.1 Fatores genéticos	99
3.1.1 <i>Raça</i>	99
3.1.2 <i>Perímetro escrotal</i>	101
3.2 Fatores ambientais	101
3.2.1 <i>Sazonalidade</i>	101
3.2.2 <i>Nutrição</i>	103
4. Conclusão	105
5. Resumo	105

CAPÍTULO 08 - PRINCIPAIS DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM MACHOS **106**

Autores: Marc Henry

Ana Maria Loaiza Echeverri

1. Introdução	107
2. Considerações iniciais	108
3. Classificação das afecções reprodutivas nos machos	108
4. Afecções reprodutivas nos machos (sintomatologia clínica principal)	109
4.1 Ausência de desejo sexual	109
4.2 Incapacidade de montar ou de copular	110
4.2.1 <i>Origem no sistema musculoesquelético</i>	110
4.2.2 <i>Origem prepucial</i>	110
4.2.3 <i>Origem peniana</i>	111
4.3 Incapacidade de ejacular	111
4.4 Ausência de espermatozoides no ejaculado ou “azoospermia”	112
4.4.1 <i>Oclusão congênita do(s) ducto(s)</i>	112
4.4.2 <i>Oclusão adquirida do(s) ducto(s)</i>	113
4.5 Ejaculação alterada	113
4.5.1 <i>Deposição inadequada do ejaculado</i>	113
4.5.2 <i>Retroejaculação</i>	113
4.6 Ejaculado e/ou produção espermática inadequados	114
4.6.1 <i>Ejaculado inadequado</i>	114
4.6.2 <i>Produção espermática inadequada</i>	114
4.7. Neoplasias	118
4.8 Doenças infecciosas	118
5. Conclusões	119
6. Resumo	119

CAPÍTULO 09 - SELEÇÃO DE REPRODUTORES: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL REPRODUTIVO **122**

Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri

Marc Henry

1. Introdução	123
2. Seleção de reprodutores	124
2.1 Seleção pela genealogia	124
2.2 Seleção pela conformação	124
2.3 Seleção pelo desempenho	124
2.4 Seleção pela progênie	124
2.5 Seleção pelo potencial reprodutivo	125
3. Exame andrológico	125
3.1 Anamnese	126
3.2 Exame clínico geral	126
3.2.1 <i>Condição corporal</i>	127
3.2.2 <i>Pés, pernas e articulações</i>	127
3.2.3 <i>Malformações hereditárias</i>	128
3.3 Exame físico do sistema reprodutor	128
3.3.1 <i>Inspeção visual e palpação do escroto</i>	128
3.3.2 <i>Palpação dos testículos, epidídimos e cordões espermáticos</i>	129
3.3.3 <i>Exame do pênis e prepúcio</i>	129

3.3.4 Avaliação das glândulas acessórias	129
3.3.5 Biometria testicular	130
3.4 Avaliação do sêmen	131
3.5 Avaliação da libido ou capacidade de cópula	131
4. Exames complementares	132
5. Interpretação do exame andrológico	134
6. Conclusões	135
7. Resumo	135
CAPÍTULO 10 - COLETA E AVALIAÇÃO SEMINAL EM ANIMAIS DOMÉSTICOS	136
Autores: Marc Henry	
Ana Maria Loaiza Echeverri	
1. Introdução	137
2. Métodos de coleta de sêmen e características seminais em espécies de animais domésticos	137
2.1 O que fazer para se obter uma amostra que represente a produção espermática diária?	138
2.2 Quais são os principais métodos de coleta de sêmen?	139
3. Avaliação do sêmen	142
3.1 Avaliação macroscópica do ejaculado	142
3.2 Avaliação microscópica do sêmen	143
4. Exames seminais complementares	147
5. Avaliação de doses de sêmen	148
6. Conclusões	150
7. Resumo	151
CAPÍTULO 11 - COMPORTAMENTO SEXUAL DO MACHO	152
Autores: Luiza Fernandes Mendonça Kling	
Custódio Antônio Carvalho Júnior	
Marc Henry	
1. Introdução	153
2. Libido e inseminação artificial	154
3. Comportamento sexual	154
3.1 E a libido, o que é?	154
4. Avaliando a libido e a capacidade de monta	155
5. O cortejo sexual nas diferentes espécies domésticas	156
5.1 Bovinos	156
5.1.1 Fatores que influenciam a libido dos touros	158
5.1.2 Comportamento sexual do touro	158
5.1.3 Testes de comportamento sexual em bovinos	160
5.2 Caprinos	162
5.2.1 Fatores que influenciam o comportamento sexual de caprinos	162
5.3 Ovinos	163
5.4 Testes utilizados na avaliação do comportamento sexual de pequenos ruminantes	165
5.5 Suínos	166
5.6 Equinos	166
5.7 Cães e gatos	167
6. Conclusão	168
7. Resumo	168

CAPÍTULO 12 - CRIOPRESERVAÇÃO ESPERMÁTICA	170
Autores: Valéria Spyridion Moustacas Marc Henry Ana Maria Loaiza Echeverri	
1. Introdução	171
2. Membranas celulares	172
3. Preservação de espermatozoides na forma líquida	174
3.1 O que acontece com as membranas durante o resfriamento?	174
3.2 Resistência ao choque térmico	175
4. Preservação de espermatozoides na forma congelada	176
4.1 O que acontece com as membranas durante o congelamento?	176
5. Meios diluidores	178
5.1 Crioprotetores	179
5.1.1 <i>Glicerol</i>	180
5.1.2 <i>Gema de ovo</i>	180
5.1.3 <i>Leite</i>	180
5.1.4 <i>Açúcares</i>	181
5.2 Substâncias tampão	181
5.3 Antibióticos	181
6. Conclusão	182
7. Resumo	182
REFERÊNCIAS POR CAPÍTULO	184

NOTA DO EDITOR

A Universidade Federal de Minas Gerais atua em diversos projetos de Educação a Distância, que incluem atividades de ensino, pesquisa e extensão. Dentre elas, destacam-se as ações vinculadas ao Centro de Apoio à Educação a Distância (CAED), que iniciou suas atividades em 2003, credenciando a UFMG junto ao Ministério da Educação para a oferta de cursos a distância.

O CAED-UFMG (Centro de Apoio à Educação a Distância da Universidade Federal de Minas Gerais), Unidade Administrativa da Pró-Reitoria de Graduação, tem por objetivo administrar, coordenar e assessorar o desenvolvimento de cursos de graduação, de pós-graduação e de extensão na modalidade a distância, desenvolver estudos e pesquisas sobre educação a distância, promover a articulação da UFMG com os polos de apoio presencial, como também produzir e editar livros acadêmicos e/ou didáticos, impressos e digitais, bem como a produção de outros materiais pedagógicos sobre EAD.

Como um passo importante e decisivo, o CAED-UFMG decidiu, no ano de 2010, criar a Editora CAED-UFMG como forma de potencializar a produção do material didático a ser disponibilizado para os cursos em funcionamento.

Este livro “Andrologia Veterinária Básica” representa mais uma ampliação de nossa linha editorial, já que é fruto de um projeto de pesquisa CNPq e que o CAED trabalhou como parceiro na produção desde o Ambiente Virtual de Aprendizagem, produção audiovisual e o próprio livro.

Certamente os alunos encontrarão neste livro o apoio necessário para o desenvolvimento de um excelente aprendizado.

Fernando Selmar Rocha Fidalgo

Editor e Diretor do CAED-UFMG

NOTA DOS EDITORES CIENTÍFICOS

Têm sido metas da humanidade, desde os primórdios de sua existência, compreender e dominar tudo que está a sua volta. Na fase atual, a geração de novos conhecimentos na área da biologia está em plena efervescência, e os focos principais das pesquisas são o entendimento dos mecanismos que levam à expressão dos fenômenos fisiológicos, assim como, a compreensão dos processos que causam a sua alteração.

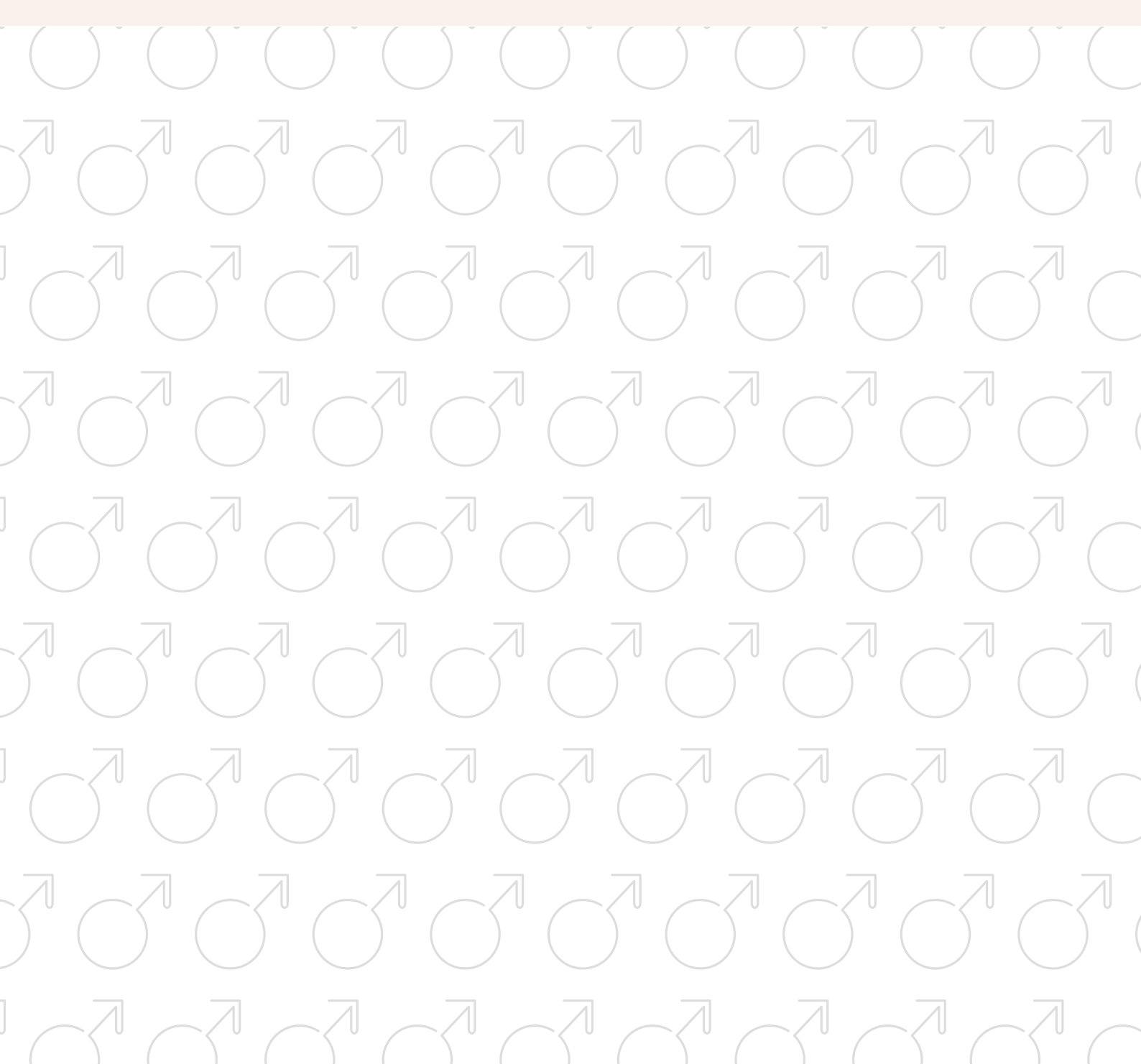
Estamos na era dos estudos em nível molecular e de expressão gênica. Com certeza, o domínio do saber nestes níveis nos permitirá melhor intervir quando for requerido. No entanto, na prática contemporânea da análise do estado de saúde animal, nesse caso, particularmente, da andrologia, inúmeros conhecimentos gerados em passados mais ou menos recentes, continuam tendo a mesma importância, ou já se constituíram norteadores das principais ações a serem executadas no exercício da clínica atual. Portanto, o nosso objetivo ao criar este guia é prover aos seus usuários conhecimentos básicos para que possam analisar, compreender, interpretar e construir uma estratégia de ação para cuidar do estado de saúde da parte reprodutiva dos machos de diversas espécies animais, mais particularmente, aquelas de interesse zootécnico.

A pretensão é iniciar os interessados em andrologia veterinária, no entanto, em alguns pontos do texto, chamamos a atenção que o nível de conhecimento já é outro. Os que desejarem se especializar necessitarão se dedicar com mais afinco às leituras complementares sobre andrologia. A cada dia novos conhecimentos estão sendo agregados aos já existentes. Desta forma, esperamos contribuir para a educação continuada.

Marc Henry

Ana Maria Loaiza Echeverri

Editores Científicos



1

Diferenciação Sexual e Desenvolvimento Gonadal

***Autores: Laila Succar Teixeira do Rosário
Marc Henry***

META DO CAPÍTULO

Explicitar que a diferenciação sexual é um processo que ocorre em várias fases e que tem início logo após a fertilização e término após o nascimento. Os erros na expressão fenotípica da genitália ou do comportamento podem advir de falhas em qualquer uma das fases.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Compreender e inter-relacionar os fatores envolvidos na diferenciação sexual e o desenvolvimento gonadal pré-natal.
- Entender que a diferenciação sexual é um processo que envolve várias fases.
- Compreender a importância da expressão dos genes envolvidos na diferenciação sexual.

1. INTRODUÇÃO

O sexo do indivíduo é determinado no momento da fertilização, este acontecimento é conhecido como “*determinação sexual*”; e a “*diferenciação sexual*” é o processo pelo qual um organismo se desenvolve como macho ou fêmea. Os processos de determinação e diferenciação sexual estão intrinsecamente associados, nos mamíferos, à presença ou ausência do cromossomo Y no cariótipo.

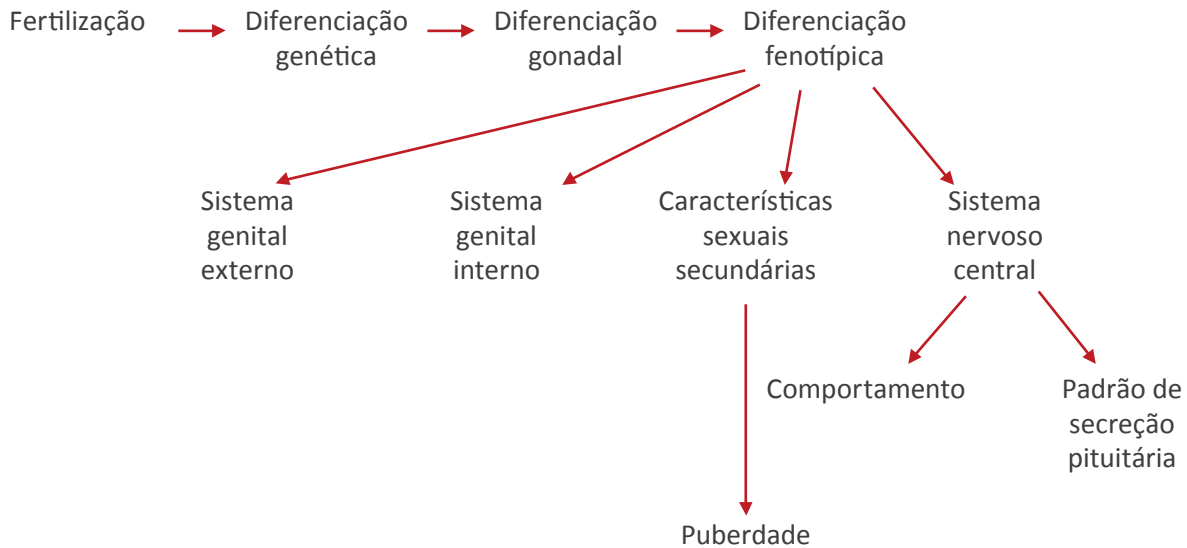
Os machos são heterogaméticos (XY) e as fêmeas são homogaméticas (XX). Assim, a determinação do sexo se estabelece pelo arranjo formado entre o cromossoma X originário da fêmea e o cromossoma X ou Y originário do gameta masculino.

Porém, o processo de diferenciação sexual ocorrerá apenas algum tempo depois da fertilização. Esse período é variável entre as espécies animais, mas é bastante preciso em uma mesma espécie.

O processo como um todo é classicamente dividido em quatro etapas: 1) A determinação do sexo cromossômico, que é estabelecida na fertilização; 2) A diferenciação das gônadas em testículos ou em ovários; 3) A diferenciação dos genitais internos e externos masculinos ou femininos, a partir de estruturas indiferenciadas presentes no embrião, processo dependente da presença ou ausência de testículos; e 4) A diferenciação sexual secundária, que é a resposta de vários tecidos aos hormônios produzidos pelas gônadas

para completar o fenótipo sexual. Os diversos passos estão sumarizados no esquema.

DIFERENCIAÇÃO E DESENVOLVIMENTO SEXUAL



2. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Na fase inicial do desenvolvimento embrionário (fase de blastocisto) um número restrito de células vão originar o embrião propriamente dito. Este conjunto de células é chamado de botão embrionário. O restante das células compõe o trofoblasto que vai originar a placenta, como pode ser visto detalhadamente na figura 1:

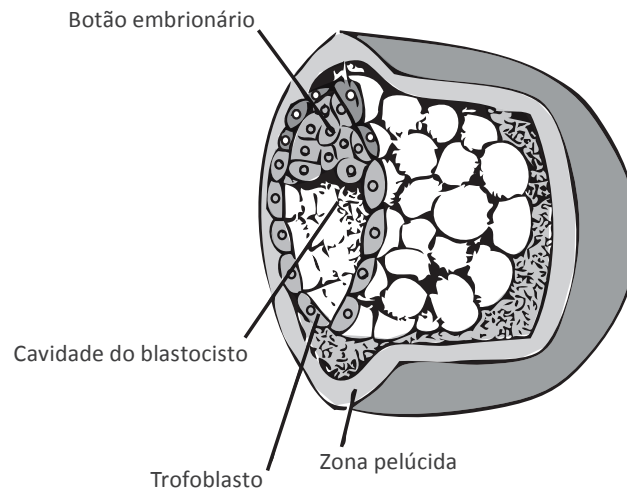


Figura 1. Blastocisto, botão embrionário e trofoblasto. [Fonte: Modificado de McGEADY, T. A.; QUINN, P. J.; FITZPATRICK, E. S.; RYAN, M. T. *Veterinary Embryology*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2006.]

Com o desenvolvimento, o embrião próprio vai apresentar três camadas celulares denominadas de ectoderme, mesoderme e endoderme. A diferenciação destas vai originar os diferentes órgãos do animal adulto.

O que seria diferenciação, então?

DIFERENCIAÇÃO

É o processo que um grupo de células não especializadas sofre para se transformar em células com funções específicas.

No diagrama abaixo (Figura 2) você poderá visualizar as três camadas que inicialmente compõem o embrião próprio. Elas já aparecem antes do embrião iniciar a sua fixação na parede uterina.

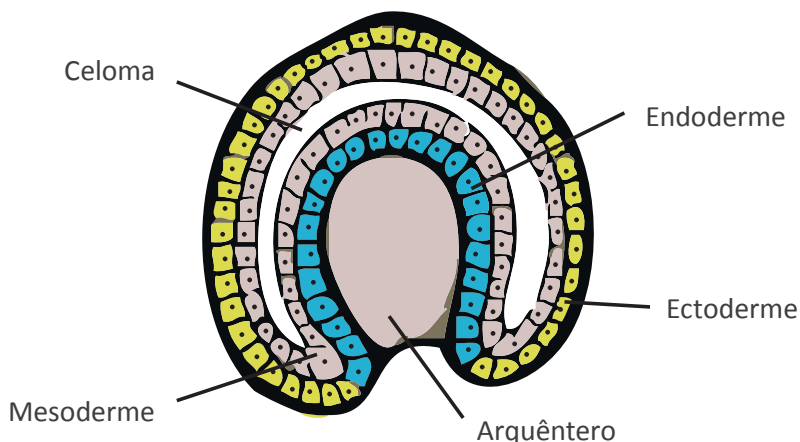


Figura 2. Camadas de células do embrião: endoderme, mesoderme, ectoderme. [Fonte: Modificado de - <http://www.infoescola.com/embriologia/ectoderme/>]

A ectoderme (ecto=fora, derme=pele; revestimento) se desenvolve na camada de células mais externa do botão embrionário. A ectoderme dará origem ao sistema nervoso, órgãos sensoriais, glândulas mamárias, glândulas sudoríparas, pele, cabelo, unhas e cascos. A camada de células intermediária do embrião é a mesoderme (meso=meio, derme=pele; revestimento). A mesoderme é formada entre a endoderme e a ectoderme e dará origem aos sistemas circulatório, muscular, urinário e ao esqueleto. A maior parte do sistema reprodutivo é originada da mesoderme. A endoderme (endo=dentro, derme=pele; revestimento) é a camada mais interna do embrião e irá se transformar no trato digestivo, fígado, pulmões, pâncreas e órgãos endócrinos.

Uma lista mais completa das derivações dos tecidos está no quadro 1.

QUADRO 1. ÓRGÃOS E SISTEMAS ORIGINADOS DAS DIFERENTES CAMADAS DE CÉLULAS

ECTODERME	MESODERME	ENDODERME
Pele, cabelo, unhas, glândulas sudoríparas, glândulas mamárias	Músculos	Sistema Digestivo
Sistema Nervoso: - hipotálamo - lóbulos da pituitária	Sistema Circulatório	Sistema Respiratório
Cavidade Oral	Sistema Reprodutivo: - gônadas femininas e masculinas - útero, cérvix, parte da vagina - epidídimo, ductos deferentes, glândulas sexuais acessórias	Maioria das glândulas
Cavidade Nasal	Sistema Urinário	
Trato Reprodutivo: - porções da vagina - vestibulo - pênis - clitóris	Esqueleto	

3. DIFERENCIAÇÃO GENÉTICA

Com a fertilização do oócito (célula germinativa feminina produzida no ovário), a primeira etapa da diferenciação sexual do embrião já está iniciada, pois você sabe que o espermatozoide pode carregar para dentro do oócito um dos dois cromossomos que determinarão o sexo: o cromossomo Y ou o cromossomo X. Um zigoto contendo um par de cromossomos X (homozigoto) desenvolve-se em uma fêmea, enquanto um zigoto com um cromossomo X e um Y (heterozigoto), desenvolve-se em um macho. Portanto, o complemento do cromossomo sexual normal das fêmeas é XX e dos machos, XY. Isso significa que todos os gametas produzidos por divisão celular meiótica no indivíduo do sexo feminino (oócitos) contêm um único cromossomo X. No entanto, metade dos espermatozoides produzidos pelo indivíduo do sexo masculino conterá um cromossomo X e a outra metade conterá um cromossomo Y. A figura 3 mostra como os dois tipos de zigotos são formados.

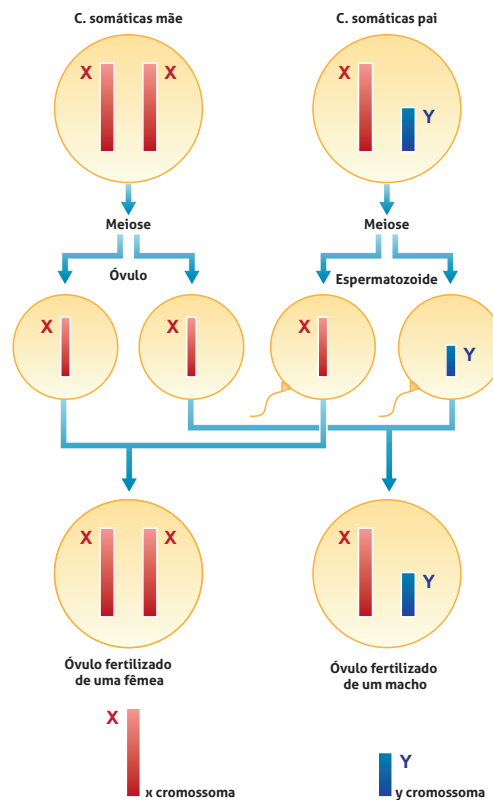


Figura 3. Diferenciação genética.

[Fonte: Adaptado de - <http://professorrodrigogimenes.blogspot.com.br/2011/10/heranca-e-sexo.html>]

Os cromossomos Y são menores do que os cromossomos X e são bem diferentes um do outro. Os genes no cromossomo Y estão relacionados com a determinação do sexo. Sua presença assegura a diferenciação do embrião em um animal do sexo masculino. Na sua ausência, o embrião evolui naturalmente em um animal do sexo feminino. O cromossomo X, que está presente em ambos os sexos, é importante, pois contém muitos genes vitais para o desenvolvimento e perfeito funcionamento do organismo. A ausência do cromossomo X é incompatível com a vida.

VOCÊ SABIA?

Na maioria dos vertebrados as fêmeas são homogaméticas (XX) e os machos são heterogaméticos (XY). Em pássaros e répteis as fêmeas são heterogaméticas (ZW) e os machos são homogaméticos (ZZ). Em peixes e anfíbios os machos e fêmeas são heterogaméticos, algumas espécies de peixes, no entanto, são hermafroditas - sincrônicos ou assincrônicos.

4. DIFERENCIAÇÃO GONADAL

4.1 GÔNADA INDIFERENCIADA

No início do desenvolvimento embrionário (primeiros 15% de gestação), quando o saco vitelínico ainda está presente, células germinativas primordiais (primitivas) se desenvolvem. Estas células germinativas primordiais migram do intestino primitivo para a crista genital através de movimentos ameboides e dão origem à gônada indiferenciada. Durante este trajeto, as células germinativas primordiais se multiplicam e o número total de células aumenta significativamente. Quando estas células chegam à crista genital elas são chamadas de gonócitos. Os gonócitos estimulam a proliferação do tecido local,

resultando na formação do cordão sexual primitivo (Figura 4). Nesta fase, a gônada ainda é indiferenciada e poderá se desenvolver macho ou fêmea, por isso é também chamada de gônada bipotencial. Neste estágio de desenvolvimento, mesmo pela avaliação histológica, ainda não é possível diferenciar se a gônada evoluirá para ovário ou testículo.

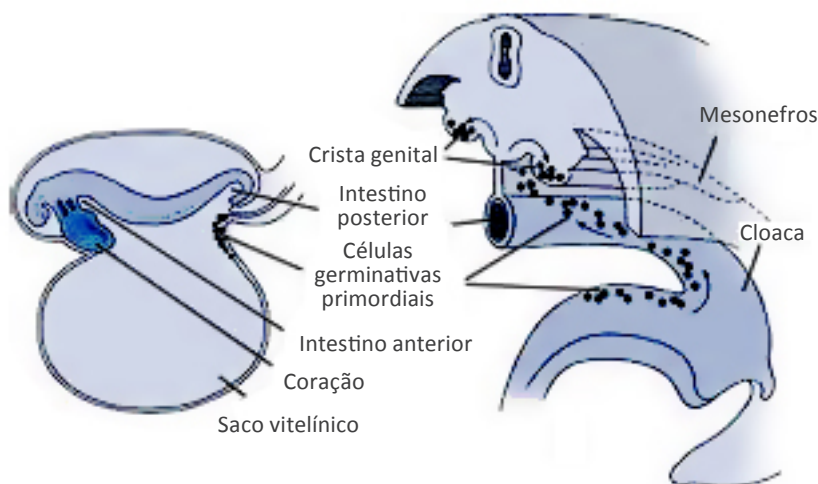


Figura 4. Migração das células germinativas primordiais para a crista genital com consequente formação dos cordões sexuais.

Durante o seu desenvolvimento, o embrião acaba tendo três sistemas renais morfologicamente distintos. O primeiro, chamado pronefro, não é funcional e é remanescente de um rim primitivo. Logo no início da embriogênese, o pronefro regride e é substituído por um par de rins intermediários e funcionais conhecidos como mesonefro. O mesonefro produz urina que é drenada por um par de ductos bilaterais chamados de ductos mesonéfricos. Estes ductos são normalmente chamados de Ductos de Wolff. No final da gestação (10% a 15% do final), a última forma dos rins aparece, e é conhecida como metanefro. O metanefro irá gerar néfrons funcionais que irão funcionar como os rins dos mamíferos adultos.

VOCÊ SABIA?

Nos embriões de aves as células germinativas primordiais não migram para a crista genital por movimentos ameboides e sim, através da corrente sanguínea, por vasos primitivos.

Ao mesmo tempo que o mesonefro se desenvolve, um novo par de ductos ao lado dos ductos mesonéfricos começam a se desenvolver. Estes ductos são chamados de ductos paramesonéfricos ou ductos de Müller. Mesmo na presença dos ductos mesonéfricos e paramesonéfricos, ainda não é possível saber através da observação visual se o embrião é fêmea ou macho.

4.2 GÔNADA DIFERENCIADA (GENES ENVOLVIDOS)

Como já dissemos, na fase inicial do desenvolvimento embrionário, as gônadas são consideradas gônadas bipotenciais. A partir da 6ª semana (variável dependendo da espécie animal) de vida intrauterina, a presença do cromossomo Y no genoma do embrião determina a evolução da gonada indeferenciada em testículo. Este processo é mediado pelo gene determinante do sexo, SRY (Figura 5), localizado no cromossomo Y. A expressão deste gene leva à produção de um fator determinante de testículo (FDT) que atua conjuntamente com a expressão de outros genes presentes, tanto nos cromossomos sexuais, como nos autossômicos, resultando na formação dos testículos.

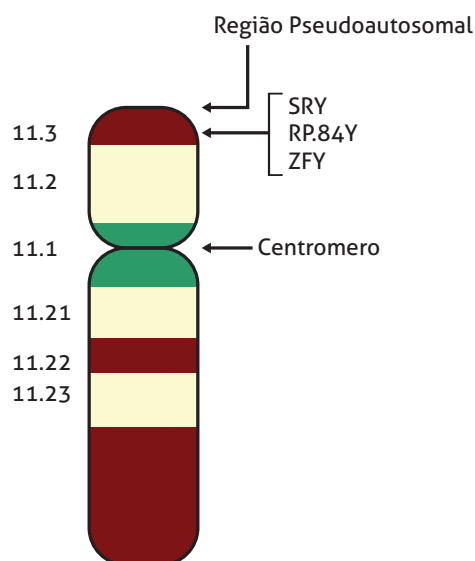


Figura 5. Gene determinante do sexo, SRY.

Embora muitos eventos que participam do processo de desenvolvimento sexual normal não estejam totalmente elucidados está estabelecido que a determinação do sexo gonadal é a responsável pelo restante do processo de diferenciação sexual que ocorre durante a vida fetal.

Neste processo participam vários genes (pelo menos 19) que interagem entre si, como SRY e DAX1, localizados nos cromossomos sexuais e os genes WT-1, SF-1 e SOX9, localizados nos cromossomos autossômicos, entre outros. Como estes genes induzem a diferenciação gonadal ainda não está esclarecido, mas foi observado que mutações identificadas nestes genes resultaram na ausência da formação gonadal. Ou seja, não basta o indivíduo apresentar cariótipo XY para possuir características masculinas, é necessária a presença de genes específicos no cromossomo Y para que as características masculinas possam aparecer. A ausência do gene SRY pode levar um indivíduo XY a evoluir para o sexo feminino, pois na falta deste gene, o embrião evolui naturalmente para o sexo feminino.

INTERESSANTE!

Já em 1947, Alfred Jost, após muitos estudos, lançou a ideia que perdura até hoje: “O desenvolvimento sexual masculino é ativo e o feminino passivo”, isto, sem saber da existência do gene SRY que foi identificado a posteriori.

Para melhor entender de que o cromossomo Y (presença do gene SRY) é responsável pelo desenvolvimento sexual do macho, na espécie humana, quando o indivíduo apresenta cariótipo XO (Síndrome de Turner) este é fenotipicamente feminino, enquanto um indivíduo XXY (Síndrome de Klinefelter) apresenta características masculinas.

A identificação da região determinante do sexo no cromossomo Y (gene SRY) constituiu uma etapa crucial na compreensão da determinação do sexo gonadal masculino. Além do SRY, o gene SOX9 também possui um papel importante na indução da formação testicular e está expresso nas células de Sertoli. A deleção do gene SOX9 leva um indivíduo macho a se desenvolver como fêmea, e uma duplicação da expressão de SOX9 leva um indivíduo fêmea a se transformar em macho.

Outros genes localizados nos cromossomos sexuais (DAX1, ATRX) e em autossomos (DMRT, WNT4) também participam de etapas críticas do processo de determinação gonadal. As interações dos vários genes envolvidos no complexo mecanismo da cascata

da determinação sexual estão sendo gradualmente esclarecidas. O gene SRY age como um indutor na determinação sexual masculina. A sua expressão nas células somáticas da crista genital precede os primeiros sinais do desenvolvimento testicular (Figura 6).

GENES LIGADOS À DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

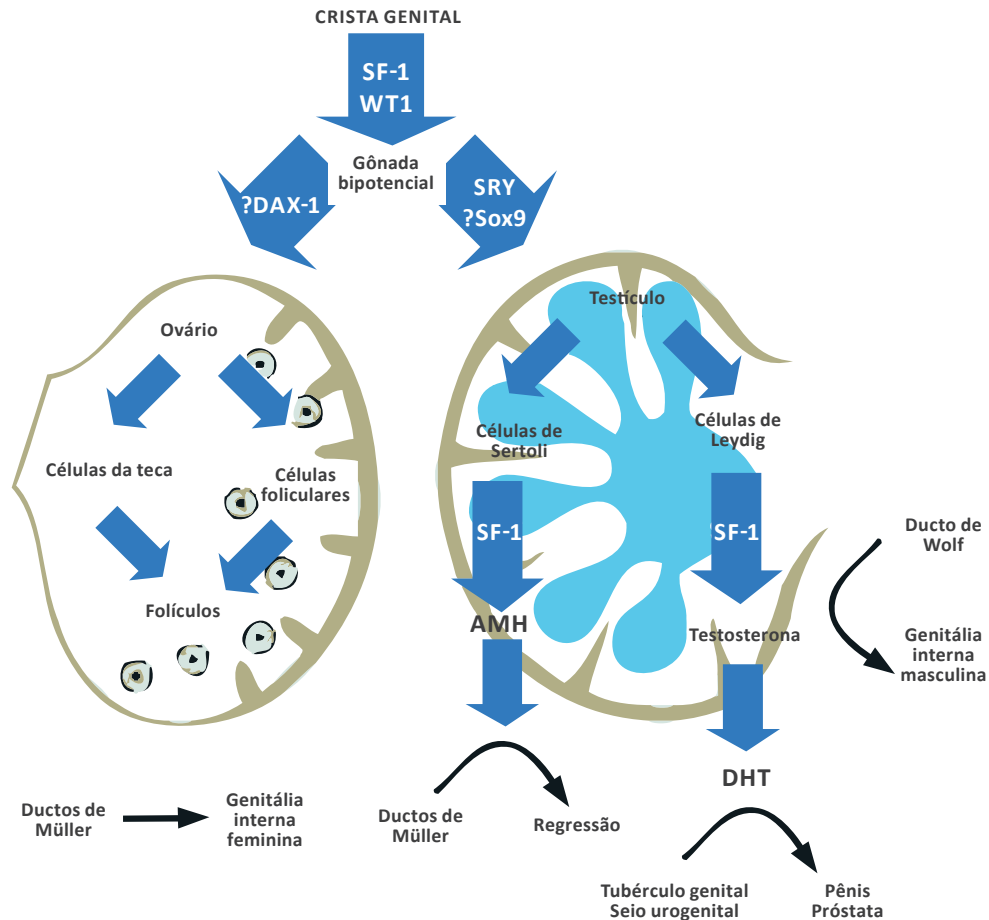
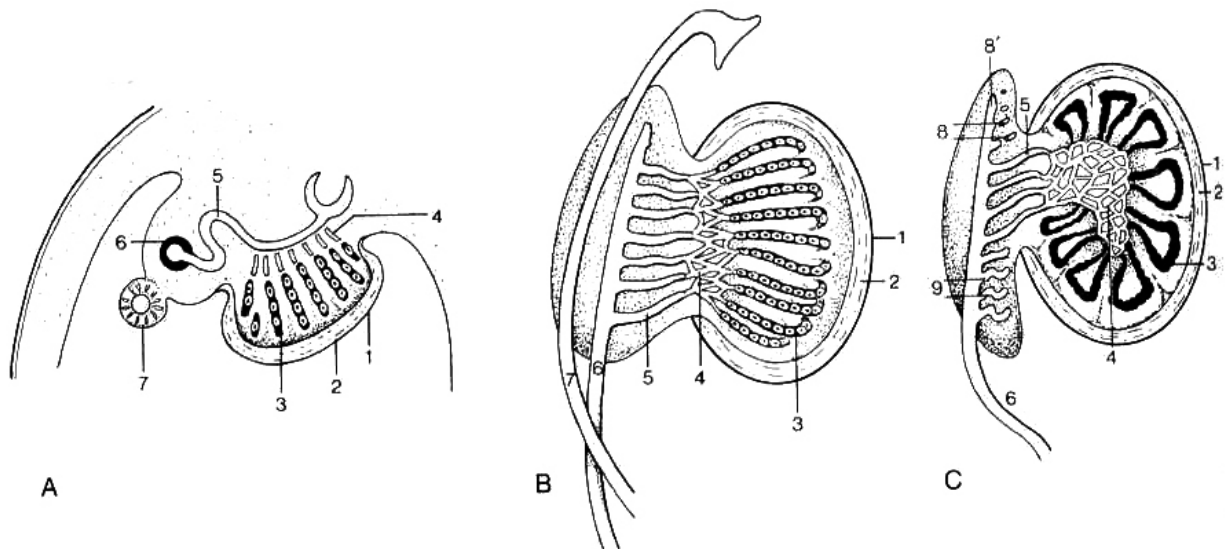


Figura 6. Genes envolvidos na diferenciação sexual. [Fonte: Modificado de *Understanding Human Sexuality* by John D. Delamater and Janet Shibley Hyde. Hardcover, 1997.]

No macho, após a migração das células germinativas primordiais, e após a ativação do gene SRY, o cordão sexual primitivo evolui para testículo, passando a existir durante o desenvolvimento dois compartimentos distintos: os cordões testiculares precursores dos túbulos seminíferos e a região intersticial que envolve os cordões testiculares (Figura 7). Nos cordões testiculares estão localizadas as células de Sertoli e as células germinativas primordiais. Na região intersticial estão localizadas células secretoras de esteroides, que passarão a ser denominadas de células de Leydig, bem como as células mioides peritubulares. Em contraste, nas fêmeas, os ovários não exibem diferenciação estrutural considerável até uma fase mais tardia da gestação, a sua diferenciação é consequência da ausência do cromossomo Y. A diferenciação gonadal torna os ovários e os testículos histologicamente distintos.



1 - Epit. Celomático
 2 - Túnica Albugínea
 3 - Cordões Testiculares
 4 - Rede Testicular
 5 - Túbulo Mesonéfrico
 6 - Ducto Mesonéfrico
 7 - Ducto Paramesonéfrico

1 - Epit. Celomático
 2 - Túnica Albugínea
 3 - Cordões Testiculares
 4 - Rede Testicular
 5 - Ductos Eferentes
 6 - Ducto Mesonéfrico
 7 - Ducto Paramesonéfrico

3 - Túbulos Seminíferos
 4 - Rede Testicular
 5 - Ducto Deferente
 8,9 - Formação do Epidídimo

Figura 7. Desenvolvimento do testículo. [Fonte: Adaptado de - http://www.mcguido.vet.br/diferenciacao_sexual.htm]

5. DIFERENCIAÇÃO DA GENITÁLIA

Parece haver um “período crítico” para a diferenciação sexual e este período é próprio para cada espécie. Dados experimentais em ratos apontam que o período crítico segue-se à diferenciação das células de Leydig e ao início da produção de testosterona. No ser humano, a partir de 7-8 semanas de vida intrauterina inicia-se a produção de testosterona e, de 14 a 18 semanas, as células de Leydig ocupam metade do volume do testículo fetal, evoluindo progressivamente até o termo da gestação. O pico de produção de testosterona ocorre entre 14 e 16 semanas de vida intrauterina, atingindo valores encontrados em homens adultos.

Após o nascimento, a produção de testosterona é elevada nos 2 primeiros dias de vida e cai em seguida, voltando a subir com 2 semanas, mantendo-se elevada até 4-6 meses. Em analogia ao que ocorre em outras espécies, podemos supor que esses picos de produção de testosterona tenham significado especial no desenvolvimento sexual na direção do sexo masculino.

A diferenciação da genitália interna do macho, incluindo a descida testicular, requer a secreção e a ação da testosterona sobre os ductos de Wolf, estimulando a sua

diferenciação, e a secreção do hormônio antimülleriano (HAM), que atua nos ductos de Müller, impedindo a sua diferenciação. Os genes *Insl3* e *HOX* participam da descida intra-abdominal dos testículos na espécie humana, e a descida inguinoescrotal é controlada pelos andrógenos, sendo os principais genes envolvidos nessa fase da embriogênese o do receptor de andrógenos, o do HAM e o do seu receptor.

Mutações em um desses genes resultam em ambiguidade e/ou subdesenvolvimento da genitália interna masculina. No sexo feminino, os genes da família *Wnt* (*Wnt-7a* e *Wnt-4*) parecem ter um papel no desenvolvimento dos ductos Müllerianos e na supressão da diferenciação das células de Leydig no ovário.

Portanto, no feto macho, através da ação local da testosterona secretada pelas células de Leydig a partir da oitava semana de gestação, os ductos de Wolff ou mesonéfricos se diferenciam em epidídimo, ducto deferente e vesícula seminal, e os ductos de Müller ou paramesonéfricos sofrem atrofia sob ação do hormônio antimülleriano (HAM), secretado pelas células de Sertoli.

No feto fêmea, os ductos de Müller se diferenciam em trompas e útero. A porção cranial da vagina é formada pelos ductos de Müller e também de Wolff, pois na ausência dos ductos de Wolff ocorre atresia ou agenesia de vagina. Embora não haja nenhum gene específico responsável pela diferenciação da genitália fêmea, atualmente há evidências de que genes da família *Wnt* tenham um papel no desenvolvimento dos ductos Müllerianos.

A genitália externa no macho é resultante da transformação da testosterona em dihidrotestosterona, na presença da enzima 5α redutase. Este hormônio promove a transformação do tubérculo urogenital em próstata, parte da uretra e pênis. Na ausência deste hormônio o tubérculo urogenital evolui para clitóris e vulva.

6. DIFERENCIAÇÃO SEXUAL CEREBRAL

6.1 EXISTIRIA UM CÉREBRO FÊMEA OU MACHO?

Se a resposta à questão da existência de um cérebro macho ou fêmea for verdadeira, como realmente parece ser, uma série de outras perguntas se seguem: Em que fase ocorre tal diferenciação? Ela pode ser reversível? Quem comanda a diferenciação cerebral?

Nos cérebros humanos, os dimorfismos são pequenos, sutis, difíceis de serem encontrados. Os núcleos hipotalâmicos variam em seus volumes médios quando comparamos o dos homens e o das mulheres, no entanto, as diferenças são tão discretas que não conseguimos ainda determinar um perfil específico para cada sexo. Já nos roedores, pesquisadores conseguem dizer se o cérebro pertence a um macho ou uma fêmea baseando-se apenas no volume hipotalâmico, com pequena probabilidade de erro.

Em algumas espécies de aves canoras, apenas os machos cantam, e, não nos surpreendemos quando observamos em seus cérebros uma área para o canto muito mais desenvolvida do que em fêmeas da mesma espécie (Figura 8).

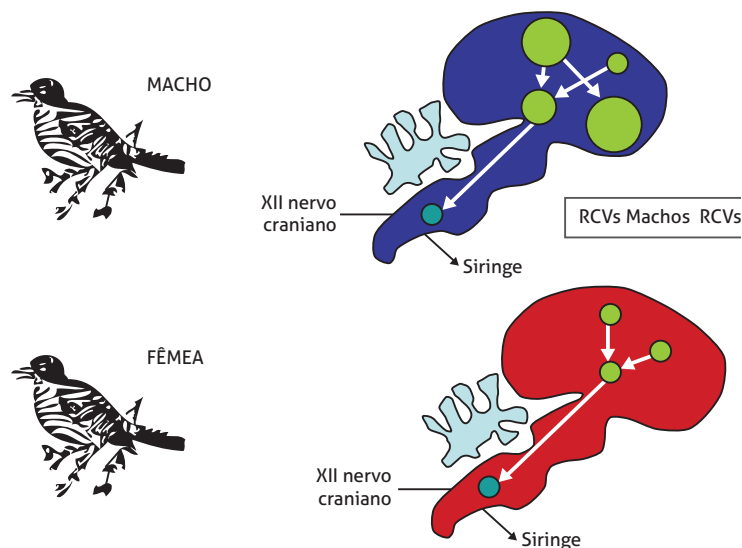


Figura 8. Dimorfismo sexual cerebral entre machos e fêmeas. Os machos apresentam um desenvolvimento de estruturas que lhe permitem atividades canoras, com o objetivo de atrair a fêmea.

No atual estágio de entendimento, acredita-se, como já citamos, que o “programa” natural de desenvolvimento tanto do cérebro quanto do corpo é para o lado fêmea.

6.2 SE O CÉREBRO É UM ÓRGÃO ENVOLVIDO NA EXPRESSÃO SEXUAL, O QUE COMANDA A DIFERENCIAÇÃO CEREBRAL? HORMÔNIOS? FATORES GENÉTICOS? OU FATORES AMBIENTAIS?

A primeira suspeita do que levaria o cérebro a se diferenciar em masculino ou feminino estaria relacionado à presença de hormônios esteroides, diferencialmente produzidos em ambos os sexos: testosterona nos machos e estradiol nas fêmeas. Tem havido crescente evidência de que a forma e a frequência de liberação de hormônios reprodutivos de origem cerebral que ocorrem nos animais adultos machos ou fêmeas estejam relacionadas às diferenças anatômicas das estruturas cerebrais entre ambos os sexos.

Em mamíferos, os cérebros masculino e feminino iniciam as vias cerebrais de diferenciação sexual antes mesmo da formação gonadal. Mesmo sem dimorfismos sexuais nítidos, os circuitos neuronais mostram-se diferentes, justificando diferenças nos comportamentos masculino e feminino. Os hormônios sexuais determinam a identidade sexual do sistema nervoso durante o desenvolvimento fetal e neonatal. A diferenciação sexual do sistema nervoso depende dos andrógenos produzidos pelos testículos desencadeando a “masculinização” do sistema nervoso central ao regular a expressão de uma variedade de genes relacionados ao sexo.

ATENÇÃO!

É importante salientar que a testosterona propriamente dita não possui efeito “masculinizante” no sistema nervoso central. A testosterona, ao passar pela barreira hematoencefálica, é rapidamente transformada em estradiol pela ação da aromatase presente no cérebro, e é o estradiol que possui efeito “virilizante” no desenvolvimento do sistema nervoso dos machos.

6.3 POR QUE, ENTÃO, A FÊMEA QUE TEM OVÁRIOS E PRODUZ ESTRADIOL NÃO TEM CÉREBRO MACHO?

O estradiol sendo produzido e liberado na corrente sanguínea se liga à alfa-feto-proteína e este complexo não consegue passar a barreira hematoencefálica. Isto faz com que o cérebro feminino, no período crucial da diferenciação sexual cerebral, não seja estimulado pelo estrogênio. Na ausência dos andrógenos, o sistema nervoso em desenvolvimento passa a ter diferentes características. Parece também haver uma discreta “feminização”, o que significa que o cérebro das fêmeas não é simplesmente um sistema que deixou de sofrer a ação dos andrógenos.

Uma vez que hormônios, e não cromossomos, determinam diretamente as características sexuais do sistema nervoso, é possível existirem animais genotipicamente fêmeas com encéfalos masculinos e genotipicamente machos com encéfalos femininos. Por exemplo, o tratamento com testosterona no início do desenvolvimento pode, de alguma forma, afetar a expressão do comportamento feminino a longo prazo, o que pode ser bem observado em indivíduos com hiperplasia adrenal congênita que mostram, ao longo do desenvolvimento, um comportamento mais agressivo por parte das mulheres.

O estrogênio, advindo da transformação da testosterona, atuando nos núcleos hipotalâmicos vai ajustar o cérebro para a expressão do comportamento de macho, assim como vai atuar na diferenciação do padrão de liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Nos machos, a liberação será do tipo tônico (picos frequentes de baixa amplitude), enquanto nas fêmeas a liberação é do tipo agudo (alta frequência e alta amplitude em uma fase do ciclo estral).

7. DIFERENCIAÇÃO SEXUAL PÓS-NATAL

Apesar do animal ao nascer apresentar as características de genitália externa de macho ou fêmea, ele ainda vai passar por uma outra fase de diferenciação sexual – a puberdade – que ocorrerá em diferentes idades dependendo da espécie animal. Por ser a puberdade um assunto bastante amplo, vamos abordá-lo em um capítulo à parte.

VOCÊ SABIA?

Nas drosófilas, o sexo é determinado na presença do cromossomo X e cromossomos autossômicos. O cromossomo Y só terá função no final da espermatogênese.

Os nematódios não possuem o cromossomo sexual Y, somente o X. Assim, indivíduos XX são fêmeas (hermafroditas) e indivíduos X são machos. As hermafroditas podem produzir espermatozoides para se autofecundarem na ausência de machos e na presença deles, a ovogênese retorna.

VOCÊ SABIA?

Em alguns peixes a diferenciação sexual segue um estímulo visual! Esses peixes vivem em cardumes de cerca de 20 fêmeas, comandadas por um macho, distinto das fêmeas fenotipicamente (cor, aspecto físico, tipos de nadadeiras, órgãos sexuais, gônadas). Quando este macho é retirado do cardume, uma fêmea, para manter o equilíbrio da espécie, em alguns dias sofre todas as transformações para sexo masculino e passa a comandar o cardume.

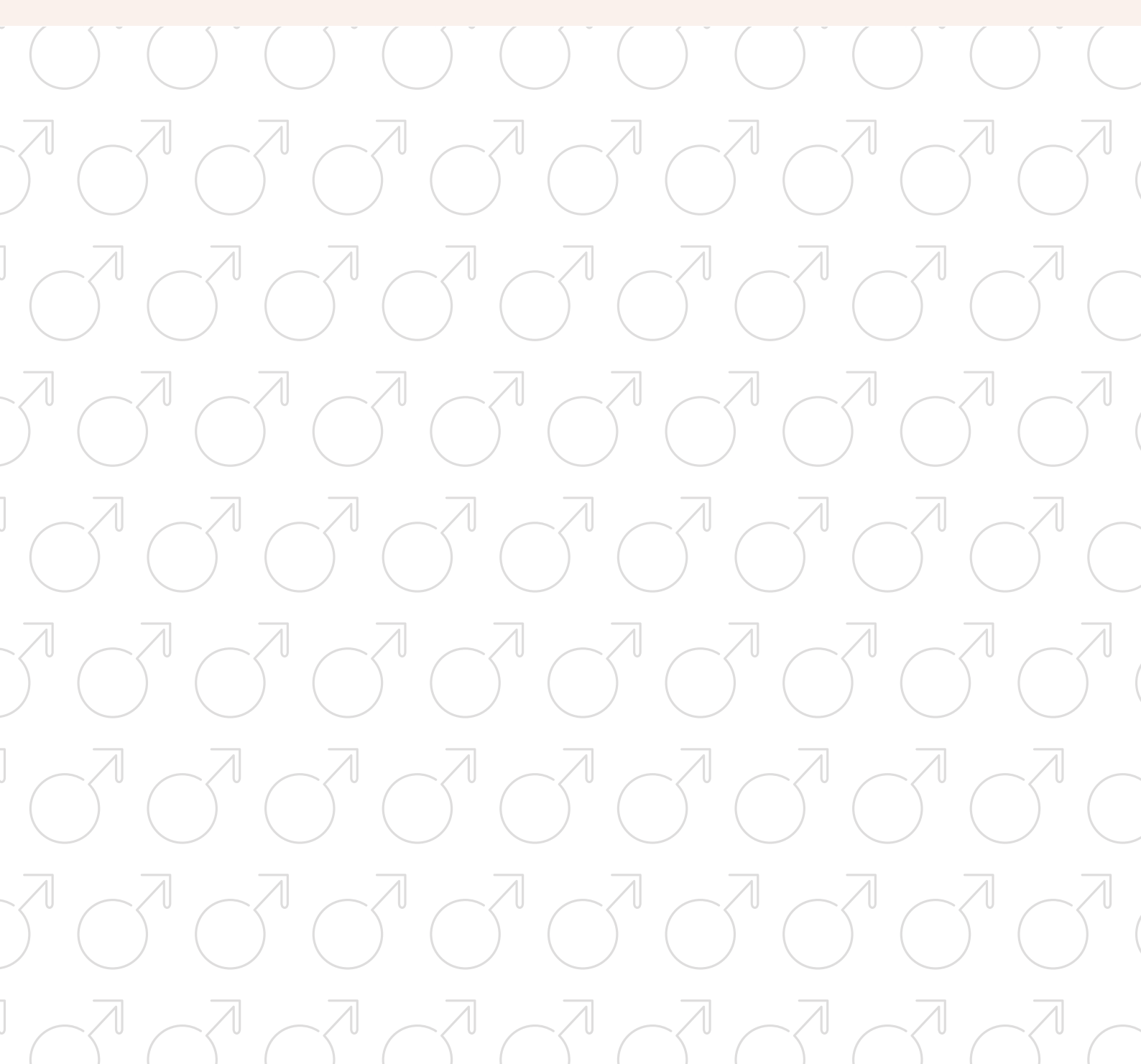
8. CONCLUSÃO

Embora muitos eventos que participam do processo de desenvolvimento sexual normal não estejam elucidados, está estabelecido que a determinação do sexo gonadal é a fase crucial e dela dependerão as demais fases da diferenciação sexual durante a vida fetal e pós-fetal. Para que a diferenciação sexual evolua sem distúrbios, cada uma das fases tem que ocorrer no momento certo. Qualquer alteração na cronologia de expressão das fases pode levar ao inadequado desenvolvimento de fases subsequentes.

9. RESUMO

O processo de determinação e diferenciação sexual é dividido em várias etapas:

- A determinação do sexo cromossômico, que é estabelecida na fertilização: “diferenciação genética”.
- A diferenciação das gônadas em testículos ou em ovários: “diferenciação gonadal”.
- A diferenciação da genitália interna e externa masculina ou feminina a partir de estruturas indiferenciadas é dependente da presença ou ausência de testículos: “diferenciação da genitália”.
- A diferenciação sexual cerebral é outra fase da diferenciação e no macho necessita do aporte da testosterona produzida no testículo: “diferenciação cerebral”.
- A diferenciação sexual secundária é a resposta de vários tecidos aos hormônios produzidos pelas gônadas para completar o fenótipo sexual.



2

Anatomofisiologia do Sistema Genital dos Machos

***Autores: Eduardo Kenji Nunes Arashiro
Marc Henry***

META DO CAPÍTULO

Avaliar e diagnosticar alterações do sistema genital masculino.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Conhecer a função de cada órgão do sistema genital.
- Identificar as diferenças entre as espécies.
- Entender a importância de conhecer estas diferenças na hora de avaliar um animal.

1. INTRODUÇÃO

Como estamos propondo alargar nossos conhecimentos sobre a “**Andrologia**” dos animais domésticos, é necessário começar conhecendo o órgão ao qual esta área do conhecimento está relacionada. Conhecer as estruturas que compõem o sistema genital do macho, ou seja, a anatomia, é imprescindível para fazer um exame clínico adequado. Além disto, é também essencial conhecer qual é a função de cada componente do sistema, pois é do perfeito funcionamento de cada parte que depende a eficiência de um reprodutor. Portanto, é também foco deste capítulo abordar alguns aspectos da fisiologia reprodutiva. Não se esqueça, conhecer a fundo a anatomofisiologia é a base para o sucesso do seu trabalho em andrologia!

INTERESSANTE!

Anatomia - palavra de origem grega - significa separação ou dissociação de partes do corpo. É o ramo da biologia que estuda a forma e a estrutura dos organismos e está em íntima relação com a fisiologia.

2. SISTEMA GENITAL DO MACHO

O sistema genital do macho pode ser comparado a uma “FÁBRICA” cujas metas são a produção e a deposição no sistema genital feminino de espermatozoides com capacidade de fecundar o óvulo.

Várias estruturas compõem o sistema genital masculino e cada uma delas tem uma função especial. O entendimento de cada um dos segmentos é importante, pois é do perfeito funcionamento do todo que resulta o cumprimento das metas. De forma resumida pode-se dizer que: o “escroto” permite que os testículos fiquem alojados em uma temperatura menor do que a corporal; “os testículos” são os responsáveis pela produção de espermatozoides; “os epidídimos” proporcionam aos espermatozoides a capacidade de se locomoverem e de serem férteis – processo denominado maturação espermática – e serve de local para armazenamento (cauda do epidídimo). A ligação destas estruturas com o resto do corpo é feita pelos “cordões espermáticos”, que têm duas funções principais: a de auxiliar na termorregulação e de transportar os espermatozoides até a uretra. Adicionalmente, existem “as glândulas acessórias”, que produzem os fluidos que compõem o líquido seminal; o órgão copulador, “o pênis” que se exterioriza pelo “prepúcio”. Todas estas estruturas atuam de forma coletiva e sincronizada para produzir e liberar espermatozoides férteis.

É interessante notar que desde a produção até à ejaculação, os espermatozoides transitam por uma série sucessiva de túbulos, iniciando nos túbulos seminíferos onde são produzidos, passando pelos túbulos retos e, na sequência, pelos ductos eferentes, ducto epididimário, ducto deferente, e finalmente pela uretra.

Para entender melhor a distribuição dos diferentes órgãos que compõem o aparato genital do macho, dê uma olhada na seguinte figura (Figura 1), lembrando que diferenças anatômicas podem ser encontradas entre algumas espécies animais. Esse tema será objeto de nosso estudo ainda neste capítulo.

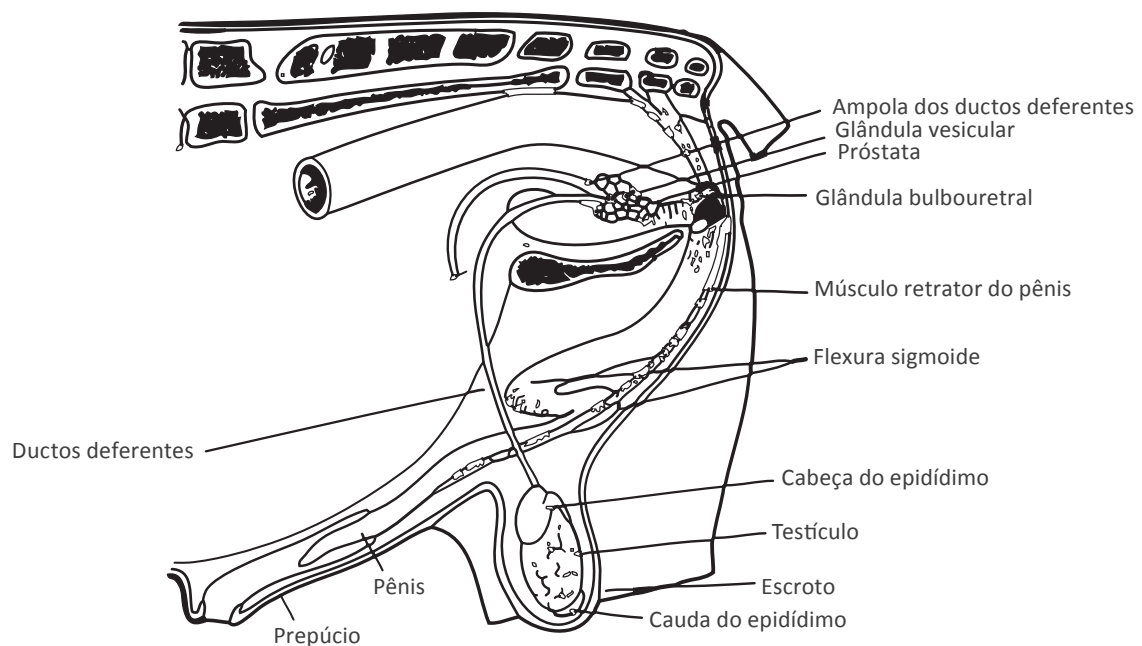


Figura 1. Aparato genital do macho. [Fonte: Modificado de Hafez (2000) apud Popesko (1968)]

2.1 ESCROTO

O escroto é uma extensão da pele que aloja os testículos e que pode ser totalmente lisa (ex: equinos) ou, dependendo da espécie, pode ter uma quantidade variável de pêlos.

É composto por quatro camadas: a pele, a túnica dartos, a fáscia escrotal e a túnica vaginal parietal. Adicionalmente, é interessante saber que a pele do escroto apresenta um grande número de glândulas sudoríparas inervadas pelo sistema simpático. A túnica dartos é uma camada composta de fibras musculares localizadas logo abaixo da pele e a túnica vaginal parietal é a porção mais interna do escroto.

A localização do escroto varia entre espécies (Figura 2). Nas espécies bovina, ovina e caprina é mais penduloso e afastado do abdômen. Nas espécies canina, suína e felina, a sua localização é mais próxima do corpo, perto do períneo.

ATENÇÃO!

É fundamental para a maioria das espécies de animais domésticos e para que a espermatogênese possa ocorrer normalmente que a temperatura dos testículos seja de 4 a 6° C abaixo da temperatura corporal!

Além da função de suporte e proteção dos testículos, o escroto está diretamente envolvido no processo de termorregulação do testículo. Qualquer elevação na temperatura corporal do animal é prontamente detectada pelo hipotálamo, que estimula a produção de suor pelas glândulas sudoríparas presentes no escroto permitindo, dessa forma, a perda de calor por evaporação. Este mecanismo neurológico também está diretamente ligado ao centro respiratório cerebral.

Em carneiros, a elevação da temperatura escrotal causa um aumento na frequência respiratória, uma das principais formas de dissipação de calor nesta espécie. A túnica dartos (musculatura lisa) tem como função se contrair em dias de baixas temperaturas, aproximando os testículos do corpo do animal e evitando uma redução acentuada da temperatura dos testículos, e se relaxar nos dias de muito calor para afastar os testículos do corpo. O relaxamento também aumenta a área de superfície do escroto, o que permite uma perda de calor mais eficiente. O excesso de gordura na região escrotal prejudica o controle da temperatura testicular. Em carneiros lanados, a bolsa escrotal pode ficar oculta pela lã, dificultando a dissipação de calor em dias mais quentes.

2.2 TESTÍCULOS - LOCAL DE PRODUÇÃO DOS ESPERMATOZOIDES

Para que a espermatogênese seja normal, o testículo precisa estar a uma temperatura inferior à do corpo, por isso, na maioria das espécies de animais domésticos, eles estão fora do abdômen. Veja a figura 2 e compare a posição e os planos de inclinação dos testículos nas diferentes espécies.

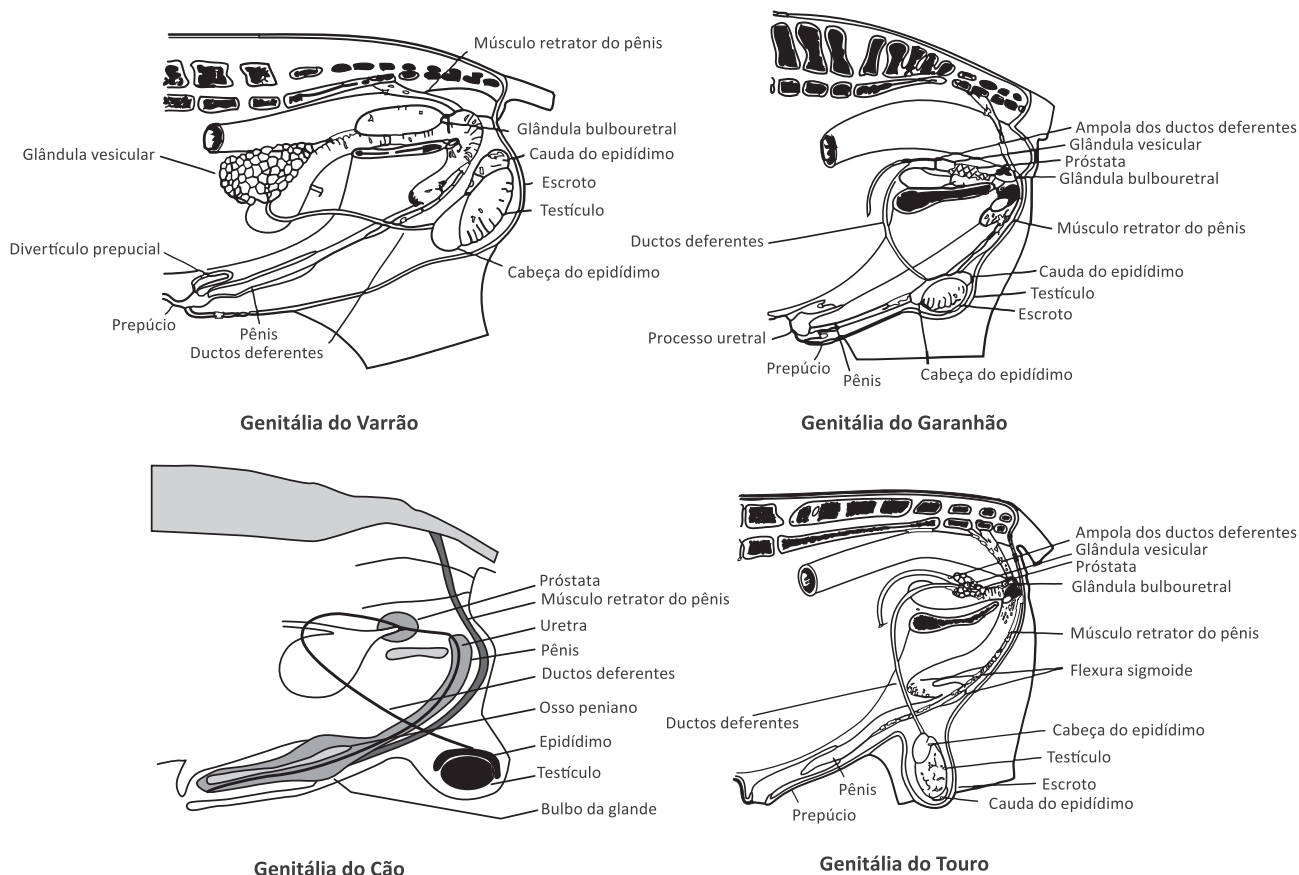
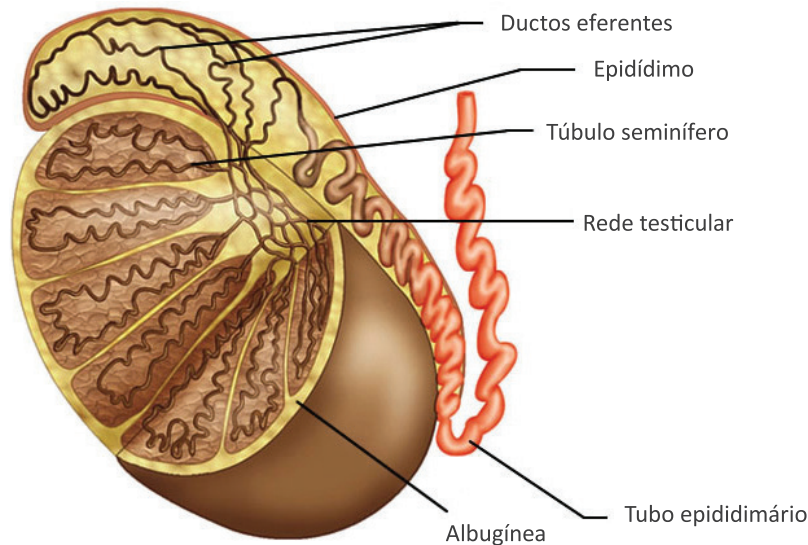


Figura 2. Localização dos órgãos reprodutores nos suínos, equinos, caninos e bovinos. [Fonte: Modificado de Hafez (2000) apud Popesko (1968)]

A forma testicular varia de globosa a ovoide, existindo uma variação discreta entre as espécies. Cada espécie tem um tamanho testicular característico, existindo até diferença entre raças, mas é importante saber que o tamanho testicular de animais adultos varia entre indivíduos. Um parâmetro interessante de reter é que “em condições de normalidade, indivíduos de uma mesma raça com testículos maiores têm a capacidade de produzir mais espermatozoides”. Esta característica tem que ser considerada como uma vantagem quando o foco é avaliar o potencial reprodutivo de um animal!

A estrutura dos testículos é semelhante em todas as espécies domésticas. A parte mais externa do testículo é formada por uma cápsula composta por duas camadas: a túnica vaginal visceral e a túnica albugínea. Esta última apresenta projeções digitiformes que convergem para uma região mais central chamada de mediastino. A túnica albugínea, além de tecido conjuntivo, tem fibras musculares lisas e por ela se distribuem os vasos sanguíneos, linfáticos e inervação que adentram o testículo. O espaço entre cada projeção da albugínea compõe os lóbulos que são preenchidos por longas e espiraladas estruturas tubulares denominadas túbulos seminíferos, onde os espermatozoides são formados (ver capítulo de Espermatogênese). O espaço existente entre os túbulos é preenchido pelo tecido intersticial, onde estão localizados os vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervos, tecido conjuntivo e as células de Leydig que produzem a testosterona.

Veja os diagramas para entender melhor (Figura 3). Saiba que em todas as espécies o parênquima testicular é ocupado predominantemente pelos túbulos seminíferos e uma pequena parte corresponde ao tecido intersticial. A proporção ocupada por cada um varia de espécie para espécie.



VOCÊ SABIA?

O número de túbulos seminíferos por testículo pode variar de 20 no camundongo (2 metros de comprimento), a várias centenas ou alguns poucos milhares no suíno doméstico (aproximadamente 3000 metros de túbulos no total). A extensão de todos eles em conjunto pode chegar entre 10 e 15 metros por grama de testículo nas espécies domésticas!

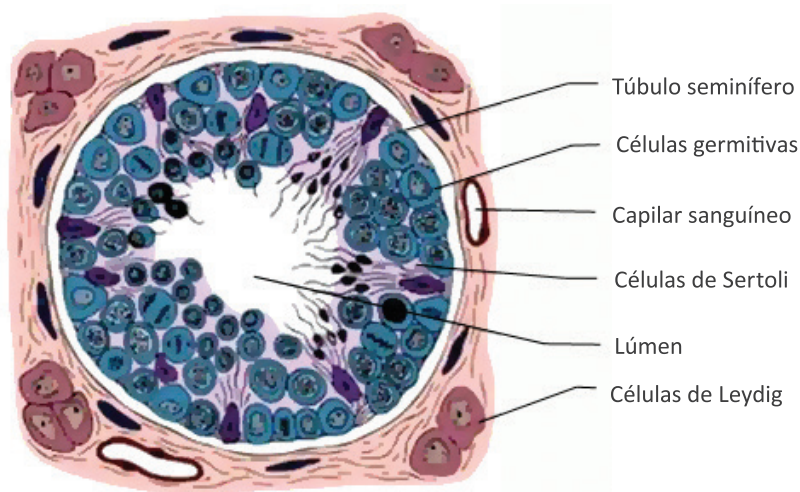


Figura 3. Anatomia do testículo e do túbulo seminífero. [Fonte: Adaptado de - <http://aprenderbiologiacomapauleasuzi.blogspot.com.br/2009/10/sistema-reprodutor-masculino-este.html>]

Vamos entender com mais detalhes como é composto um túbulo, pois como já foi citado, é aqui que os espermatozoides serão produzidos. Para melhor entender, vamos considerar um corte transversal de um túbulo que, se feito perpendicular ao seu eixo longitudinal, vai resultar na formação de um círculo. Na parte externa, o círculo é todo recoberto pela membrana basal sendo a barreira entre o interstício e as células que compõem os túbulos.

Ancoradas na membrana basal, na parte interna do túbulo, encontram-se distribuídas as células de Sertoli. As células de Sertoli são grandes e se estendem da base do túbulo até próximo ao lúmen em camada única e estão distribuídas em todo perímetro do círculo e em toda extensão do túbulo. Elas é que sustentam, nutrem e comandam as mudanças que devem ocorrer nas células germinativas. Devido à função de sustentação, as células de Sertoli ajustam a sua forma para abrigar as células da linhagem germinativa que mudam de tamanho em função do seu estado de desenvolvimento.

Outro conceito importante de se fixar é que do conjunto de células da linhagem espermática, as mais indiferenciadas (espermatoogônias), estão próximas da base do círculo e mais próximos ao lúmen estão as mais diferenciadas (espermatoócitos primário e secundário,

espermátides ou espermatozoides). Durante o desenvolvimento e diferenciação, as células saem da base do círculo e são deslocadas em direção ao lúmen.

É importante também saber que a parte interna do círculo é dividida em três compartimentos: o basal, o adluminal e o lúmen propriamente dito. Os dois primeiros dividem a camada celular em dois compartimentos. Mais próximo da base do círculo estão as células ainda com número de cromossomas igual a $2n$ (espermatogônias indiferenciadas até espermatogônias do tipo “B”) compondo o compartimento basal, enquanto as células que estão em fase de meiose ou que apresentam um número de cromossoma igual a n (espermátócito primário e secundário, espermátide e os espermatozoides) estão localizadas no compartimento denominado adluminal.

A plasticidade das células de Sertoli tem outra função: a de separar estes dois compartimentos através da junção intercitoplasmática (junções gap) originada pela justaposição de pequeno segmento de citoplasma de células de Sertoli adjacentes, na altura das células que vão iniciar a meiose. Estas junções ocorrem ao longo de todo círculo e se estendem por todo túbulo formando uma barreira conhecida como barreira hemato-testicular. Esta barreira permite a passagem das células germinativas, no entanto, não permite que substâncias de elevado peso molecular e os componentes do sistema imune tenham acesso ao compartimento adluminal. As células que estão no compartimento adluminal já não são reconhecidas como sendo próprias do organismo (células haploides) e se esta barreira for rompida, as mesmas serão atacadas pelo sistema imune do organismo podendo prejudicar a fertilidade do reprodutor.

Para melhor facilitar o seu entendimento, analise detalhadamente a figura 4 e conseguirá visualizar o que acabamos de falar.

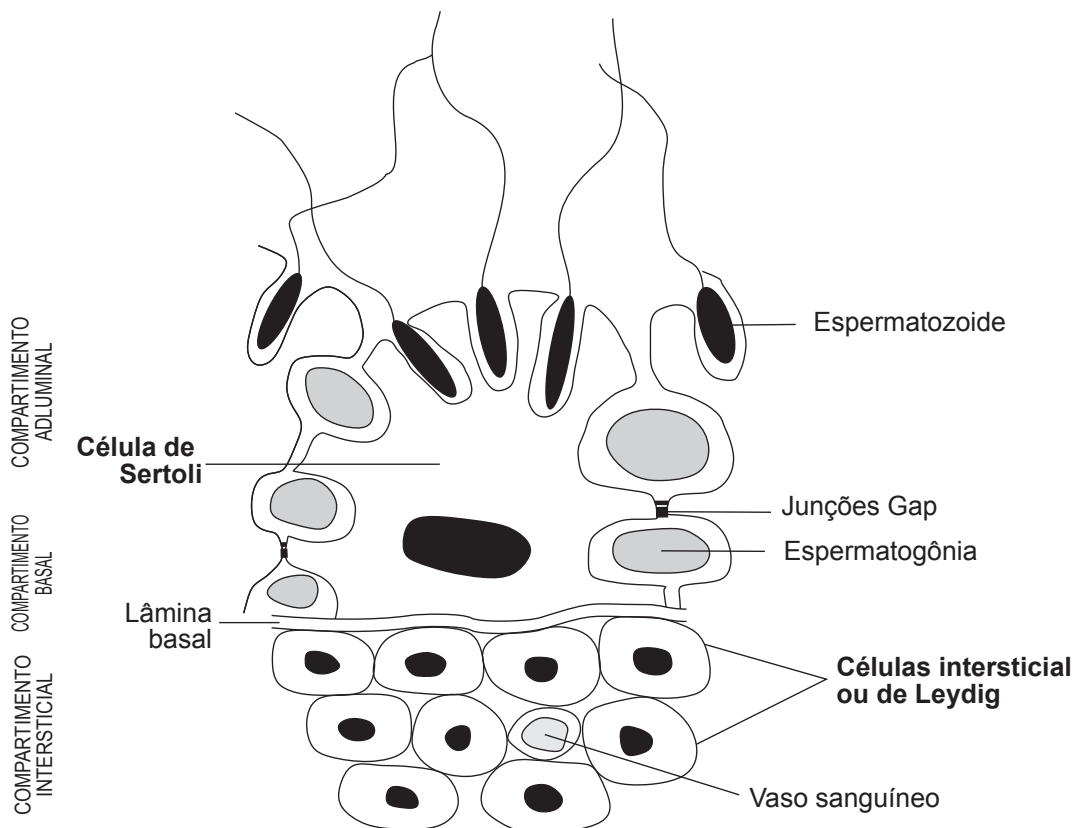


Figura 4. Túbulo seminífero. Compartimento intersticial e adluminal. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

Cada segmento dos túbulos seminíferos está em contínua modificação. O detalhamento sobre estas mudanças será abordado no capítulo de Espermatogênese.

Após a sua liberação no lúmen dos túbulos, os espermatozoides são conduzidos em meio a um fluido produzido pelas células de Sertoli até outra estrutura tubular localizada no mediastino testicular, denominado de túbulo reto. O mediastino testicular apresenta um tecido conjuntivo denso que evita o colapamento dos túbulos retos, permitindo assim, o contínuo fluxo de espermatozoides. Os túbulos retos se transformam na rede testicular (*rete testis*), e na sequência nos ductos eferentes (em número variável dependendo da espécie), que gradativamente se juntam para no final formarem o ducto epididimário.

LEMBRE-SE:

A contratilidade da camada mioepitelial dos túbulos seminíferos e da cápsula testicular estimulada por andrógenos e alguns neurotransmissores ajudam no transporte de espermatozoides até o epidídimo.

2.3 EPIDÍDIMOS - LOCAL DA MATURAÇÃO ESPERMÁTICA

Quando os espermatozoides saem do testículo e entram no epidídimo, ainda não têm a capacidade de fertilizar e nem têm mobilidade, mas quando saem do epidídimo, estas duas funções estão normalizadas.

Os epidídimos estão fortemente unidos aos testículos e podem ser divididos em três regiões distintas: a cabeça, o corpo e a cauda. A localização de cada um dos três segmentos pode variar de plano dependendo da espécie que estamos considerando. Por exemplo, em bovinos, ovinos e caprinos, a cabeça do epidídimo está firmemente aderida à região apical (superior) do testículo, o corpo localiza-se na região medial e se estende até a cauda do epidídimo, que é uma projeção cônica mais frouxamente ligada ao testículo e localizada na sua região inferior. A cabeça, e mais particularmente, o corpo do epidídimo são mais dificilmente identificáveis pela palpação do que a cauda.

A cabeça e o corpo do epidídimo apresentam um epitélio simples contendo, predominantemente, dois tipos celulares: as células principais, que são colunares e altas, e as células basais, que são poligonais e curtas. Além destes dois tipos celulares podemos observar as células apicais, as células denominadas “clear” e células de defesa como linfócitos e macrófagos. Na cauda é encontrado um epitélio do tipo pseudoestratificado onde a altura das células principais diminui e a camada de músculo liso que envolve todo o epidídimo se torna mais espessa.

Você está lembrado de que foi dito que os espermatozoides, ao saírem dos testículos, não têm a capacidade fecundante nem são capazes de se movimentarem, pois é nos epidídimos, particularmente na cabeça e no corpo, que os espermatozoides passam por um processo de mudanças que ao final lhes confere estas duas funções. Este processo é denominado de *maturação espermática*. No trânsito do testículo para o ducto epididimário, grande parte do líquido proveniente dos túbulos seminíferos e que carrega os espermatozoides é absorvido nos ductos eferentes.

VOCÊ SABIA?

O epidídimo é constituído de apenas um túbulo altamente contorneado e que pode ter, dependendo da espécie, de 30 a 70 metros de comprimento.

A maturação espermática é um processo bastante complexo e, de forma bastante simplificada, pode-se dizer que é a resultante de uma troca continuada de moléculas ou substâncias, como por exemplo, glicoproteínas e enzimas produzidas pelos diferentes tipos celulares do epidídimo e os espermatozoides. A cauda do epidídimo é responsável pelo armazenamento dos espermatozoides maduros até o momento da ejaculação. Para mais detalhes, veja o capítulo sobre “Maturação e Capacitação Espermática, Reação Acrossômica e Fertilização”.

É importante lembrar que não há absorção de espermatozoides nos epidídimos. Se o animal permanecer em repouso sexual por um longo período, os espermatozoides que excederem a capacidade do armazenamento da cauda são removidos até a uretra pélvica por contrações periódicas das caudas e dos ductos deferentes, levando-os até a uretra e eliminando-os durante a micção.

2.4 DUCTOS DEFERENTES E AMPOLAS DOS DUCTOS DEFERENTES – A LIGAÇÃO ENTRE A CAUDA DO EPIDÍDIMO E A URETRA

Os ductos deferentes são estruturas tubulares que partem das caudas dos epidídimos (um em cada cauda) e ascendem pela borda medial dos testículos, lateralmente ao corpo do epidídimo. Na sua porção final, na região pélvica, os ductos deferentes se dilatam e dão origem às ampolas dos ductos deferentes (uma das glândulas anexas - ver seção específica). Estas são bastante evidentes nos ruminantes, equinos e caninos e pouco evidentes nos suínos e felinos. A terminação dos ductos deferentes é diferente entre as espécies domésticas.

Nos bovinos, ovinos e equinos, os ductos deferentes se juntam ao ducto excretor das glândulas vesiculares para darem origem ao ducto ejaculatório, que termina na uretra pélvica. Nos suínos, os ductos deferentes e as glândulas vesiculares drenam separadamente na uretra pélvica. Em cães e gatos, como não apresentam as glândulas vesiculares, os ductos deferentes desembocam diretamente na uretra pélvica.

Semelhante ao observado na cauda do epidídimo, o epitélio dos ductos deferentes é colunar pseudoestratificado, apresentando células principais curtas. Os ductos deferentes são circundados por uma camada de músculo liso bem desenvolvida e, externamente a esta camada, há uma segunda camada de músculo liso orientada no eixo longitudinal do ducto. Na ampola do ducto deferente observa-se a formação de glândulas túbulo-alveolares na região da submucosa.

Durante o processo de ejaculação, os espermatozoides saem do epidídimo e chegam até a uretra pélvica através dos ductos deferentes. A função da ampola do ducto deferente ainda não está completamente esclarecida, mas com certeza participa ativamente no processo da ejaculação.

2.5 GLÂNDULAS SEXUAIS ACESSÓRIAS – FONTE DE SECREÇÕES, PARTES INTEGRANTES DO EJACULADO

As glândulas sexuais acessórias estão localizadas na pelve, fazem parte as ampolas dos ductos deferentes (já descritas, $n=2$), as glândulas vesiculares ($n=2$), a próstata e as glândulas bulbouretrais ($n=2$). Olhe na figura 2 a localização de cada uma delas para as espécies suína, equina, canina e bovina.

Nem todas as espécies de animais domésticos possuem todas as glândulas, assim como a forma e os tamanhos variam de espécie para espécie. Veja no Quadro 1 a seguir as glândulas que cada espécie possui.

Quadro 1 - Glândulas sexuais acessórias encontradas em varias espécies animais				
Espécie	Ampolas	Glândulas Vesiculares	Próstata	Glândulas Bulbouretrais
Bovino	+	+	+	+
Ovinos	+	+	+	+
Caprinos	+	+	+	+
Equinos	+	+	+	+
Suínos	+	+	+	+
Caninos	+	-	+	-
Felinos	+	-	+	+

+ Presente

- Ausente

2.5.1 GLÂNDULAS VESICULARES

As glândulas vesiculares, anteriormente conhecidas como vesículas seminais, são duas glândulas localizadas dorso-cranialmente em relação à uretra pélvica e lateralmente em relação às ampolas. São glândulas relativamente grandes, ausentes nos carnívoros (cães e gatos). Nos ruminantes, a superfície das glândulas vesiculares tem aspecto lobulado, irregular e de grandes dimensões (10 a 15 cm x 3 a 5 cm, em bovinos; e 2,5 a 4 cm x 2 a 2,5 cm nos pequenos ruminantes).

As glândulas vesiculares dos suínos também são lobuladas e proporcionalmente são maiores (12 a 17 cm x 6 a 8 cm), constituindo duas massas piramidais. Em função da grande dimensão destas glândulas nos suínos, apenas a porção caudal está localizada no interior da cavidade pélvica. O restante da glândula localiza-se na cavidade abdominal projetando-se além da bexiga. Nos equinos, as glândulas vesiculares apresentam um formato piriforme e alongado, e tem superfície lisa (1,5 a 2,0 cm x 5cm).

O epitélio desta glândula é colunar pseudoestratificado e a secreção produzida compõe grande parte do plasma seminal. Elas são responsáveis pela secreção de uma grande quantidade de açúcar (frutose), utilizada pelo espermatozoide como fonte de energia, e também de inúmeras proteínas.

VOCÊ SABIA?

Durante a estimulação sexual do garanhão as glândulas vesiculares podem duplicar de tamanho e são responsáveis pela produção do gel presente no ejaculado!

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

2.5.2 PRÓSTATA

A próstata está presente em todas as espécies de mamíferos domésticos e está localizada ao redor da uretra pélvica, próximo à bexiga. Anatomicamente, pode ser dividida em duas partes: uma mais externa denominada de corpo (*corpus prostatae*) e uma mais interna denominada disseminada (*pars disseminata*).

A próstata dos touros é bilobulada e localiza-se na superfície dorsal da uretra formando uma estrutura curta e larga (1 cm de comprimento por 4 cm de largura). Os pequenos ruminantes apresentam somente a porção disseminada na uretra. Nos suínos, o corpo da próstata é relativamente pequeno, sendo a *pars disseminata* maior e localizada ao redor da uretra sendo coberta pelo músculo uretral.

O garanhão não apresenta a porção disseminada na uretra, apenas o corpo. É bem grande (5 a 9 cm de comprimento) e situa-se entre o colo da bexiga e o início da uretra. O corpo prostático é caracterizado por dois lobos laterais que se estendem cranialmente ao longo da margem caudolateral da glândula vesicular. Os dois lobos laterais são unidos por um istmo estreito que cruza a superfície dorsal da uretra. No cão, a próstata é relativamente grande e forma uma massa compacta ao redor da uretra e do colo da bexiga. Próxima à mucosa uretral está presente a porção disseminada da próstata, que é pequena e dispersa.

LEMBRE-SE:

No cão, a próstata é considerada a principal glândula sexual acessória e é responsável pela produção da maior parte do plasma seminal.

2.5.3 BULBOURETRAIS

As bulbouretrais são glândulas pares localizadas lateralmente à uretra pélvica e próximo ao arco isquiático. São glândulas pequenas e achatadas dorso-ventralmente. No touro, medem aproximadamente 3 cm x 2 cm, sendo a parte proximal coberta pelo músculo bulboesponjoso, portanto, não pode ser palpado por via retal. Nos pequenos ruminantes medem aproximadamente 1 cm de diâmetro. Nos gatos são muito pequenas (5 mm de diâmetro) e estão localizadas caudalmente à próstata. Os cães não apresentam estas glândulas.

As glândulas bulbouretrais nos garanhões situam-se dorsalmente à uretra na saída da pelve e apresentam aproximadamente 4 cm de comprimento. Nos suínos são notáveis pelo seu tamanho e formato. São cilíndricas e longas e medem aproximadamente 15 x 2 a 3 cm. Cada glândula tem um ducto excretor que sai da parte caudal da glândula e se abre na uretra.

O epitélio das glândulas bulbouretrais é do tipo túbulo-alveolar e a secreção destas glândulas, na maioria das espécies, limpa a uretra peniana momentos antes da ejaculação e servem como lubrificante do canal vaginal, já que sua secreção aquosa é liberada antes do ejaculado principal.

LEMBRE-SE:

Em suínos, as glândulas bulbouretrais são responsáveis pela produção do gel presente no ejaculado.

O plasma seminal é formado a partir das secreções provenientes dos epidídimos e das glândulas sexuais acessórias. Sua função é fornecer os nutrientes necessários para o metabolismo dos espermatozoides, prover substâncias importantes para o controle do processo de capacitação do espermatozoide, além de servir como um lubrificante uretral e como um veículo para o deslocamento dos espermatozoides no interior do trato genital feminino. A porção gelatinosa do ejaculado presente nos equinos e suínos forma um “tampão” no trato genital da fêmea evitando a perda de sêmen por refluxo.

2.6 CORDÕES ESPERMÁTICOS – ESTRUTURA DE SUSTENTAÇÃO DOS TESTÍCULOS

O cordão espermático é uma estrutura que se estende do anel inguinal até o testículo. Nas espécies onde os testículos são mais pendulosos, como nos ruminantes, o cordão espermático é mais desenvolvido. Nesta estrutura passam a artéria e as veias testiculares, os vasos linfáticos, nervos, o músculo cremaster (musculatura estriada), o ducto deferente e a túnica vaginal parietal e visceral. Uma boa parte do cordão espermático é ocupado por uma estrutura denominada plexo pampiniforme. O plexo pampiniforme consiste em uma rede vascular composta pela artéria e veias testiculares. A artéria testicular surge como um ramo da aorta abdominal, ao passar pelo anel inguinal se torna convoluta e é envolvida pelas veias.

O plexo pampiniforme permite o resfriamento do sangue arterial que desce até os testículos (resfriamento por contracorrente), mantendo a temperatura dos testículos adequada para a espermatogênese. As veias que drenam os testículos apresentam uma maior concentração de testosterona que por gradiente de concentração passam para a artéria testicular. Portanto, além da troca de temperatura, esta íntima relação entre a artéria e a veia testicular permite a recirculação da testosterona nos testículos.

O músculo cremaster tem a função de sustentação dos testículos e participa diretamente da termorregulação testicular. A contração e o relaxamento deste músculo provocam uma ação de bomba, facilitando a circulação do sangue no plexo pampiniforme, principalmente o sangue venoso.

2.7 PÊNIS - ÓRGÃO COPULATÓRIO

Dependendo da espécie, o pênis pode ser constituído predominantemente de tecido fibroelástico ou predominar um tecido cavernoso. Três partes constituem o pênis: a raiz, o corpo e a glândula. A raiz ou base do pênis é a porção que se liga ao arco isquiático. Associado à raiz do pênis está o músculo bulboesponjoso e as contrações deste músculo promovem a limpeza da porção extrapélvica da uretra. Além deste músculo, outros dois estão associados ao pênis, o músculo retrator do pênis e o isquiocavernoso. Este primeiro, como o próprio nome sugere, permite a exposição do pênis quando está relaxado e, ao se contrair, faz com que o pênis volte para o interior do prepúcio após a ereção. O músculo isquiocavernoso, por sua localização na raiz do pênis, contribui para manter a ereção comprimindo as veias dorsais localizadas no pênis. No corpo do pênis está localizada a uretra (centralmente), dorsalmente observamos o corpo cavernoso e ventralmente o corpo esponjoso, ambos apresentam tecido erétil.

A glândula do pênis é a porção mais distal do pênis (extremidade livre) onde estão presentes

terminações nervosas. A estimulação destas terminações é o fator primário que inicia o processo de ejaculação. A glândula tem múltiplos formatos nas diversas espécies.

Durante a excitação, este tecido se enche de sangue tornando o pênis mais rígido permitindo a intromissão do pênis na vagina da fêmea. Além de órgão copulatório, ele é utilizado durante a micção.

O detalhamento das características penianas por espécie é dado abaixo. Veja como as diferenças são bastante acentuadas em função das espécies.

a) Ruminantes

Nos ruminantes, o corpo do pênis é mais ou menos circular e apresenta a túnica albugínea bem desenvolvida. Devido a esta característica, estes animais apresentam um pênis classificado como fibroelástico. Desta forma, apresentam certa rigidez mesmo quando não está em estado de ereção. Entretanto, é possível observar aumento peniano causado pelo preenchimento do tecido erétil por sangue. Ao longo do corpo do pênis dos ruminantes observa-se a flexura sigmoide, que é a região do corpo do pênis que apresenta um formato em “S”. Esta disposição permite a retração do pênis para dentro do prepúcio. Na flexura sigmoide observa-se a inserção do músculo retrator do pênis. Durante a cópula este músculo relaxa permitindo a exposição do pênis.

A glândula do pênis é encurvada ventralmente e ligeiramente espiralada. Nos pequenos ruminantes, a uretra se projeta aproximadamente 2 a 3 cm (bodes) e 3 a 4 cm (carneiros), além da glândula. Esta projeção, denominada processo uretral ou apêndice vermiforme, é erétil e sustentada por dois cordões fibrosos. Durante a ejaculação o processo uretral gira rapidamente projetando o sêmen na porção anterior da vagina.

b) Suínos

Assim como nos ruminantes, os suínos apresentam um pênis fibroelástico e também possuem a flexura sigmoide. Uma característica muito marcante do pênis suíno é o formato da glândula. A glândula do pênis do suíno é torcida em seu eixo longitudinal dando à glândula um aspecto de “saca-rolha”. Este formato é fundamental para o correto encaixe na cérvix da porca.

c) Equinos

Ao contrário do observado nos ruminantes e suínos, o pênis dos equinos apresenta um corpo cavernoso bastante desenvolvido, sendo assim, o aumento e enrijecimento peniano são devidos, principalmente, ao preenchimento deste corpo cavernoso por sangue. Nesta espécie, a glândula do pênis apresenta um formato característico de cogumelo. A parte mais larga da glândula é denominada coroa, onde a parte terminal da uretra se projeta dentro de uma fossa.

d) Cães e Gatos

Nestas espécies, o corpo esponjoso termina prematuramente, pois sua parte distal é convertida em tecido ósseo (osso peniano). O osso peniano apresenta um sulco na face

ventral, onde está alojada a uretra (Figura 5). Desta forma, além de conferir ao pênis certo grau de enrijecimento para permitir a penetração na vulva da fêmea, o osso peniano tem a função de proteger a uretra. Além disto, no cão, posteriormente ao osso peniano, localiza-se o bulbo do pênis que ao ingurgitar durante a ereção auxilia na fixação do pênis na vagina e impede o refluxo de sêmen.

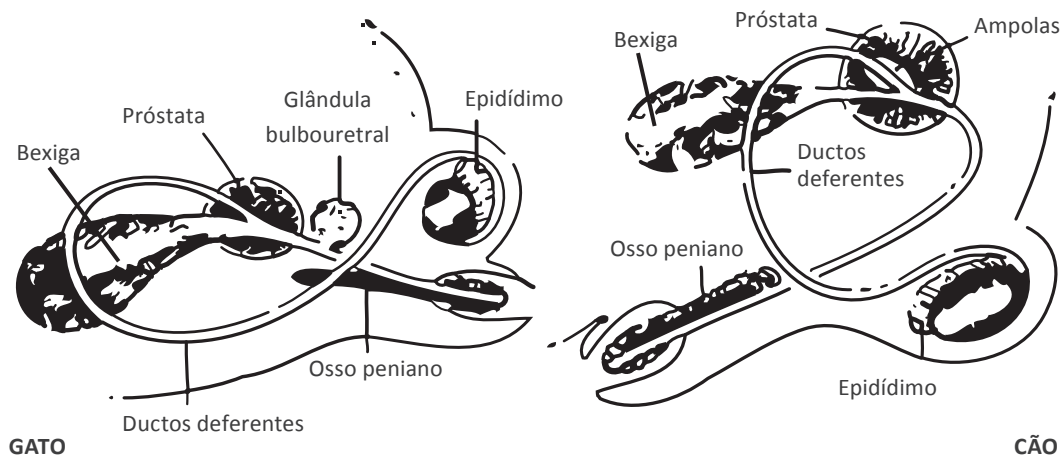


Figura 5. Esquema do sistema reprodutivo do gato e do cão. Mostrando as glândulas acessórias e a forma e localização do pênis nas duas espécies. [Fonte: Modificado de - http://www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/male%20reprod_2.htm]

Na espécie felina vamos observar características peculiares. A primeira e mais facilmente observada é a posição do pênis, que mantém sua posição embrionária com o ápice dirigido caudo-ventralmente. Outra característica do pênis dos gatos é a presença de espículas na glândula, que são papilas queratinizadas importantes para a estimulação da ovulação das fêmeas. Estas espículas são andrógeno dependentes, diminuindo sensivelmente em animais castrados.

2.8 PREPÚCIO

O prepúcio é uma dupla invaginação da pele do abdome inferior. É responsável por abrigar e cobrir a porção livre do pênis quando este não está em ereção. Na porção anterior do prepúcio observa-se o óstio prepucial, local por onde o pênis se exterioriza. A mucosa prepucial apresenta glândulas (glândulas prepuciais) cuja secreção, juntamente com a descamação do epitélio, formam o esmegma. Externamente, o prepúcio é coberto por uma camada de pele idêntica à observada no restante do corpo do animal.

Em bovinos, a cavidade prepucial é longa (aproximadamente 40 cm) e estreita. A porção cranial do prepúcio localiza-se logo atrás do umbigo. No orifício prepucial observa-se um tufo de pelos.

Em suínos, na porção mais cranial do prepúcio é possível observar o divertículo prepucial, que se localiza dorsalmente próximo ao óstio prepucial. Este divertículo consiste em uma bolsa que contém um líquido de odor específico, que tem a função de estimulação sexual para fêmeas (feromônios).

O prepúcio do equino é peculiar por ser dobrado com uma prega adicional que permite um considerável alongamento do pênis. O prepúcio do cão está suspenso abaixo do abdômen por uma prega de pele. Apresenta um aspecto irregular, pois sua porção parietal possui

CURIOSIDADE!

Nos bovinos de raças zebuínas o prepúcio é mais penduloso podendo dificultar a cópula, tornando-o mais propenso a lacerações quanto mais longo.

inúmeros linfonodos. Nos felinos, o prepúcio é mais espesso, porém mais curto e coberto de pelos.

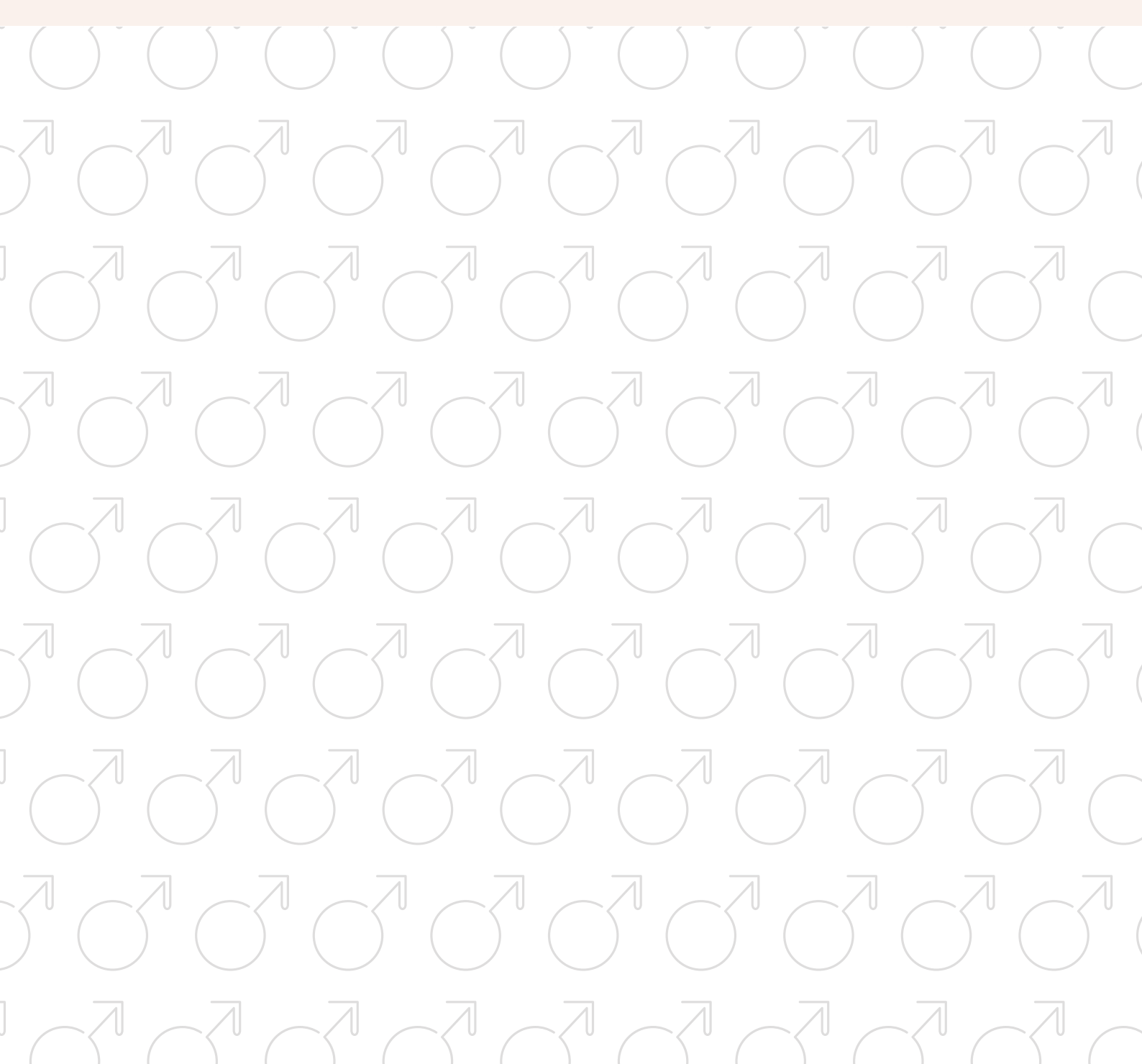
3. CONCLUSÃO

O aparelho reprodutor, sistema reprodutor ou sistema genital do macho é um sistema composto de várias estruturas, cada uma com função bastante específica, que trabalham em conjunto objetivando produzir e depositar no sistema genital feminino espermatozoides com plena capacidade fertilizante. A ideia neste segmento foi prover conhecimento mínimo em anatomofisiologia do sistema reprodutor dos machos. Caso você queira se especializar em um determinado segmento deste sistema ou atuar exclusivamente na área da andrologia saiba que inúmeras informações complementares estão disponíveis, é só pesquisar.

4. RESUMO

- O escroto é uma extensão da pele que aloja os testículos. É composto por quatro camadas: a pele, a túnica dartos, a fáscia escrotal e a túnica vaginal parietal.
- Os testículos são os encarregados da espermatogênese e na maioria das espécies de animais domésticos precisam estar abaixo da temperatura do corpo para exercerem sua função. Por causa disto, eles estão localizados fora do abdome, no entanto, a sua posição pode variar entre espécies.
- Os epidídimos estão unidos aos testículos e podem ser divididos em três regiões: cabeça, corpo e cauda. A localização destes segmentos pode variar entre espécies. Neste órgão, os espermatozoides passam por um processo chamado de maturação espermática, no qual adquirem capacidade de se movimentar e de fecundar.
- Os ductos deferentes partem da cauda do epidídimo, formam as ampolas e transportam os espermatozoides até a uretra. A terminação dos ductos deferentes é diferente entre espécies.
- As glândulas vesiculares produzem a maior parte do líquido seminal. Os caninos e felinos não têm esta glândula anexa.
- A próstata está presente em todas as espécies, sua forma e localização varia um pouco entre espécies. Este órgão participa na produção do líquido seminal.

- As glândulas bulbouretrais estão presentes em quase todas as espécies (os cães não possuem estas glândulas). A secreção produzida pelas glândulas bulbouretrais ajuda a limpar a uretra antes do ejaculado e também lubrifica o canal vaginal.
- O cordão espermático é composto pela artéria e veias testiculares (plexo pampiniforme), vasos linfáticos, nervos, o músculo cremaster, o ducto deferente e a túnica vaginal, parietal e visceral.
- O pênis é o órgão copulatório e é composto por três partes: a raiz, o corpo e a glândula.
- O prepúcio é responsável por abrigar e cobrir a porção livre do pênis.



3 *Controle Endócrino do Desenvolvimento Sexual do Macho*

*Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri
Marc Henry*

META DO CAPÍTULO

Identificar a função de cada hormônio envolvido no desenvolvimento sexual dos machos e conhecer a importância da interação entre eles.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Conhecer os locais de produção dos hormônios sexuais, seu mecanismo de ação e de controle.
- Identificar as diferentes fases do desenvolvimento sexual nos machos e as mudanças hormonais que ocorrem em cada um delas.
- Compreender a função de cada um dos hormônios no estabelecimento da espermatogênese.

1. INTRODUÇÃO

O sistema endócrino é constituído por um grupo de órgãos e tecidos que liberam substâncias chamadas “HORMÔNIOS”. Os hormônios são substâncias químicas secretadas por uma glândula endócrina, eles são liberados na circulação e exercem sua ação num tecido alvo.

A palavra “endócrino” significa “secreção interna”, enquanto que a palavra “hormônio” vem do grego “hormao”, que significa “eu estímulo”.

Os hormônios podem atuar de quatro formas diferentes:

- **Endócrina:** são transportados pela circulação sanguínea a outros tecidos distantes para exercer sua ação.
- **Parácrina:** atuam em células próximas, e não têm necessidade de se deslocar pela circulação sanguínea.
- **Autócrina:** atuam na própria célula que as secreta.
- **Neurócrina:** levam sinais entre neurônios (neurotransmissores).

Os hormônios neuroendócrinos são sintetizados por tecido nervoso e transportados no sangue até o órgão alvo.

A regulação e o controle de muitos dos principais hormônios seguem um padrão similar que inicia no cérebro e termina com a secreção de outro hormônio. A compreensão desse padrão é a chave para entender o funcionamento do sistema endócrino. Neste texto, porém, trataremos especificamente os hormônios relacionados à reprodução.

2. NEUROENDOCRINOLOGIA DA REPRODUÇÃO DO MACHO

2.1 HIPOTÁLAMO

O Hipotálamo é uma estrutura muito pequena, mas é uma parte extremamente importante do cérebro, já que está envolvido na regulação da função endócrina, na regulação da temperatura, no controle da alimentação, do comportamento sexual e reprodutivo, e no controle do ciclo circadiano e das respostas emocionais. Na reprodução, a sua principal função é a de produzir hormônios que controlam a liberação de hormônios desde a hipófise anterior.

O hipotálamo se encontra na base do cérebro, no diencéfalo. Ele constitui a parte inferior das paredes laterais e a base do terceiro ventrículo; anteriormente limita com o quiasma óptico, e na parte posterior, com os corpos mamilares. A parte central da sua base é lisa e arredondada e é denominada “tuber cinereum” e desta surge uma saliência em forma de funil, denominada infundíbulo. Esta região comumente é chamada de eminência média.

A eminência media é a parte onde ocorre uma ligação vascular entre os neurônios neurosecretores hipotalâmicos e a neuro-hipófise (Figura 1).

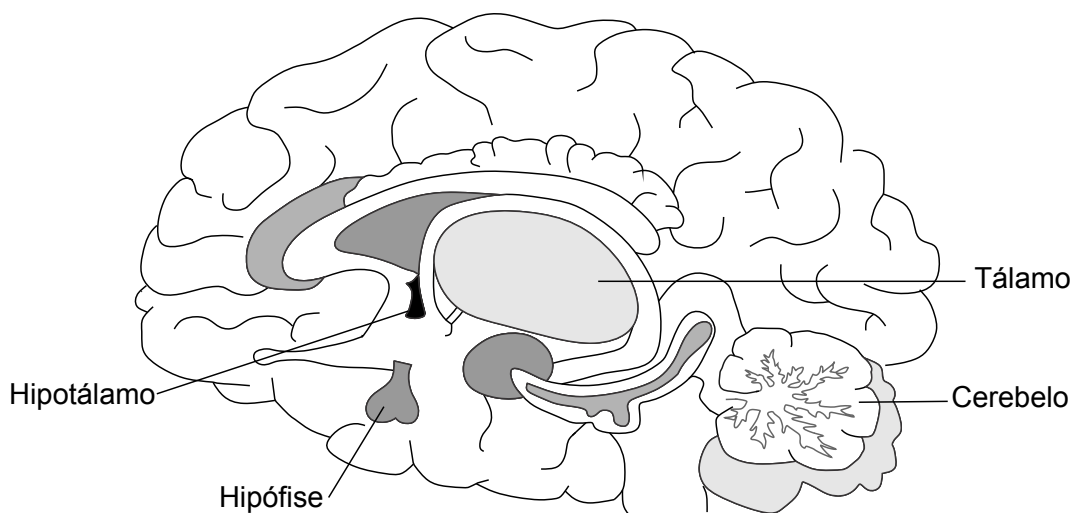


Figura 1. Localização do hipotálamo e a hipófise. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

O hipotálamo consiste em muitos neurônios especializados que sintetizam e secretam

neuro-hormônios, e que estão organizados em áreas específicas chamadas de “núcleos hipotalâmicos”. Cada núcleo produz diferentes neuro-hormônios que deslocam pelos axônios (parte do neurônio encarregado da condução dos impulsos nervosos) para serem liberados na corrente sanguínea no chamado sistema porta-hipofisário, o qual atua como um meio de transporte dos hormônios hipotalâmicos conduzindo-os até a hipófise para exercer a sua ação sobre esta glândula.

Para compreender melhor a estrutura do hipotálamo e a distribuição dos núcleos hipotalâmicos vejamos a figura 2:

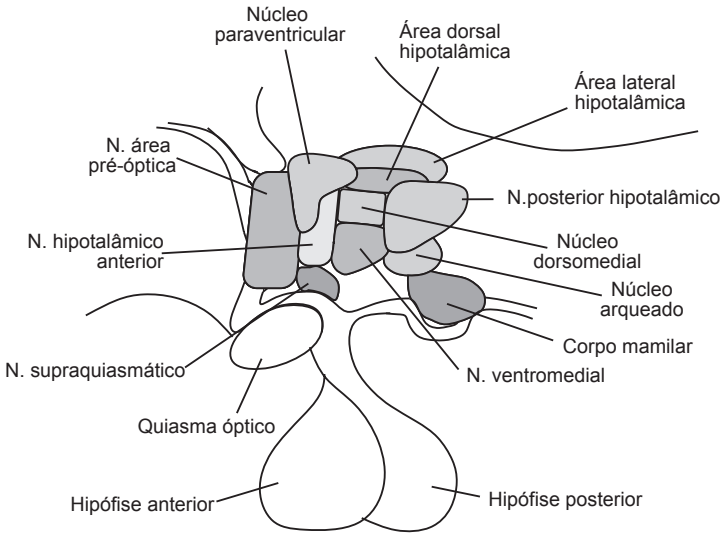


Figura 2: Localização dos núcleos hipotalâmicos. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

Os hormônios hipotalâmicos reguladores da síntese e liberação dos hormônios hipofisários recebem o nome de “hormônios hipofisiotrópicos”. Cada um destes hormônios tem um local específico de produção e exerce um estímulo diferente sobre a hipófise, como podemos ver de forma detalhada na Quadro 1:

QUADRO 1: LOCAL DE PRODUÇÃO E ESTÍMULO DOS HORMÔNIOS HIPOFISIOTRÓPICOS

HORMÔNIO	LOCAL DE PRODUÇÃO NO HIPOTÁLAMO	FUNÇÃO NA HIPÓFISE
GnRH (Hormônio liberador de gonadotrofinas)	Eminência média, Núcleo arqueado	Estimula síntese e liberação de LH (Hormônio luteinizante) e FSH (Hormônio folículo estimulante)
TRH (Hormônio liberador da tireotrofina)	Núcleo paraventricular	Estimula síntese e liberação de TSH (Hormônio estimulante da tireoide)
GHRH (Hormônio Liberador do GH)	Núcleo arqueado	Estimula síntese e liberação de GH (Hormônio do crescimento)
SS (Somatostatina)	Hipotálamo anterior, sistema paraventricular	Inibe liberação de GH
CRH (Hormônio liberador de corticotrofina)	Núcleo paraventricular	Estimula liberação de ACTH (Hormônio adenocorticotrófico)
Dopamina	Núcleo paraventricular	Inibe liberação de PRL (Prolactina)
ADH (Hormônio antidiurético)	Núcleo paraventricular	Estimula liberação de ACTH

Será objetivo deste capítulo estudar os hormônios hipotalâmicos que estejam diretamente relacionados com a reprodução, como é o hormônio **GnRH** (Hormônio liberador de gonadotrofinas).

2.1.1 FUNÇÃO DO HIPOTÁLAMO

a. Fase pré-natal

No embrião, os neurônios produtores do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) migram desde o epitélio olfatório até o hipotálamo, e já muito cedo no desenvolvimento embrionário, o hipotálamo demonstra ser muito ativo na produção de hormônios.

Em embriões de camundongos de 16 dias e de ovinos de 50 dias, por exemplo, já podem ser encontrados neurônios produtores de GnRH na eminência média do hipotálamo. Nos ovinos, o aparecimento destes neurônios produtores de GnRH ao 50º (quinquagésimo) dia coincide com a completa formação da conexão vascular entre o hipotálamo e a hipófise. Assim, ainda no início da vida, a maquinaria necessária para permitir a regulação hipotalâmica sobre a hipófise está pronta para começar a trabalhar!

O GnRH embrionário cumpre um papel fundamental no desenvolvimento do sistema reprodutivo em machos e em fêmeas. O GnRH produzido pelo embrião atua sobre a hipófise estimulando a maturação dos gonadotrofos, que são células localizadas na hipófise e encarregadas de produzirem o hormônio luteinizante ou LH e o hormônio folículo estimulante ou FSH.

Além disso, o GnRH produzido pelo embrião é importante para estabelecer desde este momento o tamanho da população de neurônios produtores de GnRH no hipotálamo do animal adulto.

b. Fase infantil

O feto masculino no final da gestação é exposto a altas concentrações de andrógenos (secretados pelos testículos) e estrógenos (secretados pela placenta) os quais causam um tipo de inibição na liberação de hormônios desde o hipotálamo. Mas no momento do parto, o indivíduo não está mais sob influência destes hormônios maternos e seu eixo hipotálamo-hipófise-gonadal fica livre do efeito inibitório dos estrógenos da sua mãe.

Com a retirada do efeito inibitório dos estrógenos maternos, a liberação de GnRH aumenta uma semana após o nascimento, mas este aumento só se mantém durante dois meses aproximadamente (período variável dependendo da espécie), até que a liberação de GnRH diminui pelo estabelecimento de alguns fatores inibitórios, mantendo-se em supressão até à puberdade.

Existem diferenças no tempo e na intensidade da elevação pós-natal de GnRH entre o macho e a fêmea porque, embora ambos os sexos sejam expostos a altas concentrações pré-natais de estradiol materno, só os machos estão expostos também às altas concentrações pré-natais de andrógenos aos quais exercem um efeito inibitório (ver capítulo de Diferenciação Sexual). Devido a essa ação dos andrógenos e estrógenos, o hipotálamo infantil do macho parece ser mais inibido que o da fêmea.

c. Fase pré-puberal

Durante a pré-puberdade (50 dias antes da puberdade), ocorrem algumas mudanças no hipotálamo que elevam a liberação pulsátil de GnRH. Esse incremento no GnRH se deve ao estabelecimento de fatores estimuladores e à remoção de fatores inibitórios, como a dramática diminuição dos receptores de estradiol no hipotálamo, levando a sugerir que devido a isso, a sensibilidade do hipotálamo ao efeito inibitório do estradiol (produzido nos testículos) diminui enquanto a puberdade se aproxima.

O incremento na secreção de GnRH pelo hipotálamo resulta no incremento dos hormônios da hipófise que estimulam a produção de hormônios gonadais levando ao início da espermatogênese (ver capítulo sobre Espermatogênese).

d. Fase puberal

Na puberdade, o hipotálamo tem desenvolvido a sua capacidade de liberar GnRH com a amplitude e frequência requerida para estimular a produção e liberação de gonadotrofinas pela hipófise e suportar a espermatogênese.

Para saber mais sobre esta etapa do desenvolvimento sexual do macho veja o capítulo sobre puberdade.

2.2 HIPÓFISE

A glândula pituitária ou hipófise está localizada abaixo do hipotálamo e é sustentada pela cela túrcica (uma depressão óssea que fica na base do cérebro). A hipófise consta de dois grandes lóbulos: a hipófise anterior ou adeno-hipófise e a hipófise posterior ou neuro-hipófise (Figura 3). A hipófise posterior é uma estrutura de tecido nervoso, enquanto a hipófise anterior é composta de tecido glandular. A hipófise anterior é uma “glândula mestra” que produz um número importante de hormônios que podem estimular a liberação de outros hormônios nos seus tecidos alvos.

A hipófise posterior esta ligada ao hipotálamo pelo infundíbulo, e é nela que são produzidos e liberados os hormônios ocitocina e vasopressina. A ocitocina é conhecida por causar contração do músculo liso e a vasopressina é um hormônio antidiurético (estimula a absorção de líquidos). Na hipófise anterior são produzidos vários hormônios (Tabela 1), mas serão alvo de nosso estudo os hormônios LH e FSH.

O LH e FSH são glicoproteínas envolvidas no desenvolvimento sexual, crescimento, maturação pubertária, processos reprodutivos e secreção de esteroides sexuais nas gônadas. São secretadas pelos gonadotrofos, que correspondem a 10-15% das células glandulares da hipófise anterior.

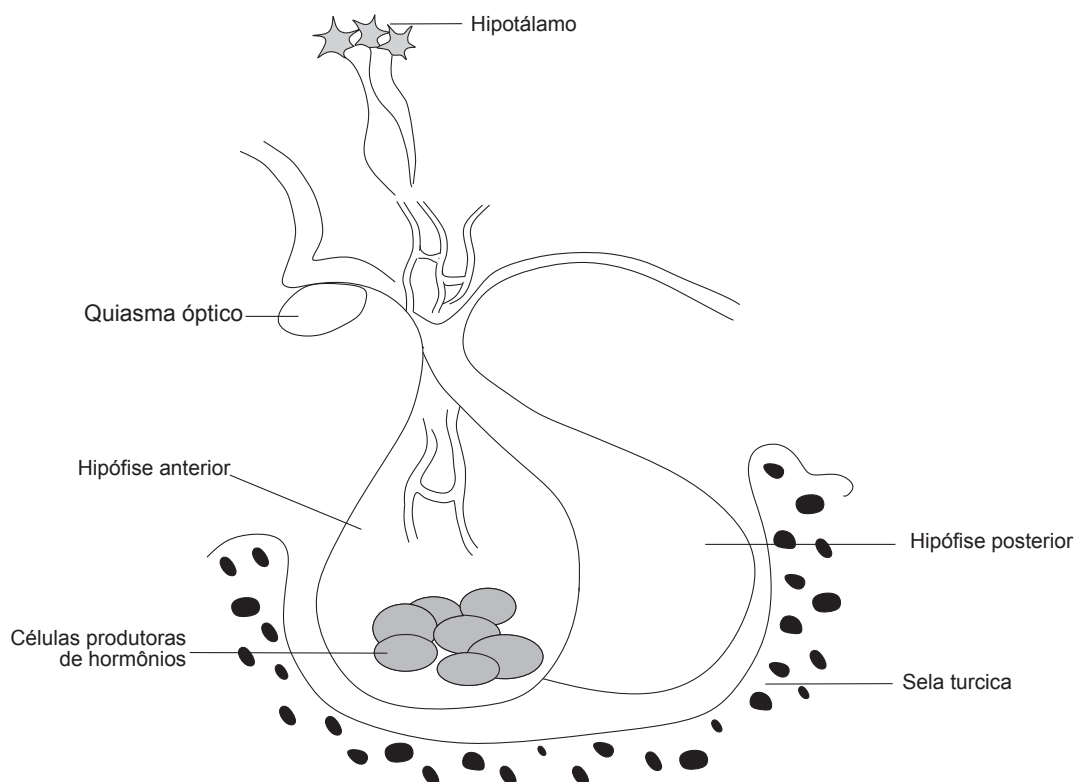


Figura 3. Estrutura e localização da hipófise. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

2.2.1 FUNÇÃO DA HIPÓFISE

a. Fase pré-natal

Os gonadotrofos podem ser localizados na hipófise muito cedo durante a gestação. As primeiras células a aparecer são as produtoras de LH. Nos ovinos, estas células podem ser vistas aproximadamente no 60º (sexagésimo) dia de gestação, e aumentam significativamente em número para o 100º (centésimo) dia, enquanto as células produtoras de FSH aparecem no 100º (centésimo) dia aproximadamente, e vão aumentando gradativamente.

Os gonadotrofos produtores de LH da hipófise, ainda em desenvolvimento, são as células alvo do GnRH embrionário, o qual causa um incremento na secreção de LH necessário para disparar a maturação dos gonadotrofos produtores de FSH.

Na metade da gestação ocorre um pico na elevação do LH e FSH fetal, que é surpreendentemente maior nos fetos fêmeas que nos fetos machos, o que seria devido à presença e ao efeito inibitório dos hormônios produzidos nos testículos. Essa elevação das gonadotrofinas neste período de desenvolvimento é muito importante para a normal programação da capacidade reprodutiva do macho adulto, já que participam na proliferação e maturação das células testiculares, como será estudado mais adiante neste capítulo.

Animais com supressão da secreção fetal de gonadotrofinas apresentam testículos de menor peso e tamanho ao nascimento que animais com secreção normal de gonadotrofinas fetais. Esta redução no peso e no tamanho testicular destes animais não é

acompanhada de mudanças na morfologia do tecido intersticial do testículo ou dos túbulos seminíferos, mas sim de uma marcada diminuição no número das células de Leydig e de Sertoli (45% menos células que um animal normal), ambas com funções importantes na espermatogênese (ver capítulo de Espermatogênese).

Já no final da gestação, a secreção de gonadotrofinas fetais diminui pela ação inibitória dos esteroides placentários.

b. Fase infantil

A transição da vida intrauterina para a vida extrauterina é caracterizada por uma elevação nas concentrações das gonadotrofinas. Depois do parto, os níveis de LH e FSH se elevam significativamente como resultado da remoção da influência inibitória da placenta, tanto que alcançam concentrações comparáveis com aquelas atingidas antes da puberdade. A elevação das gonadotrofinas ocorre ao redor da primeira semana de vida e permanecem nestas concentrações por um certo período de tempo (dependendo da espécie), até que diminuam e se mantêm em supressão até a puberdade.

A elevação do FSH é menos dramática que a elevação do LH, mas é importante nesta fase para estimular a proliferação das células de Sertoli e para estabelecer o número destas células no testículo. Mas a elevação do FSH desde cedo no desenvolvimento estimula a produção de inibina, uma glicoproteína produzida nas células de Sertoli e que exerce um efeito retrógrado negativo ou controlador sobre a liberação de FSH na hipófise. Assim, a inibina atuaria como um controlador da população das células de Sertoli, controlando a secreção precoce de FSH.

A concentração de inibina permanece alta durante a elevação do FSH devido à proliferação das células de Sertoli que acontece neste período.

c. Fase pré-puberal

A pré-puberdade é caracterizada pelo início do aumento na frequência e amplitude de liberação das gonadotrofinas (LH e FSH) devido ao aumento da liberação de GnRH pelo hipotálamo. Nesta fase o LH e FSH estimulam a diferenciação das células testiculares e a produção de testosterona (ver as fases de desenvolvimento do testículo, ainda neste capítulo).

Estas mudanças no padrão de secreção hormonal são acompanhadas também de mudanças físicas como o aumento de peso e do crescimento do perímetro escrotal (que pode ser explicado pela rápida proliferação celular).

d. Fase puberal

Esta fase do desenvolvimento é caracterizada, então, pelo incremento contínuo na eficiência da espermatogênese pela constante secreção de LH e FSH pela hipófise, o que estimula a secreção de hormônios esteroides como a testosterona, necessária para a produção de espermatozoides. Assim, esta fase é caracterizada principalmente pela produção de gametas maduros com capacidade de fertilização.

A puberdade é acompanhada também de mudanças físicas e comportamentais, como o aparecimento das características sexuais secundárias e o aumento do interesse sexual, como o aumento das tentativas de monta.

ATENÇÃO!

O estradiol não é mais considerado só um hormônio feminino, ele é importante e necessário para o funcionamento normal do sistema reprodutivo do macho.

2.3 TESTÍCULOS

Os testículos têm duas funções principais: produção de células germinais denominadas espermatozoides (para maior informação ver o capítulo sobre Espermatogênese) que transmitem os genes do macho para os filhos, e a produção de andrógenos.

Os andrógenos são hormônios sexuais masculinos e correspondem à testosterona, à androsterona e à androstenediona. Os andrógenos são também hormônios esteroides, chamadas assim porque são derivados do colesterol, cuja função principal é estimular o desenvolvimento dos caracteres sexuais masculinos.

O principal andrógeno produzido no testículo é a testosterona, produzida pelas células de Leydig. No animal adulto, este hormônio é liberado em pulsos a cada 30 minutos após um episódio de liberação de LH. A descarga pulsátil de LH é importante para estimular uma alta produção de testosterona aumentando sua concentração nos túbulos seminíferos e dar passo à espermatogênese (Figura 4).

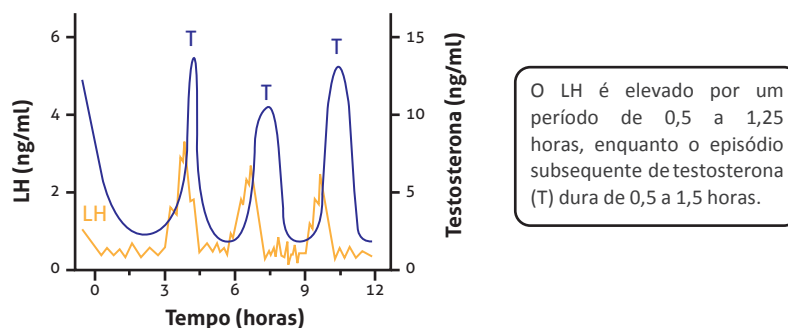


Figura 4 . Descarga pulsátil de LH e de testosterona. [Fonte: Adaptado de SENGGER, P. L. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., 2003.]

Não há receptores para andrógenos nas células germinativas, o que indica que a ação da testosterona ocorre via células de Sertoli, já que foi demonstrado que este tipo de células apresenta grande quantidade de receptores para andrógenos.

INTERESSANTE!

Neste link você encontrará um interessante atlas interativo com fotos histológicas do testículo:

<http://cienciasmorfologicas.blogspot.com/search/label/Sistema%20Reprodutor%20Masculino>

2.3.1 FUNÇÃO ENDÓCRINA DOS TESTÍCULOS

a. Fase pré-natal

O primeiro sinal da formação de gônadas masculinas no embrião é o aparecimento das células de Sertoli, que povoarão os túbulos seminíferos durante o desenvolvimento fetal. A proliferação e diferenciação destas células na vida fetal são importantes para garantir a normal função

testicular e a espermatogênese do animal adulto.

As células de Leydig são as segundas células a se formarem no testículo do embrião. Estas serão encarregadas da produção de andrógenos ainda na vida fetal, sob o controle das gonadotrofinas.

A produção de hormônios esteroides nesta fase do desenvolvimento é tão importante porque eles atribuem as características fenotípicas de macho ao embrião em desenvolvimento (ver capítulo de Diferenciação Sexual).

Como foi visto anteriormente, os hormônios esteroides recebem este nome porque são derivados do colesterol, principalmente das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Os testículos fetais apresentam receptores para lipoproteínas de baixa densidade muito cedo no desenvolvimento, por isso, várias espécies de animais entre a 10ª e 20ª semana de vida já têm a capacidade de sintetizar colesterol para a produção de testosterona.

No meio da gestação o embrião apresenta um aumento na liberação de gonadotrofinas, das quais o LH estimula as células de Leydig para a produção de testosterona, o que resulta no aumento deste hormônio e, finalmente, no estabelecimento de um mecanismo inibitório sobre as gonadotrofinas. Devido a este efeito inibitório da testosterona sobre o LH e FSH, o aumento destes hormônios durante a gestação de fetos machos é menor em relação ao aumento visto nos fetos fêmeas.

b. Fase infantil

Depois do nascimento, devido ao aumento das gonadotrofinas que ocorre nas primeiras semanas de vida, o testículo começa de novo a produzir testosterona elevando a sua concentração; mas igualmente ao que ocorre com as gonadotrofinas, esta elevação da testosterona demora pouco tempo.

Com o aumento da frequência de liberação do LH nas primeiras semanas após o nascimento, tem início a diferenciação e maturação das células de Leydig, o que dispara a produção e secreção de testosterona e androstenediona. A elevação de testosterona intratesticular que vem depois do início da diferenciação das células de Leydig, pode iniciar a diferenciação das células de suporte indiferenciadas em células de Sertoli.

O número de células de Sertoli presentes no testículo do animal adulto depende da duração da fase de proliferação e da taxa de divisão destas células durante esta fase de desenvolvimento. O FSH é um fator crítico para determinar a taxa de divisão das células de Sertoli, mas existem outros fatores que também têm um efeito sobre o número final destas células. Vários estudos têm observado que o hormônio triiodotironina (T3) determina a duração da fase de divisão ou proliferação das células de Sertoli, determinando o final desta fase e iniciando a fase de maturação destas células e de crescimento testicular.

Animais com hipotireoidismo apresentam um período extenso de proliferação de células de Sertoli, já que estes têm deficiência na produção de hormônios tireoides como o T3, que controlam o tempo de duração da fase de proliferação celular. Devido a isso, existe uma demora no início da fase de maturação das células, o que resulta em um incremento no número de células de Sertoli imaturas no testículo adulto. O efeito deste hormônio sobre as células de Leydig é parecido com o efeito sobre as células de Sertoli, já que animais com hipotireoidismo neonatal apresentam diminuição na diferenciação e contínua proliferação nas células de Leydig.

Neste período de vida, no hipotálamo existe uma grande quantidade de receptores para estradiol. Por esta razão, mesmo que a produção de estradiol no testículo seja baixa (uma pequena parte da testosterona produzida pelas células de Leydig é convertida a estradiol nas células de Sertoli), esta consegue exercer um efeito inibitório sobre a liberação de GnRH, e por isso, as concentrações de gonadotrofinas e testosterona depois de um curto período de aumento, diminuem e permanecem quase imperceptíveis até a fase pré-puberal.

c. Fase pré-puberal

A principal característica deste período é o início da espermatogênese sob a influência dos pulsos de LH, que gradativamente vão aumentando sua frequência de liberação e estimulando a produção de testosterona até atingirem um nível em que a produção deste hormônio é suficiente para iniciar a espermatogênese.

Nesta fase, as células de Leydig e de Sertoli sofrem a maturação. Nas células de Sertoli ocorrem mudanças na morfologia e na função sob o estímulo do FSH. Estas células aumentam de tamanho e se unem por umas junções especiais para formar dois compartimentos o basal e o adluminal (ver capítulo sobre Espermatogênese) onde se inicia a espermatogênese.

A testosterona é essencial para o início e a manutenção da espermatogênese, mas a sua ação biológica dentro do túbulo seminífero é mediada pelas células de Sertoli, as quais se asseguram de manter a concentração adequada deste hormônio no espaço adluminal.

d. Fase puberal

Esta fase é caracterizada pelo aparecimento dos primeiros espermatozoides móveis no ejaculado do animal, como resultado da produção constante de testosterona e da liberação dos hormônios gonadotróficos.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

4. INTERAÇÃO ENTRE HORMÔNIOS

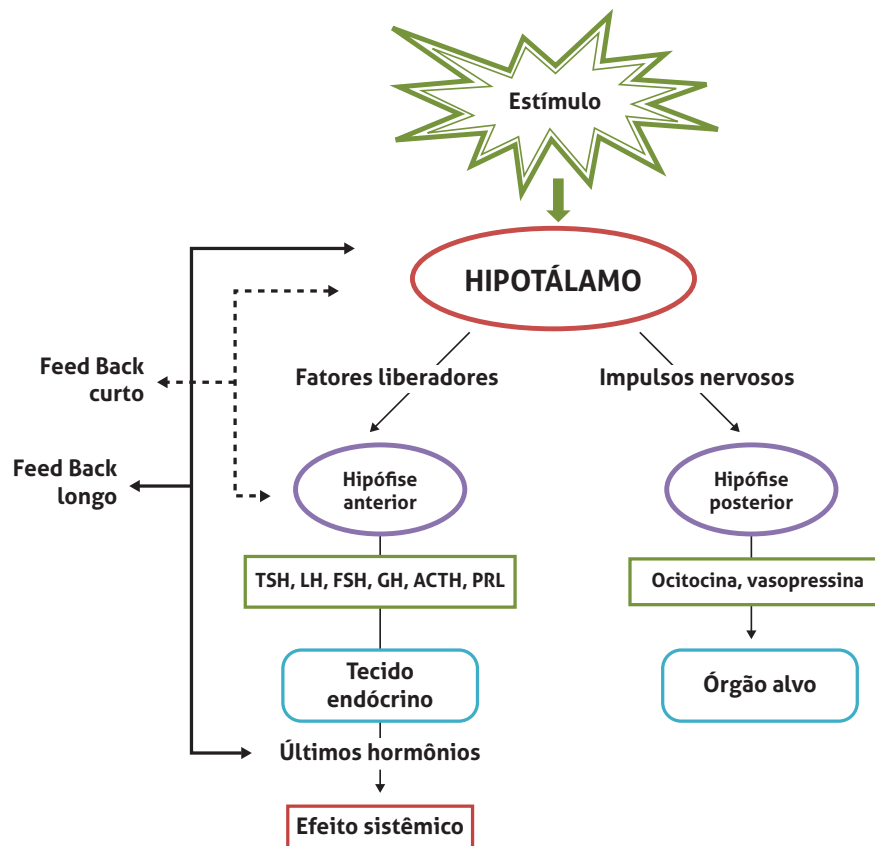
Já falamos um pouco sobre os efeitos inibitórios ou estimuladores de alguns hormônios sobre outros. O que não falamos até agora é que esse mecanismo de controle é chamado de *feed back* e que é necessário para que o sistema endócrino da reprodução se comporte como uma orquestra.

Quando o nível de um hormônio está aumentado, esse aumento é detectado por receptores específicos desse hormônio localizados no hipotálamo (ou em uma glândula endócrina específica), e em resposta a esse aumento, a secreção de neuro-hormônios estimuladores do hipotálamo é reduzida, produzindo assim a diminuição do nível circulante desse hormônio. Este tipo de controle assegura que as concentrações hormonais não

excedam um ponto no qual podem passar a ser prejudiciais para os animais.

O mecanismo de controle ou *feed back* pode ser classificado como *feed back* curto ou *feed back* longo. Por exemplo, quando a liberação de hormônios desde a hipófise anterior é regulada pelo hipotálamo, isso é considerado como um *feed back* curto. Mas, quando os hormônios produzidos pelas gônadas (testículos ou ovários) afetam a liberação de GnRH no hipotálamo, isso é considerado como *feed back* longo (Esquema 1).

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.



Esquema 1. Mecanismo de controle.

4.1 EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GONADAL

Estímulos elétricos (nervosos) em resposta a um sinal interno ou ambiental causam a secreção de hormônios liberadores desde o hipotálamo (*feed back* positivo), principalmente de GnRH. Mudanças no padrão de secreção deste hormônio são refletidas na secreção das gonadotrofinas LH e FSH.

O GnRH é liberado em pulsos que demoram vários minutos e causam a liberação imediata

de LH. Os pulsos de LH demoram entre 10 a 20 minutos e ocorrem entre 4 a 8 vezes a cada 24 horas. O FSH também é liberado em pulsos de maior duração que os pulsos de LH, mas a concentração deste hormônio é menor que a concentração do LH como podemos ver na figura 5 :

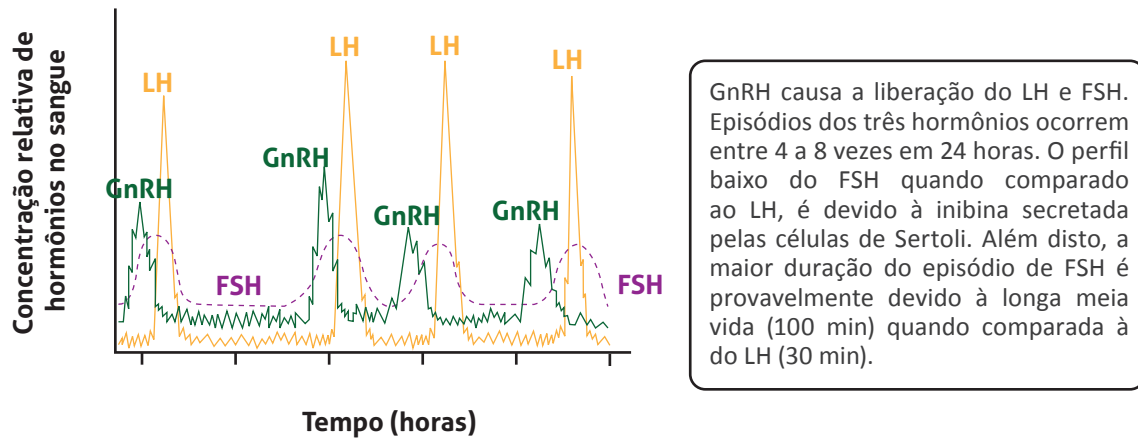


Figura 5. Liberação pulsátil de GnRH, LH e FSH. [Fonte: Adaptado de SENGHER, P. L. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., 2003.]

A testosterona e o estradiol produzidos nos testículos exercem um *feed back negativo* sobre a frequência e amplitude da liberação da GnRH no hipotálamo.

Nos machos, o LH e FSH secretados pela hipófise se ligam a receptores nas células alvo dos testículos, células de Leydig e células de Sertoli, respectivamente, onde estimulam a produção de testosterona, estradiol e de inibina, entre outros, que por sua vez viajam pela circulação sanguínea até o hipotálamo e à hipófise, onde causam a inibição da liberação de GnRH, e consequentemente do LH e FSH. A inibina causa a inibição mais especificamente do FSH.

Para entender melhor o mecanismo de interação entre os hormônios vejamos a figura 6 ao lado:

A leptina é produzida principalmente pelos adipócitos ou células gordurosas, sendo que sua concentração varia de acordo com a quantidade de tecido adiposo. Já foi proposto que a obtenção de um peso crítico e uma quantidade de tecido adiposo são um dos pré-requisitos para os animais atingirem a puberdade. Alguns estudos têm sugerido que a energia corporal armazenada, ou o tecido adiposo, podem estar envolvidos no desenvolvimento sexual atuando por meio de um sinal que tem função permissiva sobre o momento no qual o animal atingirá a puberdade.

A administração de leptina a animais com estresse alimentar tem demonstrado trazer benefícios no eixo hipotálamo-hipófise, aumentando a secreção de hormônios nestes órgãos. Por isso, a leptina apresenta uma importante função como sinalizadora do status nutricional ao eixo reprodutivo.

A leptina aumenta rapidamente várias semanas antes da puberdade e continua alta durante algumas semanas após a puberdade. No testículo, as células de Leydig e as células germinais apresentam receptores para leptina, e as células de Leydig e de Sertoli produzem IGF-I, indicando que a maior parte de IGF-I circulante nos animais em desenvolvimento é produzida no testículo.

A associação entre o desenvolvimento testicular na pré-puberdade e o aumento circulante destes hormônios metabólicos indicam que eles estejam envolvidos na regulação do eixo hipotálamo-hipofisiário-gonadal.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

5. CONCLUSÃO

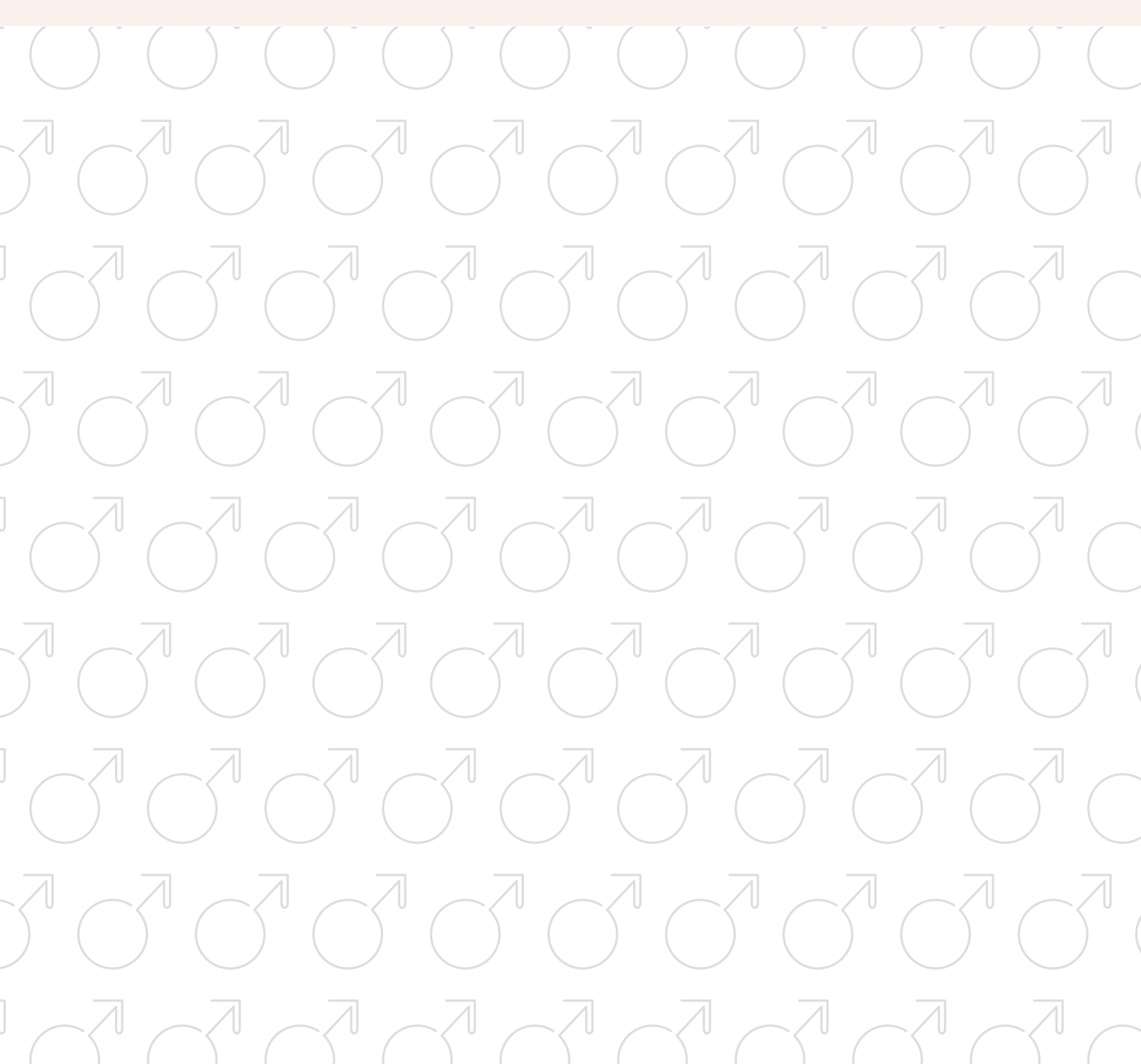
Para que os testículos funcionem adequadamente você aprendeu neste capítulo que é necessária uma perfeita integração entre órgãos localizados em diferentes sítios do organismo (hipotálamo, hipófise, tecido adiposo e testículos). A comunicação entre eles, como aquela executada pelos hormônios, deve estar em perfeita sintonia para que a função possa ser corretamente executada. Esperamos ter transmitido que a correção de qualquer distúrbio endócrino pode não ser tão simples como desejamos, pois temos que compreender a existência dos mecanismos de retroalimentação positiva e negativa (feedback positivo ou negativo), que não são fáceis de controlar.

6. RESUMO

- O Hormônio liberador de gonadotrofinas ou GnRH é produzido no hipotálamo.
- O GnRH estimula a síntese e liberação de LH (Hormônio luteinizante) e FSH

(Hormônio folículoestimulante) desde a hipófise.

- Na puberdade, o hipotálamo adquire a plena capacidade de liberar o GnRH em amplitude e frequência requeridas, resultando na produção e liberação de gonadotrofinas pela hipófise em intervalos e concentrações que suportem a espermatogênese.
- Os testículos têm duas funções principais: produção de espermatozoides e a produção de hormônios, principalmente andrógenos (predominantemente testosterona).
- O GnRH é liberado em pulsos que causam a liberação imediata de LH. Os pulsos de LH demoram entre 10 a 20 minutos e ocorrem entre 4 a 8 vezes a cada 24 horas. O FSH é liberado em pulsos de maior duração que os pulsos de LH, mas a sua concentração é menor que a concentração da LH.
- Nos machos, o LH e FSH secretados pela hipófise se ligam a receptores nas células alvo dos testículos, células de Leydig e células de Sertoli, respectivamente. O efeito é a produção de testosterona, estradiol e de inibina, entre outros. Estes, além de exercerem sua função nos sítios alvo vão participar nos mecanismos de feedback negativo em nível de hipotálamo e hipófise.



4

Espermatogênese

Autores: Rebeca Marques Mascarenhas

Marc Henry

Ana Maria Loaiza Echeverri

META DO CAPÍTULO

Entender o processo que leva o testículo a produzir continuamente espermatozoides.

Prover subsídios para entender e interpretar em animais problemas e em que fase do processo estão sendo formados os espermatozoides anormais.

Fornecer os dados necessários para interpretar e emitir um laudo de avaliação andrológica.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Saber o que é ciclo do epitélio seminífero.
- Saber as fases que compõem a espermatogênese.
- Conhecer como a espermatogônia se transforma em espermatozoide.

1. INTRODUÇÃO

O macho expressa sua habilidade reprodutiva manifestando o desejo de copular, mostrando que tem a capacidade física de realizar a cópula e, produzindo espermatozoides férteis. Os espermatozoides podem ser vistos como o produto secretado de um processo contínuo chamado “*espermatogênese*”. Mas, para que esta produção de “células espermáticas” seja contínua, o processo de espermatogênese deve envolver uma constante replicação das espermatogônias para produzir gerações de células que possam continuamente se transformar no produto final: o espermatozoide.

Além disso, devido ao núcleo do espermatozoide se fundir com o núcleo do ovócito durante a fertilização para formar o zigoto (ver capítulo de Maturação e Capacitação Espermática, Reação Acrossômica e Fertilização), uma redução do número de cromossomos para o estado haploide (células que contêm apenas um conjunto de cromossomos) deve ocorrer durante a formação dos espermatozoides. Assim, existem quatro elementos importantes que juntos compõem a espermatogênese:

- a. Renovação de espermatogônias por mitoses;
- b. Divisão e diferenciação das espermatogônias;
- c. Redução do número de cromossomos por meiose;
- d. Transformação de uma célula haploide de formato convencional em uma complexa estrutura chamada espermatozoide, esta metamorfose é denominada “*espermogênese*”.

Cada uma destas etapas tem que ser adequadamente cumprida para que a contribuição do macho na preservação das espécies seja plenamente alcançada. Neste capítulo vamos abordar e discutir o processo denominado espermatogênese. O processo de maturação espermática que é subsequente à espermatogênese e anterior à ejaculação será discutido em outro capítulo.

LEMBRE-SE:

A espermatogênese é uma sequência de eventos pelos quais as espermatogônias se transformam em espermatozoides;

A produção de espermatozoides inicia-se na puberdade e permanece de maneira contínua durante toda a vida adulta até a senilidade;

A espermatogênese é um processo delicado que é orquestrado por mecanismos estimulatórios ou inibitórios finamente equilibrados.

2. ONDE ACONTECE A ESPERMATOGÊNESE?

Os túbulos seminíferos são o local de produção de espermatozoides. Para melhor entender o processo da espermatogênese é conveniente você lembrar do detalhamento anatômico dos testículos que foi apresentado no capítulo de anatomofisiologia do sistema genital. A título de revisão observe a figura 1, a qual você já está familiarizado, e identifique todas as estruturas presentes.

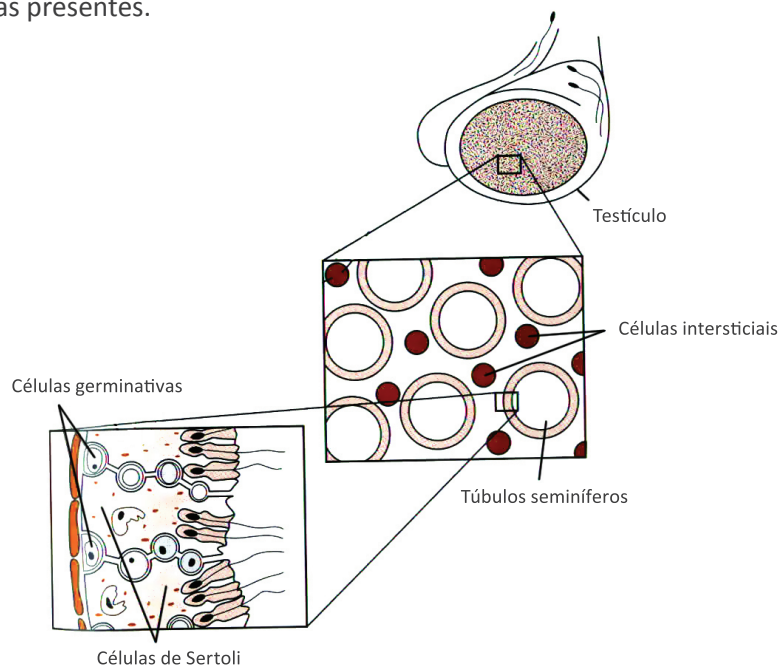


Figura 1. Túbulos seminíferos.

[Fonte: Adaptado de - http://www.uff.br/fisiovet/Conteudos/reproducao_machos.htm]

3. QUAIS SÃO AS PRINCIPAIS CÉLULAS ENVOLVIDAS NA ESPERMATOGÊNESE?

As principais células envolvidas na espermatogênese são as células de Sertoli, as células germinativas e as células de Leydig. As células de Sertoli e as células germinativas formam o epitélio seminífero e são diretamente responsáveis pela produção dos espermatozoides. Já as células de Leydig ficam do lado de fora dos túbulos seminíferos no chamado espaço intersticial, e participam ativamente, mas indiretamente na espermatogênese.

3.1 APRESENTANDO AS CÉLULAS DE SERTOLI

As células de Sertoli são as maestrinas da espermatogênese. Porque são denominadas de maestrinas? É porque elas executam inúmeras funções reguladoras das ações que desencadeiam a transformação da espermatogônia em espermatozoide. Em primeiro lugar, elas oferecem suporte físico às células da linhagem espermática durante todo o período de transformação.

As células de Sertoli têm formato de coluna, e se estendem desde a membrana basal do epitélio seminífero até o lúmen do túbulo seminífero. Para exercer a função de suporte estendem seu citoplasma em forma de finos braços ou ramificações, formando endentações e criptas que envolvem as células germinativas. As células de Sertoli formam também as junções especiais conhecidas como “junções gap ou nexus”, que nada mais é que um local de união com a célula vizinha. Estas junções formam uma barreira anatômica e funcional que subdivide o epitélio seminífero em um compartimento basal e um compartimento adluminal. Assim, estas junções têm a capacidade de regular o trânsito entre os dois compartimentos formando uma barreira de defesa, impedindo que moléculas indesejáveis e células agressoras cheguem às células germinativas que passaram pela meiose. Estas células que passaram pela meiose já não são reconhecidas como próprias do organismo, por isto a barreira hematotesticular tem uma participação ativa para evitar que estas sejam rejeitadas (ver capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho, item 2.2 Local de produção dos espermatozoides).

Para entender melhor a função de suporte das células de Sertoli observe com atenção a figura 2.

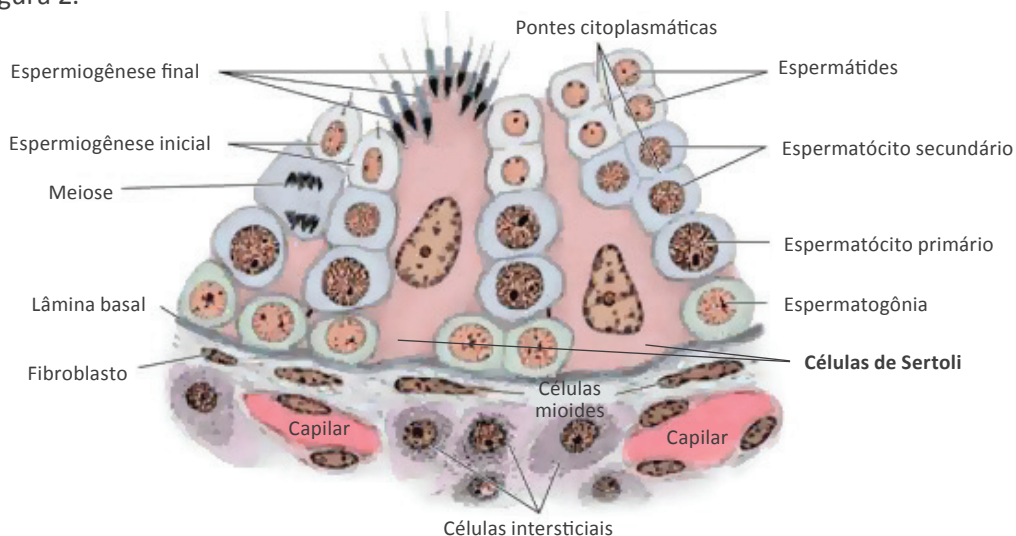


Figura 2. Anatomia da célula de Sertoli. [Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA, Luiz C.; CARNEIRO, José. *Histologia Básica*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. pg. 205]

As células de Sertoli também servem de aporte nutricional às células da linhagem espermática e coordenam todo conjunto de mensagens químicas e bioquímicas (hormônios, entre outros) que vão ordenar os passos da transformação. Todas as mensagens, antes de chegarem às células germinativas precisam passar primeiro pelas células de Sertoli.

ATENÇÃO!

A barreira formada pelas células de Sertoli protege os espermatozoides em desenvolvimento de um ataque imunológico.

3.2 APRESENTANDO AS CÉLULAS GERMINATIVAS

As células germinativas são as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides. Existem vários tipos de espermatogônias, mas o mais importante é saber que existem as espermatogônias-tronco e as espermatogônias comprometidas com a espermatogênese. As espermatogônias-tronco estão presentes na base do túbulo seminífero e a cada ciclo multiplicam-se diversas vezes por mitose gerando novas populações de células, e uma parte reconstitui o grupo de espermatogônias-tronco enquanto as outras se transformam ao longo da espermatogênese para originar os espermatozoides. As espermatogônias são classificadas em: espermatogônia tipo “A” indiferenciadas, simples, pareadas ou alinhadas; espermatogônias tipo “A” diferenciadas as “A1, A2, A3 ou A4”; espermatogônias intermediárias e espermatogônias tipo “B”. As espermatogônias-tronco permanecem no seu lugar, na base do túbulo seminífero, gerando novas espermatogônias durante toda a vida reprodutiva do animal.

No conjunto das células germinativas temos também os espermatócitos. Na verdade, os espermatócitos são espermatogônias que evoluíram no processo de transformação e estão passando por divisão meiótica, quando tem o conteúdo de DNA reduzido. Assim, no epitélio seminífero vamos encontrar os espermatócitos primários e os espermatócitos secundários.

Na sequência estão as espermátides que são células arredondadas. A evolução da espermátide não é feita por divisão celular, e sim por um processo de mudanças na forma e nas estruturas intracelulares levando à formação de uma célula menor e com cauda, e que é altamente especializada, o espermatozoide. Este processo de transformação é chamado de espermiogênese (ver fase de diferenciação).

3.3 APRESENTANDO AS CÉLULAS DE LEYDIG

As células de Leydig ocupam, junto com outras células, espaços entre os túbulos seminíferos. Elas são encontradas com frequência ao redor dos vasos sanguíneos, sendo essa uma localização estratégica para desenvolver sua função endócrina. Esta localização fornece à célula um adequado suplemento sanguíneo e também facilita a transferência dos esteroides produzidos pelas células de Leydig para dentro da circulação. Sua função é sintetizar o hormônio masculino, a testosterona, que é responsável, entre outras coisas, pela promoção do comportamento sexual, pelo aparecimento e manutenção das características sexuais secundárias, pelo desenvolvimento e manutenção da função das glândulas sexuais acessórias, além é claro de, juntamente com o hormônio folículo estimulante ou FSH e o hormônio luteinizante ou LH, promover e regular a espermatogênese.

4. COMO ACONTECE A ESPERMATOGÊNESE?

A espermatogênese pode ser dividida em três fases: fase proliferativa ou espermatocitogênese, a meiose e a fase de diferenciação ou espermiogênese.

4.1 FASE PROLIFERATIVA

Durante a fase proliferativa as espermatogônias passam por uma sequência de divisões mitóticas sendo que a última delas vai dar origem a espermatogônia do tipo “B”. O tempo de duração da fase proliferativa e o número de divisões mitóticas que acontecem variam de espécie para espécie, mas o importante é saber que:

1. A espermatogônia-tronco sempre permanece na base do epitélio seminífero após o término da fase proliferativa;
2. Nem todas as espermatogônias produzidas nessa fase chegam a espermatozoides, pois pode ocorrer morte celular por um processo denominado de apoptose;
3. As células produzidas em um mesmo ciclo de divisão são ligadas por pontes citoplasmáticas e vão evoluir de forma sincrônica até se tornarem espermatozoides.

4.2 FASE DE MEIOSE

A fase de meiose engloba duas divisões meióticas (Figura 3), e é a fase de geração (gênese) de espermatócitos, que são na verdade, as espermatogônias “B” que se transformam em espermatócito primário e que passam pela primeira divisão da meiose (fase reducional). A princípio estas células possuem um conjunto completo de cromossomos (cujo número vai variar de acordo com a espécie), sendo que cada cromossomo possui duas cromátides (cópias do DNA).

Na primeira fase da meiose os espermatócitos primários têm o número de cromossomos dividido ao meio e passam, assim, de células diploides para células haploides e são chamados agora de espermatócitos secundários. Na segunda fase da meiose os espermatócitos secundários (já com metade dos cromossomos originais) se dividem e ficam com apenas uma cromatina de cada cromossoma e transformam-se em espermátides.

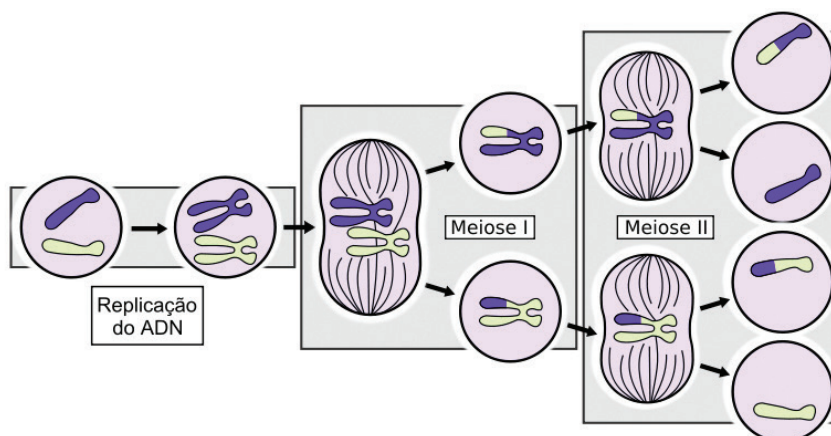
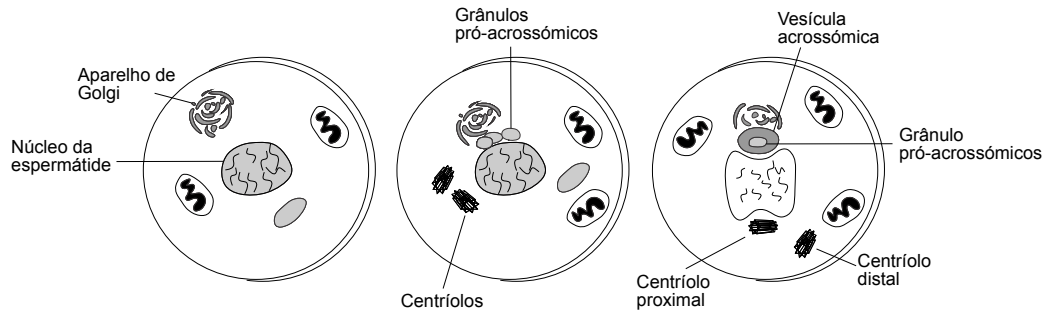


Figura 3. Fases da meiose: veja como no final da segunda meiose, os espermatócitos secundários ficam só com uma cromatina. [Fonte: Adaptado de - http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:MajorEventsInMeiosis_variant_pt.svg]

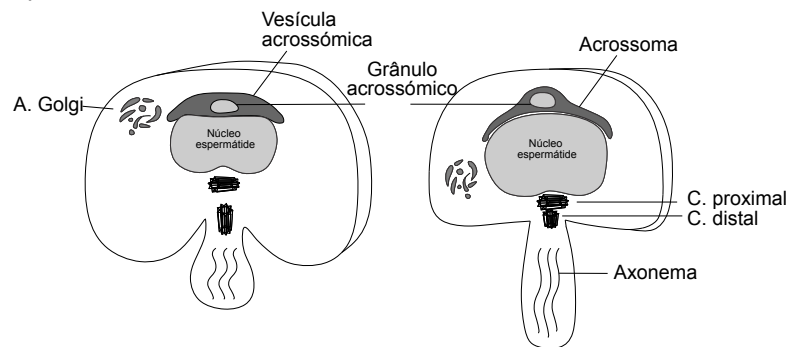
4.3 FASE DE DIFERENCIAÇÃO

A fase que se segue agora é a *Espermiogênese* (Figura 4) na qual as espermatídes passam por alterações estruturais e de desenvolvimento para tornarem-se espermatozoides. Estas alterações incluem:

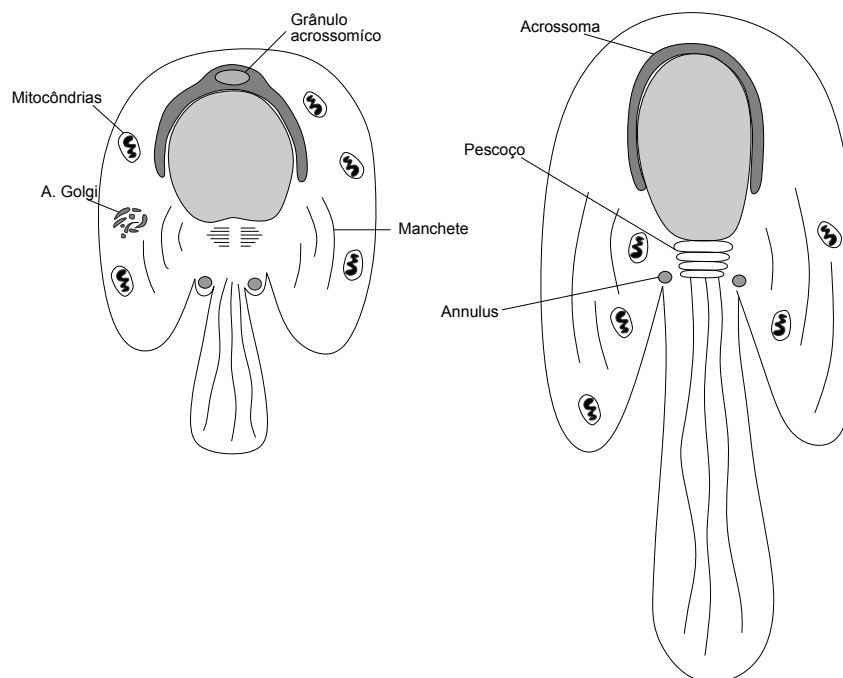
- a) Migração do Aparelho de Golgi para a superfície anterior do núcleo onde após modificações e organizações darão origem ao acrossoma;



- b) Organização dos centríolos distais e outros componentes para formação da cauda do espermatozoide;



- c) Migração e condensação do núcleo, que agora assume uma forma alongada e achatada;



- d) Migração das mitocôndrias em direção à cauda e sua organização formando a bainha mitocondrial. Eliminação da maior parte do citoplasma excedente juntamente com algumas organelas.

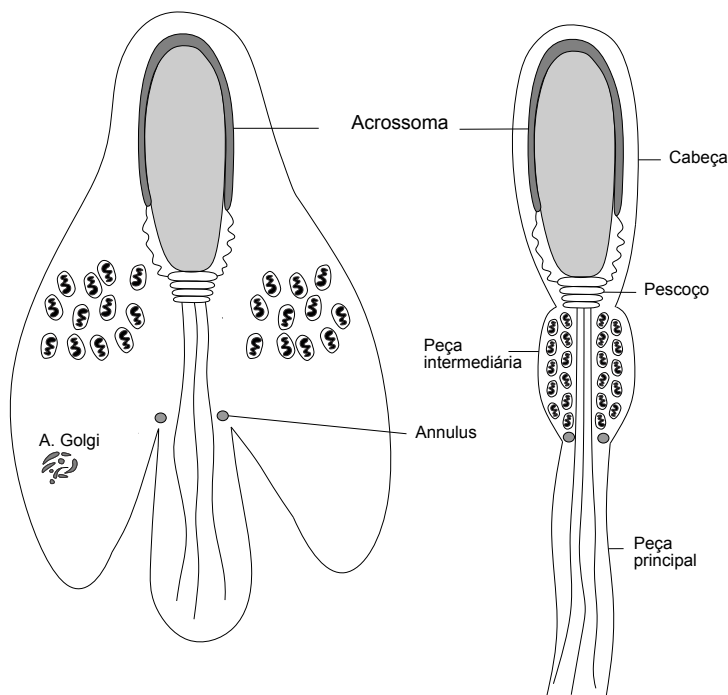


Figura 4. Fases da diferenciação das espermátides. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

Depois de concluídas todas as mudanças, o espermatozoide é liberado no lúmen do túbulo seminífero. Mas, veja bem, esse ainda não é um espermatozoide completamente maduro e pronto para fecundar um óvulo. Para que o espermatozoide adquira a capacidade fecundante ele ainda precisa passar por um período de maturação no epidídimo.

Um esquema resumindo as fases da espermatogênese pode ajudar? Então veja a figura 5 e relembre o que foi aprendido sobre a espermatogênese:

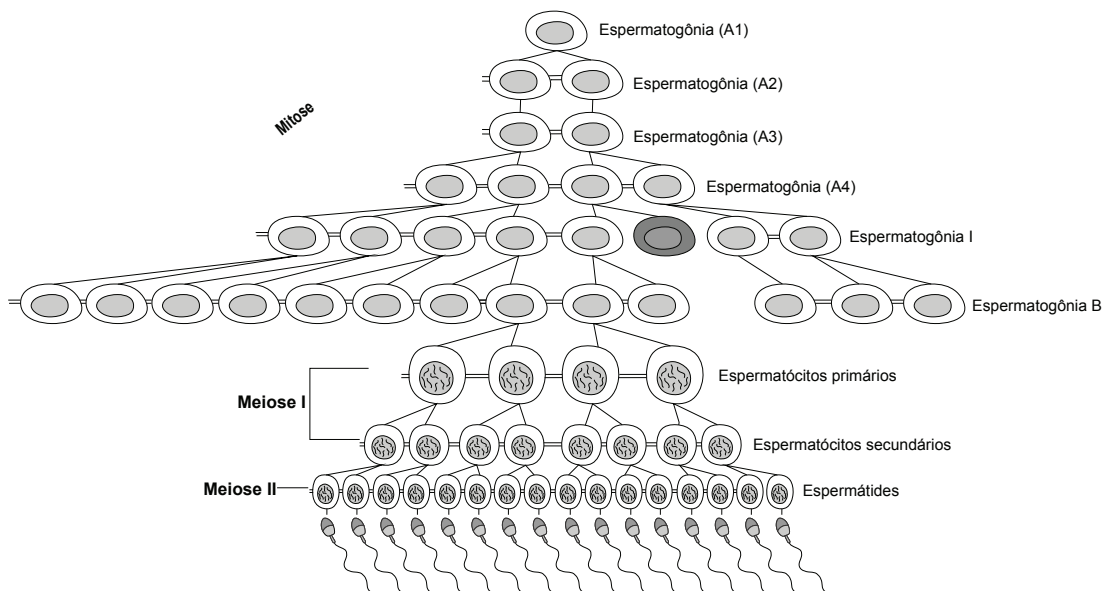


Figura 5. Espermatogênese. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

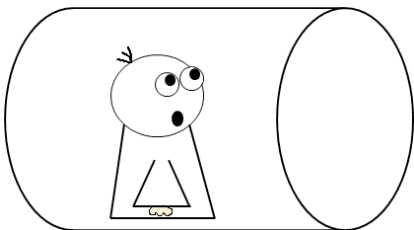
5. CICLO DO EPITÉLIO SEMINÍFERO

Nós acabamos de descrever a sequência das mudanças e divisões que as espermatogônias passam até serem transformadas em espermatozoides. Precisamos, para o nosso entendimento de como o testículo funciona, complementar o que você já aprendeu até aqui, incorporando o conceito do que é ciclo do epitélio seminífero e de como é organizada a produção espermática ao longo dos túbulos seminíferos.

Você deve estar lembrando que existem vários túbulos seminíferos no testículo (veja capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho) e que as duas extremidades de cada túbulo desembocam na região mais central do testículo nos túbulos retos, que carrearão os espermatozoides para outros segmentos até a saída do testículo. É importante você registrar que em um mesmo túbulo existem segmentos que estão em fases diferentes de produção espermática, ou seja, as múltiplas divisões das células da linhagem espermatogênica não estão sincronizadas em toda extensão do túbulo. Por causa disto, se pudéssemos nos deslocar dentro do túbulo veríamos que em certas regiões está ocorrendo a liberação de espermatozoides, enquanto em outras poderiam ser observadas a presença e a associação dos outros tipos de células da linhagem espermática, sem no entanto aparecerem espermatozoides. Por outro lado, se pudéssemos ficar parados em um segmento observaríamos, baseando-nos no tipo de associação celular presente em cada momento, que aquela região está em contínua modificação. Depois de certo tempo observaríamos que naquele segmento começariam a aparecer espermatozoides que seriam liberados.

Esta assincronia na organização entre os diversos segmentos de um mesmo túbulo seminífero permite você entender como o testículo é capaz de produzir continuamente espermatozoides. Falamos a respeito apenas de um túbulo, mas esteja atento que existem vários túbulos seminíferos e que todos eles estão funcionando ao mesmo tempo, e que múltiplos segmentos de diversos túbulos estão em um dado momento liberando espermatozoides enquanto os outros estão em outra fase da produção.

Tudo bem, entendemos agora como a espermatogênese é contínua. O que é então, ciclo do epitélio seminífero?



Para tentarmos entender este conceito vamos nos fixar em um dado segmento do túbulo e ali ficar aguardando o tempo passar com os olhos bem abertos. Você está lembrado que existem várias células de linhagem espermatogênica? Algumas se dividem por mitose, outras por meiose e outras somente se diferenciam na fase final do processo. Você também deve estar lembrado que as espermatogônias mais indiferenciadas estão próximas à base do túbulo e a medida que evoluem elas vão se deslocando em direção ao lúmen, transformando-se em espermatozoides, quando já estão em contato com o lúmen tubular.

É importante chamar atenção que o tempo requerido para uma espermatogônia “A” chegar ao espermatozoide pode variar de 39 a 61 dias, dependendo da espécie em foco. Durante este período todo foi observado, baseando-se em características morfológicas do epitélio seminífero, que em dado local do túbulo, um padrão de associação celular se repetia em tempos regulares, próximo a cada 9 até 12 dias, dependendo da espécie. Este

intervalo entre repetições de uma mesma associação celular foi denominado de ciclo do epitélio seminífero. Os estudos também indicaram que o tempo de ocorrência de um ciclo não era suficiente para uma espermatogônia sair da base do túbulo, se multiplicar e diferenciar e virar espermatozoide. Precisava que um dado segmento passasse em torno de 4,2 ciclos do epitélio seminífero para que uma espermatogônia tronco iniciasse o ciclo de divisão e diferenciação e virasse espermatozoide.

Estudando mais a fundo o ciclo do epitélio seminífero foi possível identificar, dependendo da metodologia utilizada, que antes que uma dada associação celular se repetisse, outras 7 associações celulares (totalizando 8), foram observadas. Portanto, um ciclo do epitélio seminífero pode ser dividido em oito fases, cada uma com característica e duração própria. Cada fase ocorrendo uma após a outra até que a primeira volta a se repetir e assim reiniciar um ciclo novamente. Sempre em uma determinada fase do ciclo (a denominada de “8”) e somente nela ocorre liberação de espermatozoides no lúmen.

Veja a figura 6 para você compreender melhor o que estamos tentando transmitir.

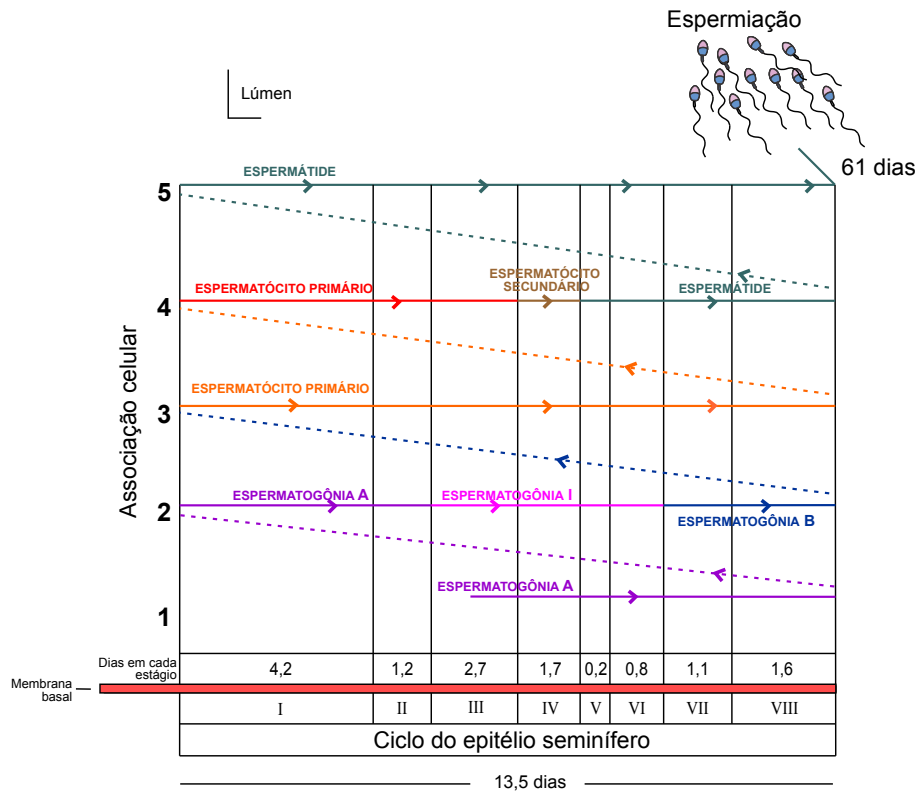


Figura 6. Ciclo do epitélio seminífero.

[Fonte: Adaptado de SENGHER, P. L. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., 2003.]

Como nem toda a extensão do mesmo túbulo está em uma mesma fase, como já dissemos anteriormente, certos segmentos estarão liberando espermatozoides (fase 8), enquanto os demais, que estão em maior proporção, estarão em outras fases do ciclo do epitélio seminífero.

ATENÇÃO!

Por que, então, as fases do ciclo do epitélio seminífero não têm a mesma duração?

Vamos recordar que cada fase é caracterizada por um tipo de associação celular... se associarmos a este conceito o conhecimento que a duração da divisão celular de cada tipo celular é diferente uma da outra, fica mais fácil compreender que cada fase tem uma duração específica e que o conjunto da duração de cada fase vai determinar a duração do ciclo do epitélio seminífero.

Particularmente a duração da divisão meiótica é maior que a mitótica.....

Veja a duração do ciclo do epitélio seminífero e da espermatogênese por espécie na tabela a seguir.

TABELA 1. DADOS COMPARATIVOS DA FREQUÊNCIA DE ESTÁGIOS PRÉ-MEIÓTICOS, MEIÓTICOS E PÓS-MEIÓTICOS E DA DURAÇÃO DA ESPERMATOGÊNESE

Espécie	Pré-meiótico (%)	Meiótico (%)	Pós-meiótico (%)	Duração do ciclo (dias)	Duração espermatogênese (dias)
Touro	60,0	12,8	27,2	13,5	60,8
Búfalo	64,8	9,2	26,0	8,6	38,7
Carneiro	52,7	7,2	40,1	10,6	47,7
Bode	49,1	10,7	40,2	10,6	47,7
Varrão	28,3	11,7	60,0	8,6	38,7
	31,4	12,1	56,5	9,0	40,5
Porco selvagem	35,2	14,4	50,4	9,0	40,5
Garanhão	35,0	15,8	49,2	12,2	54,9
Jumento	33,0	19,3	47,7	10,5	47,2
Coelho	48,4	11,0	40,6	10,9	49,0
Cão	37,4	11,5	51,1	13,6	61,2
Gato	45,5	17,6	36,9	10,4	46,8
Rato	23,7	5,7	70,6	12,9	58,0
Camundongo	21,8	10,5	67,7	8,6	38,7
Hamster	25,8	7,5	66,7	8,7	39,2
Homem	51,8	6,8	41,5	16,0	72,0

França et al., (2005) .

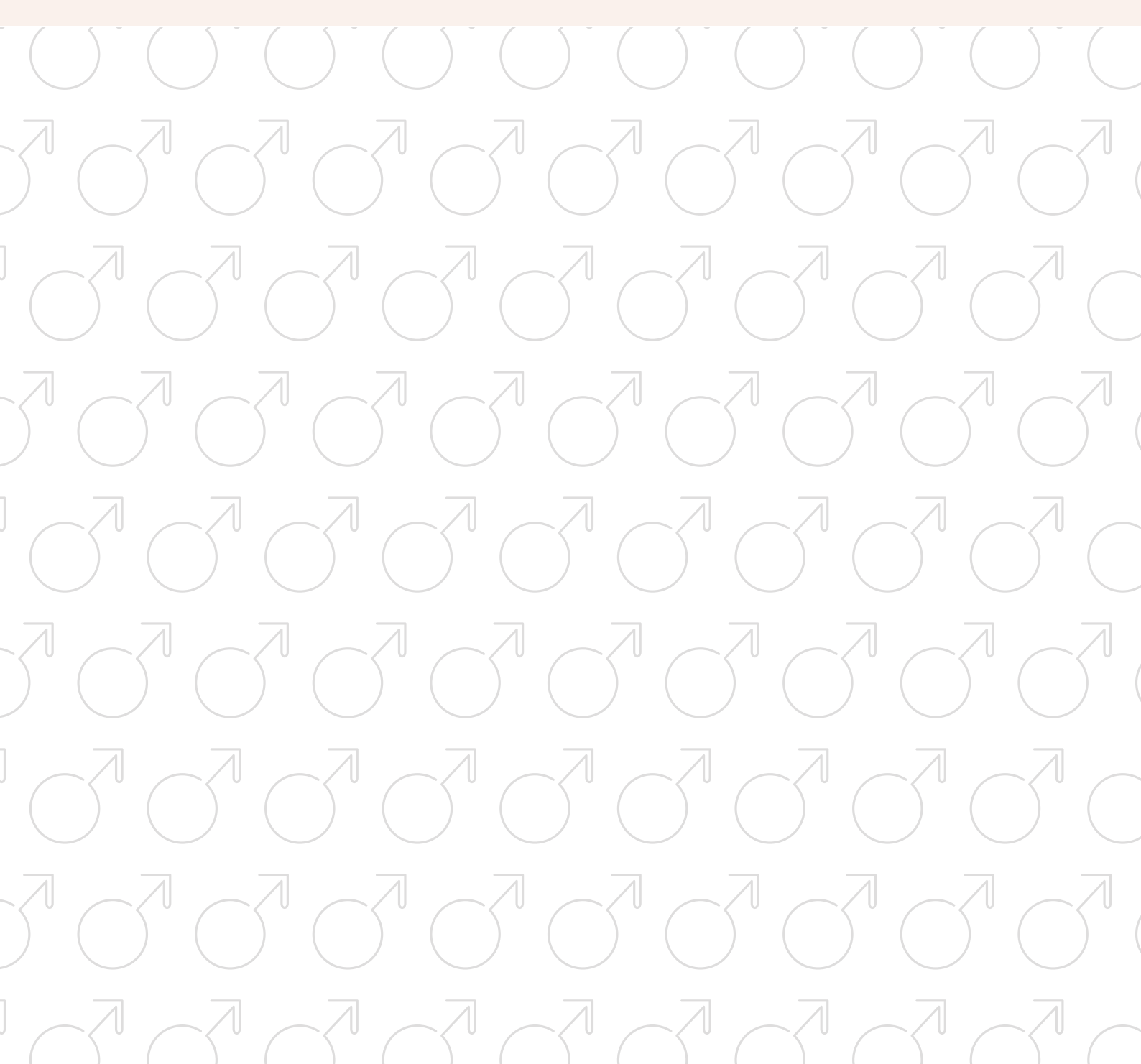
(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

6. CONCLUSÃO

Através do processo de espermatogênese ocorrem replicação, recombinação e segregação de material genético, com redução do número de cromossomos, e a ocorrência destes eventos permite a multiplicação da própria espécie.

7. RESUMO

- As principais células envolvidas na espermatogênese são as células de Sertoli, as células germinativas e as células de Leydig.
- As células de Sertoli oferecem suporte físico, proteção e nutrição às células da linhagem espermática.
- As células germinativas são as espermatogônias, os espermatócitos e as espermátides.
- A espermatogênese pode ser dividida em três fases: fase proliferativa ou espermatocitogênese, a meiose e a fase de diferenciação ou espermiogênese.
- Cada segmento do túbulo seminífero em um dado momento está em uma fase do ciclo do epitélio seminífero diferente daquela dos segmentos vizinhos.
- O ciclo de epitélio seminífero é dividido em oito fases, podendo ter mais ou menos fases dependendo da metodologia de classificação das associações celulares utilizada.
- Cada fase do ciclo do epitélio seminífero é caracterizada por um tipo de associação celular e cada fase tem uma duração específica.
- A liberação de espermatozoides no lúmen ocorre em apenas uma das fases do ciclo do epitélio seminífero.
- Uma espermatogônia indiferenciada passa por até 4,2 ciclos do epitélio seminífero para ser transformada em espermatozoide e atingir o lúmen do túbulo.
- A duração da espermatogênese em cada espécie está associada à duração do ciclo do epitélio seminífero.



5

Anatomia do Espermatozoide e Fisiologia do Movimento

***Autores: Laila Succar Teixeira do Rosario Rahme
Marc Henry***

META DO CAPÍTULO

Transmitir o quanto esta célula é especializada.

Explicar o funcionamento do movimento dos espermatozoides.

Permitir identificar anormalidades de forma e de movimento dos espermatozoides.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este módulo você seja capaz de:

- Identificar todos os segmentos da célula espermática com suas particularidades.
- Compreender e inter-relacionar as estruturas com suas funções específicas.
- Compreender como o espermatozoide se movimenta.

1. INTRODUÇÃO

O espermatozoide é uma célula com características bem específicas e é fácil de ser reconhecida. Ela é constituída de duas partes morfológica e funcionalmente distintas: a cabeça e a cauda. A cauda se subdivide em quatro segmentos: o mais próximo à cabeça ou local de sua inserção é o **colo**, e em sequência temos a **peça intermediária**, a **peça principal** e depois, a **porção terminal da cauda**.

2. CABEÇA

A cabeça do espermatozoide, na maioria dos mamíferos, possui forma achatada e oval (Figura 1). Nela está contido um núcleo haploide altamente condensado que está delimitado por uma membrana nuclear. O DNA no núcleo está inativo e muito compactado para que o volume seja o menor possível e facilite a movimentação da célula pelo trato genital feminino. Na porção anterior da cabeça do espermatozoide, recobrindo aproximadamente 2/3 do núcleo (podendo ser um pouco menos dependendo da espécie), está localizada uma estrutura que possui importante papel durante a fertilização, o acrossoma.

O acrossoma é como uma bolsa achatada que recobre a cabeça e é delimitado por duas

membranas: a membrana acrossomal interna, que se justapõe à membrana nuclear, e a membrana acrossomal externa. Entre as duas membranas acrossomais existe um espaço que é preenchido pelo conteúdo acrossomal, rico em enzimas e outras substâncias que terão grande utilidade na hora da fertilização (veja o capítulo de Maturação e Capacitação Espermática, Reação Acrossômica e Fertilização). A porção terminal do acrossoma, na região média da cabeça dos espermatozoides, é identificada como zona equatorial. Em algumas espécies é facilmente visível em microscopia de contraste de fase.

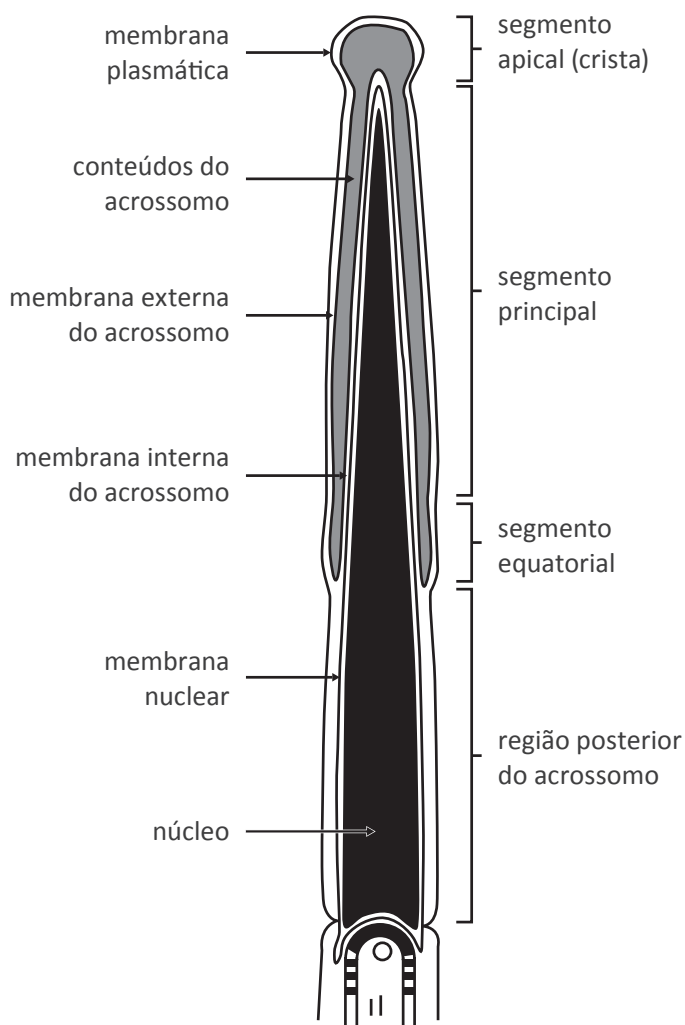


Figura 1. Cabeça do espermatozoide. [Fonte: Modificada de HAFEZ, E. S. E. *Reproduction in domestic animals*. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993.]

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

3. CAUDA

Durante a formação dos espermatozoides, na fase conhecida como espermiogênese, a cauda, também chamada de flagelo, é originada dos dois centríolos existentes nas espermatídes. Um deles se transforma na estrutura chamada de colo (inserção da cauda ou pescoço) e o outro se transforma em axonema, que é a estrutura principal de toda a cauda (Figura 2).

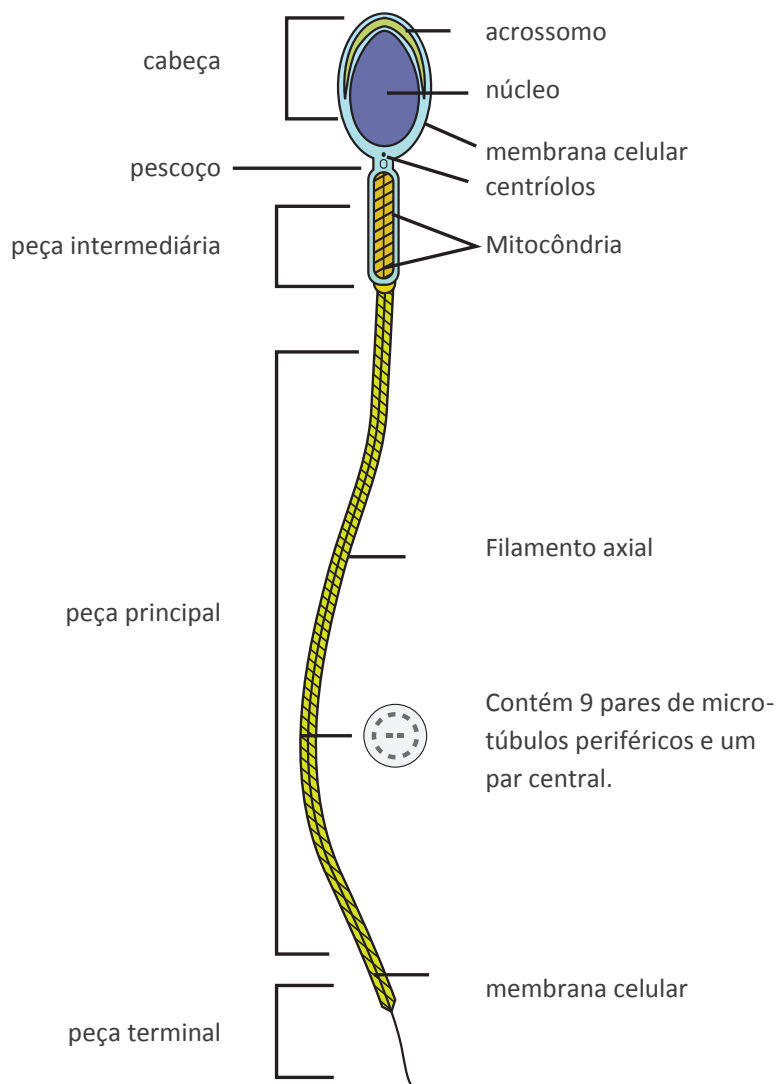
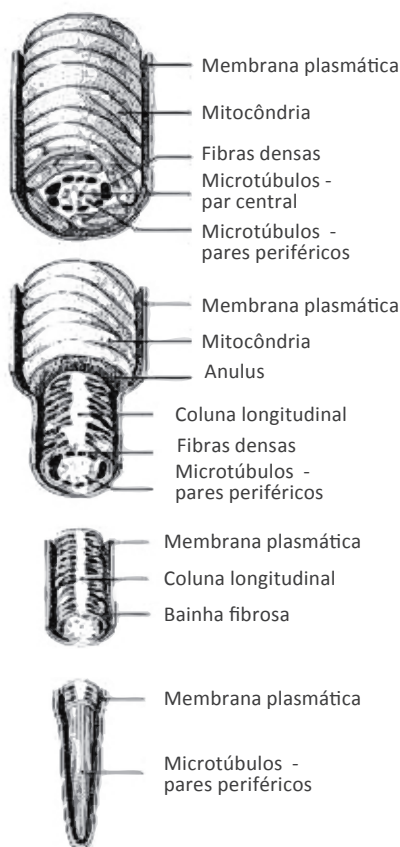


Figura 2. Detalhamento das partes do espermatozoide. [Fonte: Modificada de http://www.creationofman.net/chapter1/chapter1_11.html]

O axonema é formado por nove pares de microtúbulos distribuídos concentricamente em volta de um par de microtúbulos que se localiza centralmente. Externamente a cada par de microtúbulos está associada uma fibra densa (total de nove). As fibras densas de número três e oito se transformam em estruturas ainda mais densas, as colunas longitudinais,



na porção da cauda não recoberta pelas mitocôndrias. As duas colunas longitudinais estão interligadas por estruturas densas que têm o aspecto de costelas (Figura 3). Entre as funções destas estruturas densas está a de prover estabilidade à ordenação espacial dos pares de microtúbulos.

As mitocôndrias presentes na espermátide se alinham em forma de hélice em volta da primeira parte da cauda, formando a “peça intermediária”. A porção da cauda que não é recoberta pelas mitocôndrias é denominada “peça principal” e no final deste segmento, quando os microtúbulos perdem a sua distribuição espacial ordenada, começa a região final da cauda denominada de “peça terminal”.

ATENÇÃO!

Em toda a extensão, da cabeça à porção terminal da cauda, o espermatozoide é externamente recoberto pela “membrana plasmática”.

Vale a pena registrar que não há comunicação entre o compartimento submembrana plasmática da região da cabeça com este mesmo compartimento formado na região da cauda.

Figura 3. Cauda [Fonte: Modificada de Christopher J., and B., Christopher. *The Sperm Cell*. Cambridge University Press, New York.]

4. COMO O ESPERMATOZOIDE SE MOVIMENTA?

Para que os reprodutores sejam férteis, é muito importante que os espermatozoides possuam boa motilidade. Um animal com espermatozoides que apresentem baixa motilidade ou motilidade inadequada terá dificuldades para procriar.

LEMBRE-SE:

Durante a espermiogênese, o espermatozoide vai perdendo citoplasma e vai ficando mais leve, até chegar ao seu formato final.

Isso permite que ele se transforme em uma célula menor e se movimente de maneira mais fácil.

A cauda é a parte do espermatozoide responsável pela propulsão e movimentação do mesmo. Os espermatozoides da maioria dos mamíferos possuem dois tipos de motilidade:

1. O movimento ativo, como é visto nos espermatozoides recém-coletados, que é simétrico, de baixa amplitude, com a movimentação da cauda em forma de onda. Este tipo de movimento da cauda resulta no deslocamento retilíneo dos espermatozoides e é o movimento responsável para que a célula atinja a extremidade do útero e adentre o oviduto.
2. O segundo tipo de movimento é o hiperativo, e é visto nos espermatozoides que passaram pela capacitação. Em condições de normalidade, a capacitação deve ocorrer quando o espermatozoide está no oviduto. Esta forma de movimento é essencial para o espermatozoide atingir e penetrar o oócito. O espermatozoide que se capacita quando o óvulo já está no oviduto tem mais chances de ser aquele que o fertilizará. O movimento hiperativo da cauda é assimétrico, de alta amplitude e gera, quando o espermatozoide está em meio líquido, um deslocamento em forma de círculo ou de “8”, mas quando o espermatozoide hiperativado está em meio gelatinoso, o deslocamento passa a ser retilíneo.

4.1 COMO É GERADO, ENTÃO, O MOVIMENTO DA CAUDA?

Para entendermos como é gerado o movimento espermático temos que aprofundar nossos conhecimentos sobre a estrutura que de fato é o motor, isto é, o axonema, propriamente dito.

Foi registrado acima, que o axonema é formado por nove pares de microtúbulos, você está lembrado? Então, vamos ver com mais detalhamento como cada par é constituído. Nos espermatozoides, cada par de túbulos é constituído por um túbulo denominado de “A” com 10 a 11 filamentos (túbulo interno) e o denominado de “B”, com 13 filamentos (túbulo externo) ordenados um ao lado do outro, formando um tubo. Cada filamento é composto por uma sequência de proteínas que se ligam ordenadamente de forma linear.

CURIOSIDADE!

O cílio das células ciliadas e o flagelo das células de eucariontes apresentam uma estrutura similar à cauda dos espermatozoides e o movimento de todos segue o mesmo princípio.

ATENÇÃO!

Os filamentos dos microtúbulos dos espermatozoides são formados quase que somente pelas proteínas denominadas alfa e beta-tubulinas, enquanto os túbulos e os axonemas de células ciliadas são compostos por uma associação de mais de 200 proteínas diferentes !

Ao longo de toda a extensão do túbulo “A” se ligam proteínas, duas a duas, que são denominadas de dineínas, e que correspondem cada uma a um braço, o interno e o externo. Existem outras proteínas ligadas ao túbulo “A” que conectarão o par de túbulos central a cada um dos nove pares concêntricos, formando como se fossem raios, e resultando em uma estrutura com 9 pares de túbulos interligados ao par central. Veja com detalhamento a figura 4, e se certifique que compreendeu como os microtúbulos estão interligados aos pares.

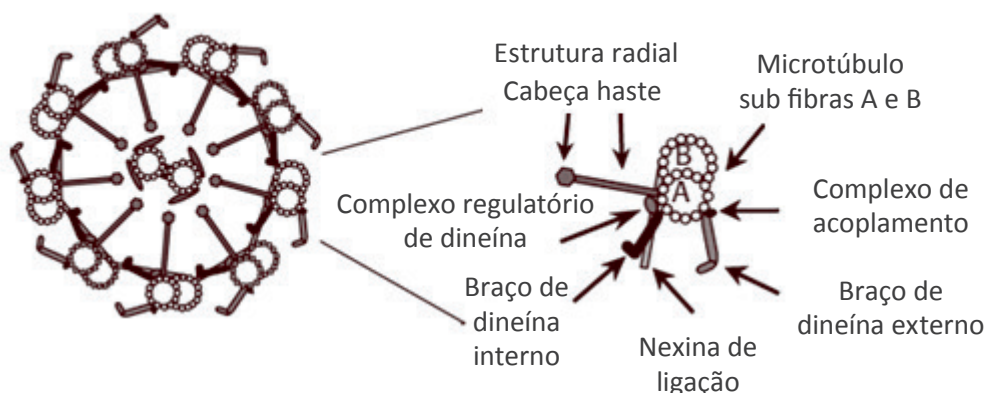


Figura 4. Estrutura do axonema. [Fonte: Modificada de Christopher J., and B., Christopher. *The Sperm Cell*. Cambridge University Press, New York.]

Para que ocorra o movimento da cauda há a necessidade dela se dobrar ora para um lado ora para o outro. Para que a dobra se faça, em um lado ocorrerá sequencialmente a ativação da ligação e a contração dos braços de dineína em toda extensão de uma hemiparte da cauda, correspondendo ao lado da dobra. Enquanto isto, no outro lado, os braços de dineína ficam em repouso. Na sequência, para a cauda voltar à posição de repouso, as ligações feitas entre os braços de dineínas e os microtúbulos adjacentes localizados naquela hemiparte se soltam. Imediatamente após a cauda atingir a posição de repouso ocorre a ligação e contração dos braços de dineína na outra hemiparte da cauda. A sucessão de ligações, contrações e solturas dos braços de dineína alternadamente nas mesmas hemipartes da cauda resultam em movimento em apenas um plano, denominado de movimento “ativo”.

No movimento hiperativo as ligações de braços de dineínas entre pares de microtúbulos e as contrações dos mesmos ocorrem de forma mais intensa e de forma desordenada entre as hemipartes do flagelo. A resultante é a dobra do flagelo em diversos planos e com movimentos de maior intensidade levando, como já descrevemos, ao aparecimento, em meio fluido, de um deslocamento circular ou em forma de oito.

A energia para a motilidade flagelar é derivada da adenosina trifosfato (ATP). A ATP é regenerada pela degradação da glicose ou frutose em lactato através da glicólise e pela oxidação mitocondrial de substratos através do **ciclo de Krebs**. A adenosina monofosfato cíclica (cAMP), a proteína kinase A (PKA) e os canais de cálcio são os principais reguladores da motilidade espermática. A mitocôndria é fonte importante de energia, no entanto, várias evidências indicam que as colunas longitudinais e bainhas fibrosas que estão ao longo de toda cauda, são sítio de glicólise, contribuindo em algum momento, no provimento de energia.

O aumento da concentração de cálcio na célula é indispensável para a motilidade dos espermatozoides. É sabido, que o cálcio intracelular é capaz de regular a motilidade ativada e a hiperativada. Quanto maior a concentração de cálcio intracelular, maior será a produção de cAMP e a ativação da PKA. Assim, o espermatozoide se tornará mais ativado ou hiperativado.

Para que você fixe as informações repassadas é necessária a leitura da literatura complementar, mas você pode procurar por outras através de pesquisa própria. Não se esqueça de que a cada dia novos conhecimentos são gerados, e neste nível de entendimento, novidades são frequentes. Apesar de parecer que o movimento do flagelo está totalmente esclarecido, na verdade, não é bem assim. Permanecem muitos questionamentos a serem elucidados...

O movimento do flagelo é uma função importante do espermatozoide, no entanto, outras transformações deverão ocorrer nestas células antes de adquirirem a plena capacidade de fertilizarem um oócito. A capacitação e a reação acrossômica, precedem a transposição da zona pelúcida e a fusão da membrana espermática com a membrana plasmática do oócito. Estes processos serão abordados em outro capítulo.

Se houver algum defeito nas proteínas do axonema, o flagelo terá movimento atípico ou não terá movimento, prejudicando assim a fertilização.

ATENÇÃO!

Astenozoospermia é o termo utilizado para caracterizar espermatozoides vivos e imóveis.

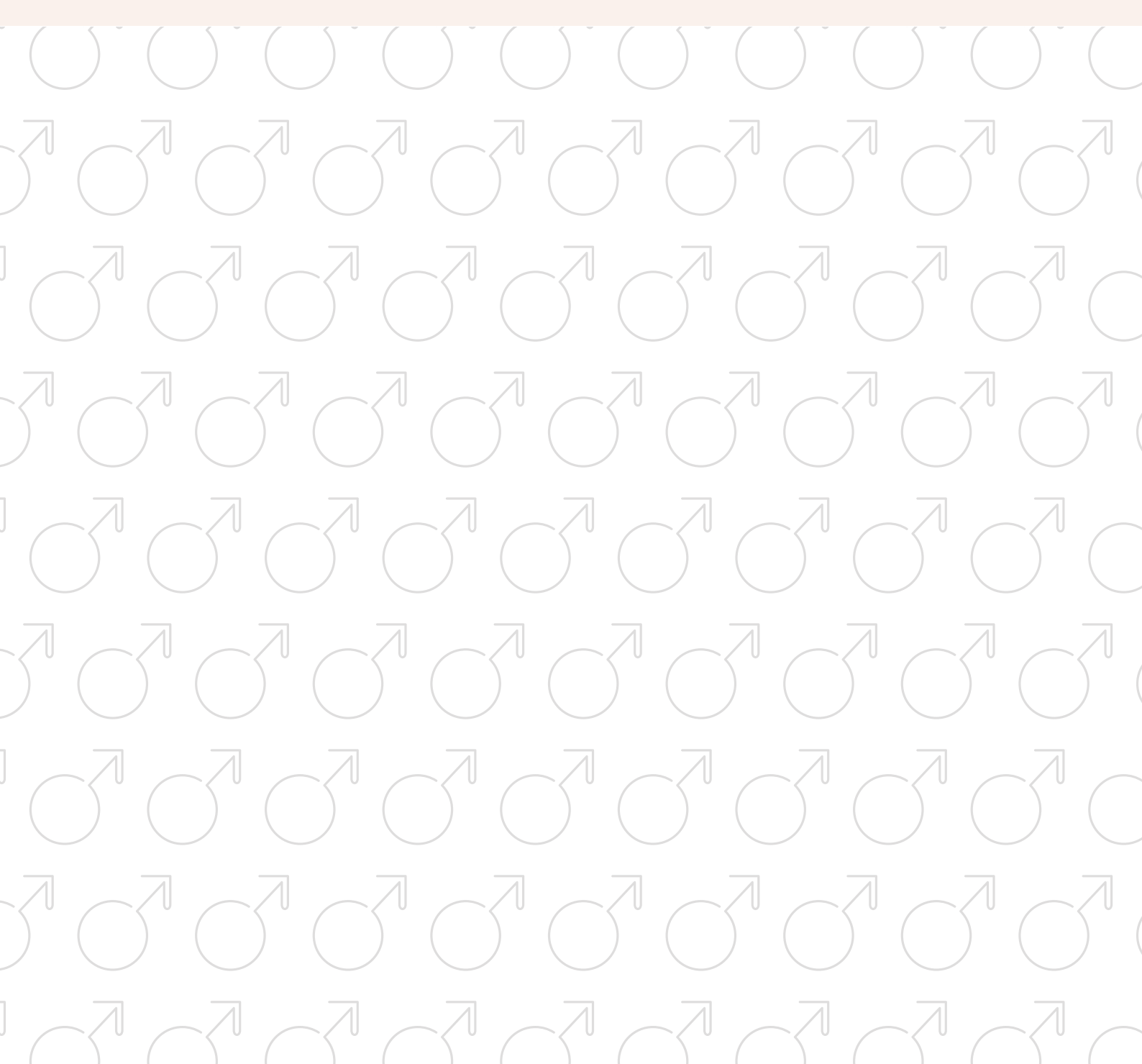
Foi demonstrado pela microscopia eletrônica, que uma causa (dentre outras que possam existir) da presença de astenozoospermia em alguns espermatozoides, está ligada à ausência de braços de dineína, alteração não detectada pela microscopia convencional.

5. CONCLUSÕES

O espermatozoide é uma célula morfológica atípica e é altamente especializada e complexa. Seu perfeito funcionamento depende de uma grande quantidade de processos químicos e bioquímicos finamente ajustados. O conhecimento e o entendimento destes processos permitirão identificar e corrigir deficiências e permitirão aumentar a longevidade e evitar danos aos espermatozoides preservados “in vitro”.

6. RESUMO

- O espermatozoide é constituído de duas partes morfológica e funcionalmente distintas: a cabeça e a cauda.
- Na cabeça do espermatozoide está contido o DNA, inativo e compactado.
- Na porção anterior da cabeça está o acrossoma, que contém enzimas acrossomais, importantes na hora da fertilização.
- A peça intermediária do espermatozoide contém as mitocôndrias.
- A cauda ou flagelo possui duas partes anatômicas importantes: o colo e o axonema.
- O axonema é formado por nove pares de microtúbulos que envolvem um par de microtúbulos centrais.
- As proteínas chamadas de dineínas formam uma espécie de braços, o interno e o externo, que estão ligados ao microtúbulo “A”, e ambos participam ativamente na geração do movimento flagelar.
- A energia necessária para o movimento flagelar é derivada do ATP produzido na cauda.



6 ***Maturação e Capacitação Espermática, Reação Acrossômica e Fertilização***

***Autores: Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri***

META DO CAPÍTULO

Mostrar que o espermatozoide produzido no testículo precisa passar por uma série de mudanças antes de adquirir a capacidade de se movimentar e fertilizar.

Demonstrar que uma vez ejaculados e dentro do sistema genital feminino, os espermatozoides precisam sofrer uma série de modificações para poderem chegar ao ócito, atravessar a zona pelúcida e, apenas um deles, ser o doador do material genético.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Saber quais as principais modificações que acontecem no espermatozoide durante o trânsito pelo epidídimo.
- Entender o que é capacitação.
- Explicar por que depois da capacitação o tempo de vida do espermatozoide é bastante restrito.
- Entender como o espermatozoide é capaz de passar pela zona pelúcida e penetrar o citoplasma do ócito.

1. INTRODUÇÃO

A espermatogênese finda quando os espermatozoides são liberados dentro do lúmen dos túbulos seminíferos. Depois disto, são levados através dos túbulos retos, passando pelo mediastino e na sequência, pelos túbulos eferentes, até chegarem a um ducto único, o ducto epididimário. Acompanha aos espermatozoides um fluido produzido pelas células de Sertoli que serve para conduzi-los. Neste fluido, inúmeras são as moléculas (proteínas, glicoproteínas, açúcares, glicolipídeos, entre outras) e íons que fazem parte da sua composição. Ao saírem dos testículos, os espermatozoides apresentam uma morfologia altamente especializada, isto é, uma cabeça achatada e uma cauda, mas precisam ainda passar por uma série de transformações e ajustes para poderem adquirir a capacidade de fertilizar o ócito.

Estas transformações ocorrerão em vários locais. As transformações que ocorrem no epidídimo englobam o processo denominado de maturação espermática, e após a ejaculação, já dentro do sistema genital feminino, deve ocorrer outra transformação chamada de capacitação. A capacitação prepara o espermatozoide para se deslocar em

direção ao oócito, e já próximo deste, tem que ocorrer outro processo chamado de reação acrossômica para que o espermatozoide possa atravessar a zona pelúcida do oócito. Após passar a zona pelúcida, a membrana plasmática do espermatozoide deve se fundir à membrana do oócito para que o material genético proveniente das duas partes possa formar o zigoto.

Notem quantos são os ajustes que os espermatozoides têm que passar ao longo de seu trajeto. E para que tudo dê certo estes devem ocorrer de forma correta e no momento certo. Qualquer erro em qualquer uma destas fases leva à morte precoce dos espermatozoides e ao insucesso. É nosso objetivo neste capítulo apresentar a vocês cada uma destas fases, tratá-las de forma bastante simplificada para facilitar o entendimento. Assim, veremos que com o avanço da ciência os mecanismos envolvidos em cada uma das fases vão sendo melhor compreendidos, atribuindo ao que já é fato uma série de novas informações.

2. MATURAÇÃO ESPERMÁTICA

O processo preparatório para as mudanças que irão ocorrer no epidídimo é iniciado pela absorção de grande parte dos fluidos que conduziram os espermatozoides dos túbulos seminíferos até a saída dos testículos. Essa fase ocorre em boa parte quando da passagem dos espermatozoides pelos túbulos eferentes (reavive sua memória recordando a anatomofisiologia). Consequentemente, observa-se, já a partir do início do trânsito no lúmen epididimário, uma massa compacta de espermatozoides, que será levada durante todo trânsito por este órgão. Além da retirada do líquido, boa parte das moléculas provenientes dos testículos também é absorvida e gradativamente substituída por secreções originadas no próprio epidídimo. Dentre estas, estão as principais proteínas produzidas pelas células de Sertoli, as denominadas *clusterinas* e *transferinas*.

Para melhor entender o que vai acontecer ao longo do trânsito epididimário é bom lembrarmos a constituição deste órgão. Macroscopicamente, o epidídimo é dividido em cabeça, corpo e cauda, no entanto, baseado em características histológicas e na execução de certas funções, o epidídimo é subdividido em mais regiões. Alguns estudiosos o subdividem de seis até nove segmentos ou regiões. O que de fato precisamos guardar é o conceito de que em cada uma das regiões, particularmente ao longo da cabeça e do corpo do epidídimo, ocorrerão diferentes transformações no espermatozoide. Depois disso, quando chegarem à cauda do epidídimo que é o local onde serão armazenados, é que eles terão a plena competência de executar as diversas funções para os quais foram produzidos.

Também é conveniente lembrar que ao longo do epidídimo existem diferentes tipos celulares, algumas células ciliadas e outras não. Dentre as células que recobrem o lúmen do epidídimo estão as células principais que podem ser identificadas em toda extensão do ducto e correspondem de 65 a 80% do total de células do epitélio. Estas células perdem a capacidade de se dividirem em animais adultos e são responsáveis pela síntese de uma larga gama de proteínas e glicoproteínas. As células basais estão presentes em toda extensão do ducto e não se dividem na idade adulta. As células estreitas e apicais são vistas somente no segmento inicial e intermediário do epidídimo. As células denominadas

de “clear” e “halo” são encontradas na cabeça, corpo e cauda do epidídimo. Cada uma destas células com funções específicas.

A atividade epididimária é controlada de diversas formas:

- A primeira é a endócrina, na qual a testosterona exerce seu efeito principalmente após sua transformação, no próprio epidídimo, em dihidrotestosterona. A testosterona pode chegar ali transportada no fluido proveniente dos túbulos seminíferos, ligada à proteína transportadora de andrógenos ou via corrente sanguínea. Foi também demonstrado que o estrogênio produzido nos testículos participa estimulando a absorção de líquidos e na consequente concentração dos espermatozoides nos túbulos eferentes.
- Existe também o controle via o próprio lúmen do epidídimo. Secreções, íons, solutos orgânicos, proteínas e andrógenos vindos do testículo ou produzidos em um determinado segmento do epidídimo exercendo uma função reguladora em um segmento posterior.
- O controle parácrino também é exercido quando secreções produzidas por algumas células exercem influência em segmentos vizinhos.

O epidídimo é uma estrutura altamente especializada e secretora. Para que se tenha uma ideia, a maioria dos componentes do líquido epididimário é secretada pelo próprio ducto. Considerando apenas as proteínas, são conhecidas mais de 100 diferentes que apresentam alto grau de polimorfismo, no entanto, 80 a 90% de todas elas representam apenas 10 tipos diferentes de proteínas. Sabe-se também que mais de 80% destas proteínas são originárias da cabeça e do corpo do epidídimo. Por outro lado, em um determinado segmento, mais de 50% das proteínas pode ser representado por apenas uma proteína. Assim, podemos notar o quanto cada segmento pode ser especializado em uma determinada função. O objetivo de fornecermos um pouco mais de detalhes sobre “as proteínas” é para mostrar como os espermatozoides podem estar em contato com um ambiente em um determinado segmento do epidídimo e ter outro bastante diferente em outro segmento.

2.1 O QUE ACONTECE COM OS ESPERMATOZOIDES?

Em todo trajeto e em cada região e sub-região, através de reações bioquímicas são retiradas moléculas ou íons componentes das membranas e estruturas dos espermatozoides e que, por sua vez, passam a ser substituídas por outras. Estas mudanças vão ocorrendo dependendo da composição do meio que banha os espermatozoides e do segmento por onde estão transitando.

2.2 QUE TIPO DE MUDANÇAS SÃO ESTAS?

Mudanças na composição lipídica e mudanças na composição protéica, quer sejam pela redistribuição das mesmas no próprio espermatozoide, por proteólise e ação de enzimas presentes no fluido ou pela incorporação de proteínas (entre outros substratos) secretadas no local ou provenientes de segmentos anteriores. Várias proteínas presentes nos espermatozoides e modificadas durante o trânsito são essenciais à fertilidade como, por exemplo, a fertilin, cyritestin, gACE, entre outras.

É importante ter clareza de que certas incorporações, com ou sem substituição de moléculas, ocorrerão em um determinado segmento do epidídimo e não em outro, e que

outras modificações iniciarão em um segmento e continuarão nos subsequentes. Certas modificações só ocorrerão em um segmento posterior, se nos segmentos anteriores estas forem precedidas pela incorporação de determinadas moléculas ou íons.

Considerando esse aspecto poderíamos comparar o epidídimo a uma fábrica de carros automatizada – robotizada. O carro não para na linha de produção, e a cada segmento, uma peça ou um parafuso é adicionado ou apertado. Se um determinado segmento da linha de produção falhar e a falha não for corrigida imediatamente, o carro sairá no final da linha faltando alguma coisa, e logicamente, com defeito. Podemos considerar o epidídimo como algo similar, sabendo que a passagem de espermatozoides não para. Se, por qualquer problema, um segmento do epidídimo deixar de exercer sua função ou exercê-la de forma incorreta, os espermatozoides que estavam passando ali naquele momento da falha serão liberados no ejaculado com algum defeito mais ou menos grave. Isto nos ajuda a entender que o epidídimo contribui na formação de ejaculados com populações de espermatozoides que não são exatamente iguais a outras.

O conceito da existência de subpopulações espermáticas dentro de um mesmo ejaculado já está bem estabelecido. Considerando o que acabamos de descrever sobre a forma do epidídimo atuar, fica mais fácil aceitar a possibilidade de existirem subpopulações de espermatozoides dentro de um mesmo ejaculado. Podemos imaginar então, que entre ejaculados isto estaria também acontecendo.

REFLEXÃO!

Faça agora um exercício de imaginação:

O que poderia estar acontecendo na população espermática que está transitando pelo epidídimo quando o reprodutor passa por um pico febril? Ou por uma deficiência transitória de algum nutriente essencial? Vários dias depois, estes espermatozoides estariam chegando à cauda do epidídimo e estariam se juntando a outros que não passaram por estes problemas. A capacidade fertilizante deste ejaculado dependeria da duração e intensidade destes problemas e do quanto estas mudanças interferiram no ajuste destes espermatozoides. Estamos propondo uma reflexão só considerando a interferência em nível de epidídimo. Lembre-se que falhas podem também ocorrer durante a espermatogênese ou concomitantemente ao longo das duas fases.

2.3 QUAIS MUDANÇAS ESTARIAM OCORRENDO NOS ESPERMATOZOIDES DURANTE SEU TRAJETO PELO EPIDÍDIMO?

Vamos citar algumas:

- Ao adentrar o epidídimo, as fitas de DNA presentes no núcleo dos espermatozoides têm um grau de compactação ainda insuficiente. Quando os espermatozoides estão na cabeça do epidídimo existem poucas ligações dissulfeto, responsáveis pela maior compactação do DNA. Mas, a quantidade destas ligações vai aumentando gradativamente conforme o trânsito pelo tubo epididimário. Dessa forma quando os espermatozoides chegam ao corpo do epidídimo já existe um grau que vai de moderado a alto destas ligações e na cauda do epidídimo, o grau de ligações é alto e as fitas de DNA estão bem adensadas.

- A Adenosina Monofosfato participa das reações bioquímicas ligadas à motilidade espermática. Quando os espermatozoides estão passando pela cabeça do epidídimo a concentração intracelular de AMPc ainda é baixa. Neste segmento os espermatozoides não são móveis ou têm uma motilidade incipiente. No corpo do epidídimo, em resposta a sinais externos transferidos pela membrana plasmática há um aumento da fosforilação de proteínas das fibras densas e do complexo do axonema associado ao aumento do AMPc. Também há a secreção de proteínas ligadas e expressão da motilidade progressiva. Na cauda do epidídimo, as caudas dos espermatozoides apresentam pleno potencial para se movimentarem quando adicionados ao líquido seminal e isto está relacionado à maior disponibilização de AMPc, entrada de cálcio, e mudanças no status de fosforilação de proteínas específicas de membrana.
- Observou-se que quando os espermatozoides passam pelo corpo do epidídimo há aumento da permeabilidade da membrana plasmática e ocorre a redução da resistência do espermatozoide ao choque térmico.
- Alterações na composição da membrana (lipídeos, proteínas e carboidrato) que favoreçam a sobrevivência do espermatozoide no trato feminino ocorrem durante o trânsito e o espermatozoide adquire a capacidade de se ligar à zona pelúcida. Alterações na membrana plasmática, nas mitocôndrias e em elementos da cauda para potencializar a utilização da ATP e direcionar a energia para movimentação foram observadas.
- A gota citoplasmática que está na posição proximal quando os espermatozoides entram no epidídimo é translocada para a posição distal ao longo do trajeto. Na cauda do epidídimo, em condição de normalidade, as gotas estão todas na posição distal e serão eliminadas no ato da ejaculação.
- Observou-se que os espermatozoides localizados na cabeça do epidídimo não apresentam capacidade de fertilizar, o que poderá ocorrer quando atingirem a cauda do epidídimo.
- A concentração espermática vai mudando ao longo do trajeto. Na cabeça corresponde a $25-50 \times 10^6/\text{ml}$, no corpo a $8-25 \times 10^9/\text{ml}$ e na cauda a $10-50 \times 10^9/\text{ml}$.

Todas estas mudanças, dentre outras conhecidas e ainda não conhecidas que ocorrem nos espermatozoides durante o trânsito epididimário, fazem parte do processo denominado “maturação espermática”. No entanto, os espermatozoides ainda permanecem por um período de tempo armazenados na cauda do epidídimo. E, para que mantenham a capacidade fertilizante por um longo tempo neste local, são armazenados de forma a gastarem o mínimo de energia mantendo o potencial de mobilidade e as demais funções que ainda deverão exercer (Tabela 1). Portanto, na cauda do epidídimo, para manter a longevidade, os espermatozoides são mantidos em quiescência (adquirem motilidade ao entrarem em contato com o líquido seminal ou algum meio extensor que venha a ser adicionado), em um ambiente que favorece a manutenção da viabilidade. Para isto são produzidas proteínas específicas tipo imobilina (espécie-específica) que mantêm as caudas imóveis; outros fatores imobilizantes conhecidos são de origem do epitélio epididimal que mantêm o ambiente iônico (cálcio, pH, HCO_3^-) em condições ideais ao estado de imobilidade, isto é, menor quantidade de cálcio e pH mais baixo. Este controle é também exercido mantendo a presença ou ausência de determinados substratos energéticos, por exemplo, manutenção de baixa concentração de ATP. Estas são, dentre outras, formas de proteção dos espermatozoides.

TABELA 1. TEMPO DE TRÂNSITO EPIDIDIMÁRIO*

ESPÉCIE	CABEÇA	CORPO	CAUDA	TOTAL
Suína	3	2	4-9	9-14
Bovina	2	2	10	14
Humana	1-2	0,5	5	6,5-7,5
Ovina	1	3	8	12
Equina	1	2	6	9

* Dias de passagem do espermatozoide através dos compartimentos. Senger (2003)

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

3. CAPACITAÇÃO ESPERMÁTICA

Tivemos a oportunidade de aprender que os espermatozoides, ao saírem dos testículos, ainda passam por uma série de transformações e ajustes durante o seu trânsito pelo epidídimo. Uma vez na cauda do epidídimo poderíamos imaginar que o espermatozoide estaria totalmente pronto para fertilizar um oócito. Na verdade ele adquiriu este potencial, mas para executar esta função ele ainda precisa passar por algumas mudanças.

Dissemos que na cauda do epidídimo o espermatozoide era mantido de tal forma que o metabolismo e a atividade dele era bastante restrita com o intuito de aumentar sua longevidade naquele local. No entanto, ao serem ejaculados, os espermatozoides entram em contato com o líquido seminal que é composto por uma gama muito grande de componentes provenientes, na maioria das espécies de animais domésticos, de várias glândulas anexas (veja capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho). Dentre todos os componentes, alguns estimulam a motilidade, enquanto outros podem levar à desestabilização das membranas e são os chamados “fatores capacitantes”. Outros componentes têm uma função justamente oposta, pois são os que provêm maior estabilidade às membranas e são chamados “fatores decapacitantes”.

Uma vez no sistema genital feminino a luta dos espermatozoides será manter a viabilidade até a chegada do(s) oócito(s). Para eles continuarem sua função, antes de fertilizar o oócito os espermatozoides devem passar por um processo denominado capacitação. Entretanto, os espermatozoides não podem sofrer esta mudança, ou seja, a capacitação, antes que o(s) oócito(s) esteja nas imediações, porque uma vez capacitados, a meia vida de cada um já está determinada. Qualquer demora no encontro do oócito levará à morte espermática sem terem tido a oportunidade de concorrerem para travessia da zona pelúcida. Portanto, os fatores decapacitantes que estão no líquido seminal são altamente importantes para ajudarem a manter a estabilidade do espermatozoide por mais tempo, particularmente

das membranas, enquanto estiverem aguardando a chegada do(s) oócito(s) dentro do sistema genital feminino.

3.1 O QUE É A CAPACITAÇÃO, ONDE E QUANDO DEVE OCORRER?

Como podemos imaginar seria interessante que os espermatozoides tivessem uma longevidade bastante grande dentro do sistema genital e com isto aumentassem as suas chances de fertilização. Para isto a natureza criou os chamados “reservatórios espermáticos”, que são locais onde um grande número de espermatozoides é mantido intacto até o momento adequado. Estes sítios variam de espécie para espécie, mas hoje se sabe que no istmo, segmento inicial do oviduto, muitos espermatozoides se mantêm aderidos ao epitélio luminal até iniciar o processo de capacitação, e a partir daí, novamente se movimentarem em direção à ampola (segmento médio do oviduto) onde deve ocorrer a fertilização.

A capacitação que é iniciada em tempos diferentes nos diferentes espermatozoides estacionados no istmo, nada mais é, em uma primeira fase, do que a retirada da superfície dos espermatozoides dos fatores decapacitantes e das moléculas do líquido seminal que se aderiram para prover maior estabilidade. Com a remoção desses fatores decapacitantes, as moléculas da superfície dos espermatozoides que funcionam como receptores que se ligam à zona pelúcida são expostas. Além disto, a membrana plasmática, particularmente aquela que recobre o acrossoma, se torna mais instável. A instabilidade da membrana é provocada pelas secreções uterinas e tubáricas, associadas à presença de determinados hormônios, dentre os quais, a progesterona.

Como exemplo, dentre as moléculas presentes nas secreções produzidas localmente estão a albumina e os glicosaminoglicanos. A albumina tem sido associada à retirada de moléculas de colesterol da membrana plasmática. O colesterol é uma das moléculas que reduzem a mobilidade dos fosfolipídios presentes na bicamada que compõem as membranas, provendo estabilidade à membrana (veja capítulo de Anatomia do Espermatozoide e Fisiologia do Movimento). Com a retirada destes, ocorre um rearranjo da membrana plasmática, as proteínas integrais (que funcionam como poros) acabam se deslocando, aumentando a permeabilidade da membrana a íons e moléculas maiores (Figura 1). Os glicosaminoglicanos que se ligam à membrana plasmática e ao Cálcio intracelular ativariam certas enzimas (entre as quais a fosfolipase A2) presentes na membrana plasmática e participariam na desestabilização das membranas. As consequências da ação destes fatores, entre vários que influenciam todo o processo, acabam permitindo a entrada de cálcio em maiores quantidades para dentro da célula e esta entrada está associada à hiperativação da motilidade espermática.

A motilidade espermática convencional é caracterizada pelo batimento do flagelo em apenas um plano, com uma amplitude de $25 \pm 8 \mu\text{m}$ e frequência de $8 \pm 1,4 \text{ Hz}$. A hiperativação da motilidade eleva a amplitude dos movimentos para $38 \pm 6 \mu\text{m}$ e a frequência para $10 \pm 2,8 \text{ Hz}$ levando a cauda a se deslocar em múltiplos planos. Com a motilidade hiperativada, o espermatozoide se desloca em direção ao oócito.

O tempo aproximado de duração do processo de capacitação é de quatro a seis horas para o hamster, quatro horas para o rato, uma e meia a três horas para o varrão, oito horas para o touro, duas horas para o carneiro, seis a oito horas para o coelho e dez a doze horas para o porco da Índia.

Resumindo, a capacitação é um novo período de rearranjo da célula espermática, deixando

a superfície espermática mais instável, preparando a membrana plasmática para futura aderência à zona pelúcida e culminando com a hiperativação da motilidade espermática. O espermatozoide hiperativado se desloca pelas secreções produzidas na tuba uterina em direção ao(s) oócito(s). Uma vez capacitado, como já foi descrito, o espermatozoide tem um tempo de vida bastante limitado e neste período de tempo ele deverá encontrar o oócito para, em contato com este, passar por uma fase seguinte de transformação que é denominada de reação acrossômica.

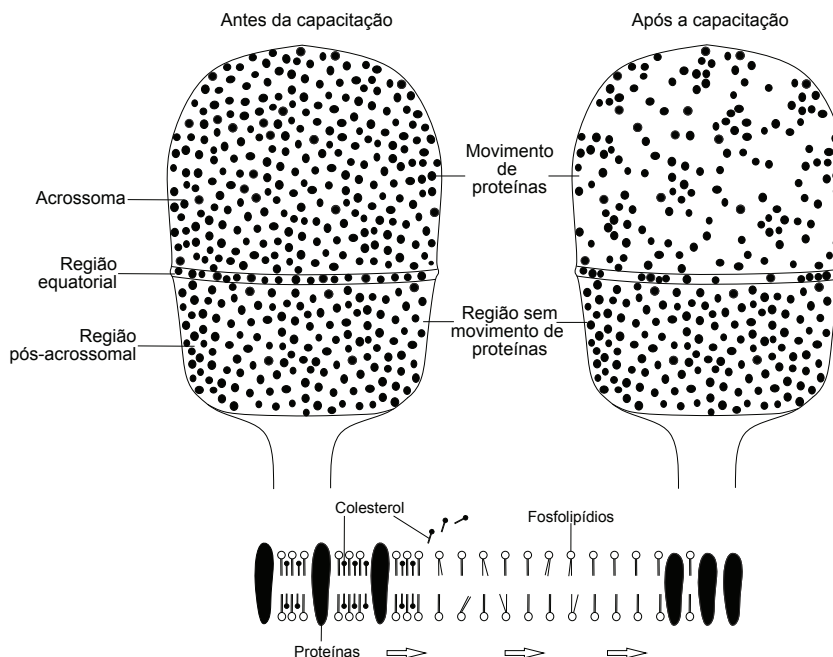


Figura 1. Esquema representativo da capacitação espermática. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

4. REAÇÃO ACROSSÔMICA

A reação acrossômica deve ocorrer quando o espermatozoide está aderido à zona pelúcida. Se esta ocorrer antes disto, o espermatozoide não conseguirá penetrar e atravessar a zona pelúcida.

Antes de iniciarmos falando sobre a reação acrossômica propriamente dita, temos que rememorar o que é o acrossoma. Você deve estar lembrado que o acrossoma foi formado durante a espermiogênese (veja capítulo Espermatogênese), que é resultante da fusão de várias vesículas originárias do complexo de Golgi presente na espermatíde e que posteriormente se alongou e se achatou recobrendo pelo menos a metade da extensão da cabeça do espermatozoide (em algumas espécies até mais). No segmento da cabeça recoberto pelo acrossoma, externamente existe a membrana plasmática que está justaposta à membrana acrossomal externa, em seguida vem o conteúdo acrossomal (rico em enzimas), seguido da membrana acrossomal interna, justaposta à membrana nuclear (Figura 2).

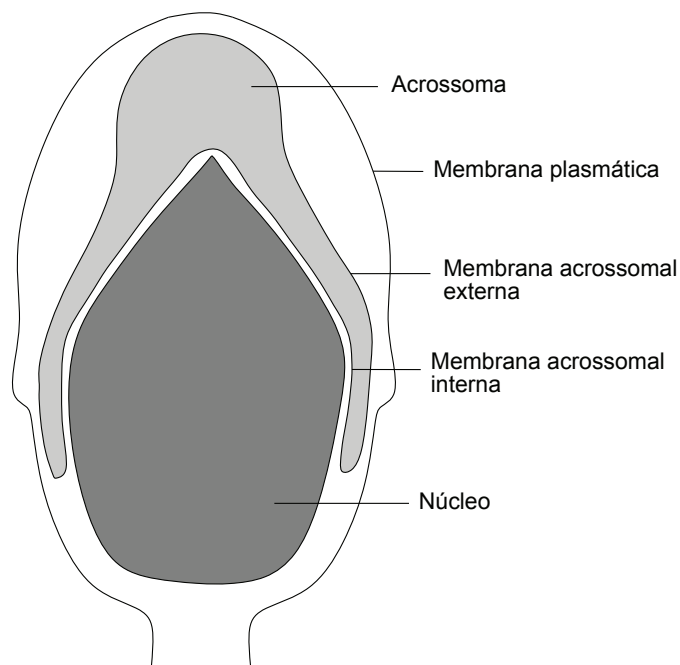


Figura 2. Membranas participantes da reação acrossômica. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

O objetivo da reação acrossômica é liberar as enzimas presentes na vesícula para que promovam a digestão local e parcial do glicocalix que forma a zona pelúcida, facilitando, desta forma, a passagem da cabeça do espermatozoide até o espaço entre a membrana plasmática do oócito e a zona pelúcida.

Você também deve estar lembrado que com o processo de capacitação foram expostas moléculas que funcionam como receptores de proteínas presentes na superfície da zona pelúcida e que as membranas ficaram mais instáveis. A membrana instável preparada durante a capacitação, ao receber os estímulos adequados, iniciará a fase seguinte. Quando a membrana plasmática entra em contato com a zona pelúcida há a ativação de uma cascata de eventos controlados por reações bioquímicas que vão levar à fusão da membrana plasmática com a membrana acrossomal externa, resultando no que foi denominado de vesiculação da região acrossomal do espermatozoide (Figura 3). A progesterona participa nesta ativação e tem sido demonstrado que o íon Cálcio contribui para este mecanismo. Assim, formam-se passagens que permitem a saída das enzimas para atuarem junto à zona pelúcida. Ao saírem as enzimas, a membrana acrossomal interna é exposta e passa a participar da continuidade do processo de passagem pela zona pelúcida.

A reação acrossômica pode ser induzida fora da proximidade do oócito ou estimulada artificialmente por inúmeros agentes durante o resfriamento *in vitro* e nos processos de fertilização *in vitro*. De qualquer forma, se ela ocorrer fora do local desejado, o espermatozoide perderá a capacidade de ser o vencedor.

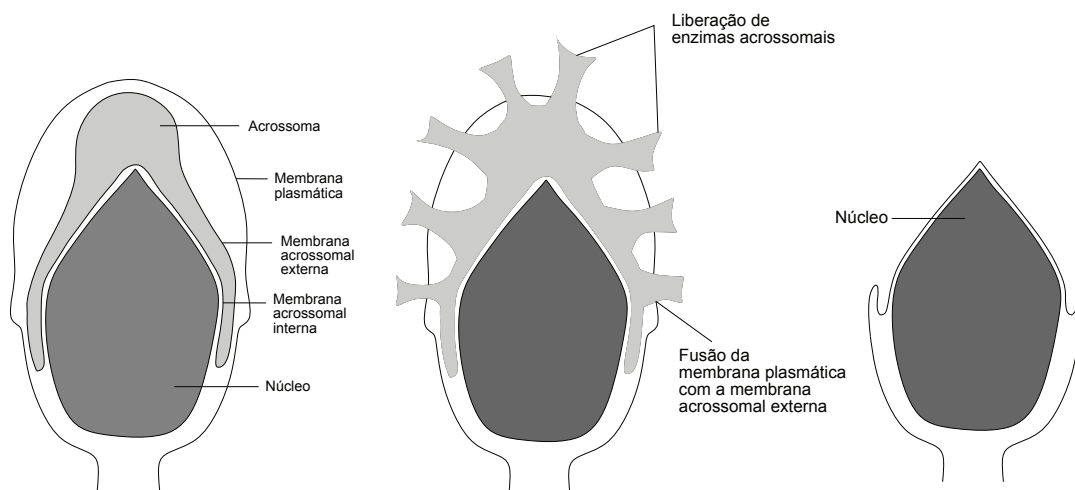


Figura 3. Mudanças resultantes da reação acrossômica. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

5. FERTILIZAÇÃO

A fertilização é o processo de união de dois gametas: o ócito e o espermatozoide. Uma vez que o ócito e os espermatozoides estão no oviduto, pelo menos cinco passos são necessários para o sucesso da fertilização, todos eles numa ordem estabelecida. Os espermatozoides são atraídos pelo ócito por um fator quimiotático emitido pelas células do folículo que envolvem o ócito, e não é então, um encontro casual.

Assim, os cinco passos para que a fertilização seja efetiva são os seguintes:

1. Os espermatozoides com o acrossoma intacto se ligam de forma espécie-específica à camada externa do ócito, chamada de zona pelúcida (ZP);
2. Uma vez ligado à zona pelúcida, o espermatozoide deve passar por um processo chamado reação acrossômica (estudado no item anterior);
3. Depois disso ele precisa penetrar a camada extracelular do ócito;
4. Uma vez alcançado o espaço perivitelino, localizado entre a zona pelúcida e a membrana plasmática, o espermatozoide deve-se fundir à membrana plasmática do ócito;
5. E assim, ligar-se a ela.

Curiosamente, a união espécie-específica dos espermatozoides e ócitos de mamíferos foi demonstrada quando a união à zona pelúcida de ócitos de uma espécie animal com espermatozoides de outra espécie não aconteceu *in vitro*. Isso indica que a zona pelúcida de uma espécie possui receptores que são reconhecidos pelos espermatozoides dessa mesma espécie, e que os espermatozoides possuem proteínas de união (conhecidas como as EBPs do inglês *egg-binding proteins*) que são compatíveis com o ócito da mesma espécie.

VOCÊ SABIA?

Na fertilização *in vitro*, o processo de fertilização de um ócito de rato demora aproximadamente 90 minutos.

5.1 PENETRAÇÃO DA ZONA PELÚCIDA

A união do espermatozoide à zona pelúcida é mediada por carboidratos. A zona pelúcida é formada por um número variável de glicoproteínas chamadas de ZP1, ZP2 e ZP3, encontrando-se a ZP4 em humanos, ratos e camundongos. A principal função destas glicoproteínas é a união do espermatozoide, prevenção da polispermia (penetração de mais de um espermatozoide dentro do oócito) e proteção do embrião até a implantação.

Enquanto em ratos se assume que os oligossacarídeos da ZP3 são os responsáveis pela união dos espermatozoides, nas vacas e nas porcas parecem ser os oligossacarídeos da ZP3 α e ZP4 que se unem aos espermatozoides.

Assim como a zona pelúcida tem moléculas com afinidade aos espermatozoides, estes também têm moléculas ou receptores que se ligam à zona pelúcida. Uma das moléculas mais estudadas é a β 1,4 Galactosiltransferase, que age como um receptor específico das glicoproteínas da ZP3; mas existem outras moléculas que parecem estar envolvidas também no processo de união como as proteínas SED1.

Desta forma, o reconhecimento da zona pelúcida pelo espermatozoide pode ser dividido em duas partes:

- a. A primeira, na qual o espermatozoide ainda com o acrossoma intacto se une à zona pelúcida pelas proteínas localizadas na porção apical da membrana plasmática da cabeça;
- b. A segunda união ocorre quando o espermatozoide, após ter ocorrido a reação acrossomal, expõe as proteínas intra-acrossomais que possuem alta afinidade pela zona pelúcida.

A união do espermatozoide com a zona pelúcida induz a reação acrossômica.

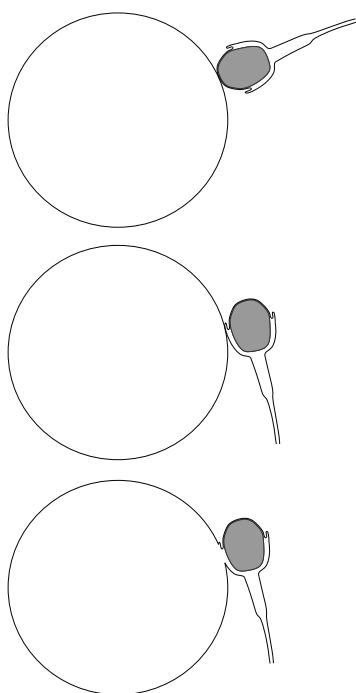
5.2 UNIÃO E FUSÃO COM A MEMBRANA PLASMÁTICA DO OÓCITO

Após atravessar a zona pelúcida, o espermatozoide chega ao espaço perivitelino onde se encontra de frente com o oócito.

No início e não por muito tempo, o espermatozoide se une à membrana plasmática do oócito pela parte apical da cabeça, mais especificamente pela membrana acrossomal interna ou região pós-acrossomal (Figura 3 - reação acrossômica), lembrando que a membrana plasmática e a membrana acrossomal externa já foram destruídas durante a reação acrossomal. Essa união é feita com ajuda de componentes de união espécie-específicas do espermatozoide e da membrana plasmática do oócito.

As proteínas espermáticas envolvidas nesta união (parte apical da cabeça com o oócito) são conhecidas como as ADAM, na qual se destacam a proteína 1 secretora rica em cisteína ou CRISP1, fertilina 1 ADAM1, fertilina β ADAM2 e ciritestina ADAM3. Após esta união, algumas proteases ajudam o espermatozoide a prosseguir para o segundo estágio de união.

O local de união preliminar (parte apical da cabeça) é degradado e o espermatozoide está pronto para se unir de forma paralela à membrana plasmática do oócito. Esta segunda união é feita pela região equatorial da cabeça, que fica grudada no oócito, enquanto a cauda ainda bate vigorosamente (Figura 4). Se olhássemos o espermatozoide, este daria a impressão de estar deitado sobre o oócito. Só a parte equatorial da cabeça do



espermatozoide tem a capacidade de se fundir à membrana do oócito. Neste tipo de união, as proteínas envolvidas parecem ser as chamadas integrinas ($\alpha_6\beta_1$ e outras) e as tetraspaninas CD9.

Após um período de tempo, as duas membranas (do oócito e do espermatozoide) se fusionam e este processo coincide com o enrijecimento da cauda.

Figura 4. União e fusão da membrana do espermatozoide com a do oócito. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

O processo de fusão das membranas pode ser dividido em três eventos principais:

1. O primeiro consiste no reconhecimento das membranas e no contato inicial entre as duas, este processo é mediado por uniões de proteínas localizadas nas duas partes e carboidratos.
2. O segundo consiste na aposição das membranas. Aqui ocorre a união das membranas pela atividade fusogênica das proteínas que levam a um contato íntimo entre as duas, e à “adesão”. Nesta parte do processo, as membranas se unem fisicamente pela interação das proteínas das duas partes e dos lipídios, o que induz uma mudança irreversível na sua conformação.
3. Na terceira parte do processo se produz a mistura dos lipídios das duas membranas e a formação de uma bicamada que permite a continuidade citoplasmática entre as duas células.

5.3 EVENTOS SEGUINTES À FUSÃO DAS MEMBRANAS

Após a fusão das membranas é necessária a “ativação do oócito”, que é induzida pela entrada do pronúcleo masculino ao citoplasma do oócito, e ocorre antes da primeira clivagem. Os primeiros eventos são: a liberação do conteúdo dos grânulos corticais no espaço perivitelino, o bloqueio da polispermia e o início da descondensação da cromatina paterna, que ocorrem nas primeiras horas após a fertilização. Os eventos tardios são: finalização da meiose materna, descondensação da cromatina materna, formação do pronúcleo feminino e masculino e o recrutamento de mRNAs maternos para a expressão de novas proteínas.

O bloqueio para evitar a polispermia é detectado cedo, de 1 a 6 minutos (em ratos) após a fusão das membranas. O mecanismo de defesa contra a polispermia opera em duas partes, na zona pelúcida e na membrana do oócito, que são alteradas quando há a entrada do primeiro espermatozoide, tornando o oócito impenetrável para os outros

espermatozoides. O bloqueio parece trazer modificações estruturais ou moleculares e/ou adesão de novas proteínas depois da “reação cortical”. Esta reação ocorre porque uma onda de íons Cálcio induz os grânulos corticais a liberarem seu conteúdo no espaço perivitelino e, finalmente, inativam os receptores para os outros espermatozoides na zona pelúcida. Este bloqueio é chamado de “reação de zona” e previne a adesão e penetração da zona pelúcida por novos espermatozoides. Além da alteração da zona pelúcida, acredita-se que a reação cortical também induz a redução da habilidade da membrana plasmática do oócito de fusão com outros espermatozoides. Este mecanismo de defesa é chamado de “bloqueio vitelínico”.

Após a ovulação, a fertilização ocorre quando os oócitos estão na Metáfase II da segunda meiose (na maioria das espécies, mas não em todas) e este processo todo, junto com o aumento de Ca^{2+} , induz o oócito a continuar a meiose e à excreção do segundo corpo polar (Figura 5).

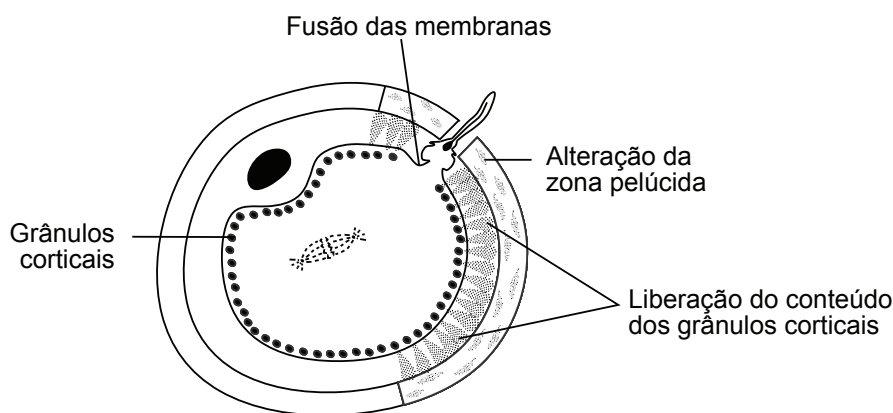


Figura 5. Eventos subsequentes à fusão das membranas dos gametas. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

O genoma do oócito maduro que é chamado de núcleo, se envolve em uma estrutura chamada “pronúcleo feminino” e, já dentro do citoplasma deste mesmo oócito, o núcleo do espermatozoide forma também o “pronúcleo masculino”, encontrando-se nesta etapa da fertilização dois pronúcleos que são morfologicamente iguais. Durante o crescimento dos pronúcleos, ambos haploides, estes migram enquanto ocorre a replicação do DNA e se posicionam um ao lado do outro. Nesta fase, o núcleo masculino cresceu de 100 a 1000 vezes em relação ao seu tamanho original quando saiu do espermatozoide. Ele sofre uma dramática remodelação da cromatina condensada, processo chamado descondensação e que também ocorre no pronúcleo feminino.

O estágio de pronúcleos finaliza quando ambos perdem a membrana nuclear e ocorre a fusão dos pronúcleos ou “singamia”. Após este acontecimento, o zigoto entra em uma série de divisões mitóticas chamadas de clivagem. Nesta etapa, o zigoto já pode ser chamado de embrião, o qual é descrito como um organismo nos primeiros estágios de desenvolvimento.

A primeira divisão ou clivagem gera um embrião com duas células de mesmo tamanho que são chamadas de blastômeros, e cada uma delas representa uma metade do zigoto. Os blastômeros se dividem repetidamente em 4, 8, 16 e 32 células e as divisões continuam até formar uma massa esférica de células chamada mórula.

VOCÊ SABIA?

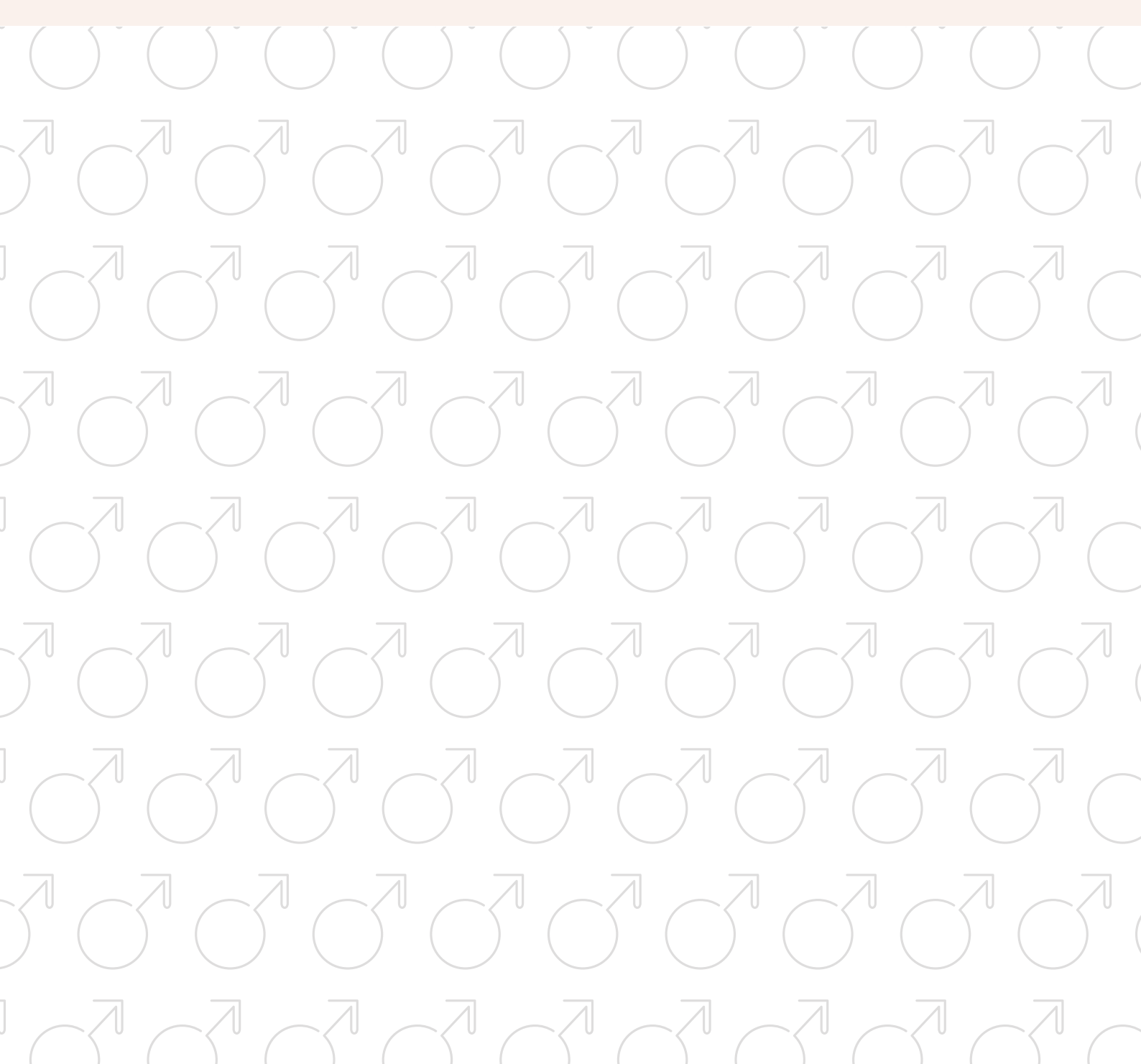
Os blastômeros têm o potencial de se desenvolverem separadamente. Assim, gêmeos idênticos são derivados de blastômeros de um embrião de duas células que se dividiram independentemente para formar dois embriões. Gêmeos idênticos podem ser produzidos artificialmente num laboratório pela separação dos blastômeros e permitindo seu desenvolvimento dentro de um útero.

7. CONCLUSÕES

O evento que gera vida é o encontro entre o espermatozoide e o oócito. Para que a célula espermática recém-produzida pelos testículos tenha capacidade de promover a fertilização, ela passa por uma quantidade importante de modificações que precisam ocorrer de forma organizada e cronologicamente adequada.

6. RESUMO

- Durante a passagem pelo epidídimo: as fitas de DNA do núcleo do espermatozoide ficam condensadas com ajuda das ligações de dissulfeto; os espermatozoides adquirem o potencial de se movimentar; aumenta a permeabilidade da membrana plasmática diminuindo a resistência desta ao choque térmico; a gota citoplasmática que está na posição proximal é translocada para a posição distal; e finalmente, os espermatozoides adquirem capacidade de fertilizar.
- Na cauda do epidídimo, para manter a longevidade, os espermatozoides são mantidos em estado de quiescência.
- Os reservatórios espermáticos são locais onde um grande número de espermatozoides é mantido intacto até o momento adequado para o encontro com o oócito.
- A capacitação espermática consiste na retirada da superfície dos espermatozoides dos fatores decapacitantes e das moléculas do líquido seminal que se aderiram para prover maior estabilidade. Com a remoção dessas moléculas, os receptores que se ligam à zona pelúcida são expostos.
- Para se ligar e penetrar a zona pelúcida, o espermatozoide necessita de receptores específicos e da reação acrossômica.
- Após entrar no espaço vitelínico, a membrana do espermatozoide se funde à membrana do oócito.
- Após a fusão das membranas ocorre a liberação do conteúdo dos grânulos corticais; o bloqueio da polispermia e o início da descondensação da cromatina paterna e materna; a finalização da meiose materna; e a formação dos pronúcleos feminino e masculino.
- Por último, os pronúcleos perdem a membrana, se fundem e formam um embrião.



7

Puberdade

Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri

Marc Henry

META DO CAPÍTULO

Conhecer as mudanças que ocorrem no período peripuberal e identificar as diferenças existentes entre espécies nesta fase de desenvolvimento

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este módulo você seja capaz de:

- Definir a puberdade nas diferentes espécies animais de interesse zootécnico.
- Identificar as mudanças físicas e comportamentais que ocorrem em algumas espécies no período da puberdade.
- Reconhecer os fatores que influenciam a puberdade nos animais.

1. INTRODUÇÃO

Puberdade é a idade em que os animais, machos e fêmeas, adquirem a capacidade de liberar gametas (espermatozoides ou óvulos, respectivamente) e manifestar uma sequência completa de comportamento sexual.

A puberdade é também um determinante da eficiência reprodutiva de um rebanho, já que indica o momento no qual o animal está capacitado para iniciar a vida reprodutiva. Visto por este ângulo, a idade de ocorrência da puberdade tem reflexo nos aspectos econômicos e no melhoramento genético, uma vez que sua antecipação proporciona retorno mais rápido do investimento, aumenta a vida útil dos animais destinados como reprodutores, ao mesmo tempo que permite maior intensidade de seleção e reduz o intervalo entre gerações, resultando assim, em maior ganho genético.

Na prática, a fêmea inicia a puberdade com o aparecimento do primeiro estro clínico (cio) seguido ou não de ovulação, enquanto no macho, a puberdade coincide com o desbridamento do pênis e o surgimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado.

Devido à importância da puberdade nos animais, vamos dedicar este capítulo ao estudo das características de cada espécie de importância zootécnica durante esta fase do desenvolvimento.

2. O INÍCIO DA PUBERDADE

O início da puberdade nos machos mamíferos tem sido definido por vários critérios, todos eles importantes e que devem ser avaliados em conjunto:

- Idade em que o comportamento sexual é exibido pela primeira vez:

Machos de muitas espécies demonstram comportamento sexual pouco tempo antes de adquirir a capacidade de ejacular e produzir espermatozoides. Este comportamento sexual que precede a puberdade é caracterizado por montas e ereção do pênis e ocorrem antes da elevação puberal da testosterona.

- Idade em que ocorre a primeira ejaculação:

A ejaculação consiste de duas fases: emissão e expulsão. Na emissão estão envolvidos a secreção das vesículas seminais e das glândulas acessórias e o transporte destas substâncias até a uretra pela contração das vesículas, a próstata e os ductos deferentes. A expulsão é controlada por impulsos nervosos que provém desde a medula óssea até os músculos do pênis.

Como podemos ver, este processo é complexo e requer que nervos, músculos, e órgãos reprodutivos estejam em completa coordenação. Geralmente, a habilidade de ejacular precede a habilidade de produzir suficientes espermatozoides para fertilizar um oócito.

- Idade em que aparece o primeiro espermatozoide no ejaculado:

Como foi falado anteriormente, a maioria dos animais adquire a capacidade de ejacular antes de produzir espermatozoides, por isso, para identificar o aparecimento dos primeiros espermatozoides no ejaculado, sucessivas coletas devem ser feitas com a ajuda de uma vagina artificial.

- Idade na qual aparece o primeiro espermatozoide na urina:

Antes da puberdade, alguns espermatozoides podem ser perdidos na urina durante a abstinência sexual. Assim, a presença destes na urina indica que o processo de espermatogênese está acontecendo. A coleta de urina de várias espécies animais é dificultosa pelo manejo, por esta razão, este método apresenta algumas limitações.

- Idade em que o ejaculado já contém um número determinado de espermatozoides:

Embora o ejaculado contenha os espermatozoides, um número determinado destes é necessário para produzir a fertilização da fêmea. Essa quantidade varia entre espécies.

Do ponto de vista prático, este critério é o mais válido para definir a puberdade, já que reflete a habilidade do macho para produzir espermatozoides e fertilizar fêmeas.

CURIOSIDADE

Nos camelos, a idade da puberdade é considerada como o momento da completa separação entre o pênis e o prepúcio, e a habilidade para produzir espermatozoides viáveis.

2.1 DIFERENÇAS ENTRE ESPÉCIES

A idade em que ocorre a puberdade varia entre espécies e entre raças da mesma espécie. Além disso, existem algumas particularidades ou características importantes que devem ser tomadas em consideração para identificar a puberdade. Na tabela 1, podemos ver a idade na qual algumas espécies de animais atingem a puberdade, e algumas definições mais específicas para cada uma delas:

TABELA 1. IDADE E CARACTERÍSTICAS DA PUBERDADE EM ESPÉCIES DE ANIMAIS DOMÉSTICOS.

Espécie	Idade à puberdade (meses)	Outra definição de puberdade utilizada em cada espécie	Característica especial
Bovino	11 (7-18)	Primeiro ejaculado com no mínimo 50×10^6 espermatozoides com 10% de motilidade progressiva. Também utilizada em ovinos.	
Equino	14 (10-24)	Manifestação de características sexuais secundárias.	Sazonal
Ovino	7 (6-9)	2 ng/ml de testosterona no plasma e 2 ejaculados consecutivos com 30% de motilidade. Um ejaculado com $1,2$ a $2,0 \times 10^8$ espermatozoides/ml e volume de 0,3 a 1,0 ml.	Sazonal
Caprino	7 (6-9)	Início da produção espermática e desprendimento do apêndice vermiforme (ou processo uretral) da glândula.	Sazonal
Canino	9 (6-13)	A menor idade na qual o cachorro é capaz de se reproduzir.	
Felino	8 (5-12)	O gato pode começar a produzir espermatozoides aos 5 meses, mas só é capaz de realizar a cópula entre os 9 e 12 meses, sendo este o momento da puberdade.	
Suíno	7 (5-8)	Momento no qual o varrão adquire a habilidade e a disposição de cobrir uma fêmea em cio (com no mínimo 15 minutos de exposição da fêmea).	

3. FATORES QUE INFLUENCIAM A PUBERDADE NOS MACHOS

3.1 FATORES GENÉTICOS

3.1.1 RAÇA

Nos bovinos tanto para *Bos taurus taurus* (foto 1) quanto para *Bos taurus indicus* o padrão de aumento de testosterona na fase prépuberal é similar, porém a puberdade é mais tardia nas raças zebuínas. Isso pode ser devido ao fato que nestas raças, o crescimento testicular é mais lento. Assim, a idade em que ocorre a puberdade nos bovinos vai depender da raça, sendo os *Bos taurus taurus* animais precoces de rápido desenvolvimento sexual, e os *Bos taurus indicus* animais tardios de mais lento desenvolvimento. Ainda assim, dentro da

mesma sub-espécie podem se encontrar diferenças entre raças.



Foto 1. Touros *Bos taurus taurus*



Foto 2. Touros *Bos taurus indicus*

Nos ovinos, existem também diferenças entre raças, por exemplo, a raça Awassi, famosa pela qualidade da sua carne e leite, apresenta como desvantagem a baixa prolificidade e a puberdade mais tardia quando comparada a outras raças. A raça Romanov é conhecida pela alta prolificidade e precoce desenvolvimento sexual (puberdade aos 3 meses de idade), além de apresentar comportamento sexual ativo fora da estação de montas (Foto 3). Uma forma de melhorar as características não desejáveis é, por exemplo, o cruzamento entre uma raça precoce com uma tardia.



Ovino de raça Awassi

Ovino de raça Romanov

Foto 3. Entre raças de ovinos podem ser encontradas diferenças na idade à puberdade e prolificidade.

Nos suínos, a idade em que ocorre a puberdade parece ser mais importante que o peso. Os machos atingem a puberdade com 200 dias, mas existem exceções, como em algumas raças de origem chinesa, incluindo a Meishan, Jinhua, Dahubai e raças miniaturas, que atingem a puberdade com 100 dias de idade.

3.1.2 PERÍMETRO ESCROTAL

Para avaliar a capacidade reprodutiva dos animais têm sido propostos vários parâmetros envolvendo as medidas testiculares e a qualidade do sêmen. Entre os parâmetros propostos, o mais utilizado (principalmente em função da facilidade de sua medição) é o perímetro escrotal cujo tamanho foi relacionado à quantidade de tecido testicular responsável pela produção de andrógenos e espermatozoides.

Animais com maior tamanho testicular durante a pré-puberdade apresentam a elevação de gonadotrofinas mais cedo, o que leva ao início da espermatogênese e ao atingimento da puberdade em uma idade menor que animais do mesmo grupo genético com menor tamanho testicular.

Por esta razão, o perímetro escrotal é utilizado como um selecionador de animais precoces, característica desejada nos sistemas produtivos. O maior tamanho do perímetro escrotal não traz só efeitos positivos sobre os machos, mas traz também efeitos positivos sobre as fêmeas relacionadas geneticamente com estes animais, por exemplo, maior precocidade, menores intervalos entre partos e menores tempos entre parto e concepção.

O uso do perímetro escrotal como ferramenta de seleção tem sido estudado profundamente nos bovinos, mas seu uso deve ser similar em outras espécies.

INTERESSANTE!

Estudos têm demonstrado que o tamanho do perímetro escrotal está favoravelmente associado a algumas características reprodutivas das fêmeas relacionadas geneticamente com estes machos.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

3.2 FATORES AMBIENTAIS

3.2.1 SAZONALIDADE

Em regiões temperadas, a sazonalidade reprodutiva dos animais é atribuída à combinação entre fotoperíodo, nutrição e temperatura, enquanto que em regiões tropicais, o efeito ambiental parece estar mais relacionado à chuva e ao seu efeito na quantidade e qualidade da forragem.

Caprinos e ovinos são conhecidos como animais de dias curtos, ou seja, seu período de atividade sexual ocorre durante os dias de menor duração de luminosidade (8 horas/luz), com inibição da atividade reprodutiva durante os dias longos (16 horas/luz). Essa característica foi herdada de raças de locais de clima temperado, onde o fotoperíodo é bem caracterizado durante o ano, o que torna possível a utilização de iluminação artificial para o manejo reprodutivo dessas espécies. O tamanho da estação reprodutiva varia inversamente com a latitude, aumentando enquanto a latitude diminui. Em pequenos ruminantes, altas latitudes causam marcada estacionalidade. Assim, carneiros machos que nascem na primavera, atingirão a puberdade no outono (de 6 a 7 meses depois do

nascimento), mas os que nascem no outono, só atingirão a puberdade de 10 a 12 meses depois, quando o comprimento do dia diminui significativamente.

No Brasil, cuja área geográfica estende-se tanto sobre a linha do Equador (nordeste e norte) como sobre uma grande variação de latitudes ao Sul (região central, sudeste e sul), a duração da estação dos ovinos varia consideravelmente. Por exemplo, na região nordeste (Foto 4), nas raças deslançadas, as fêmeas ciclam durante todo o ano, e os machos têm o potencial e a libido para fertilizar também durante todo o ano. Pode haver acasalamento mais de uma vez ao ano, considerando, porém, que a sazonalidade varia mais em função da temperatura e nutrição.

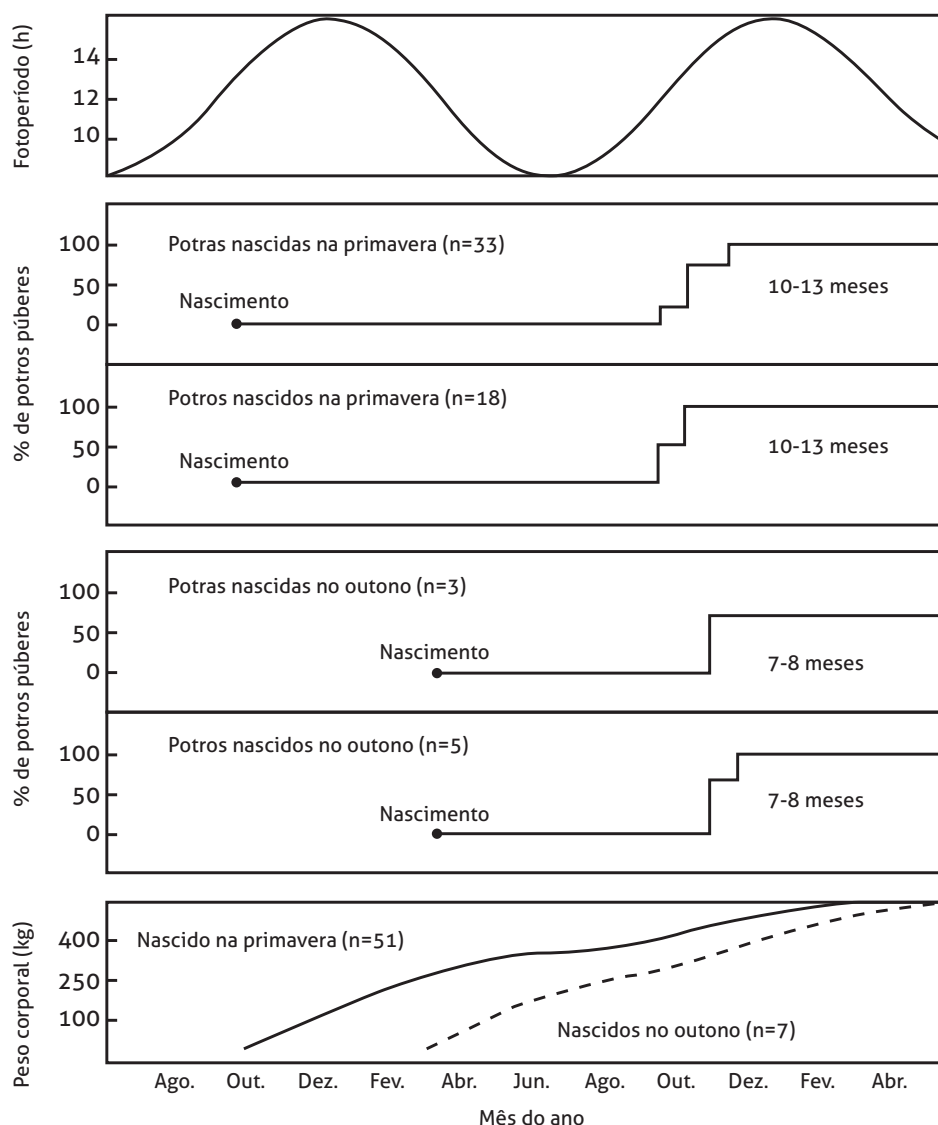


Foto 4. Criação de ovinos no Nordeste Brasileiro. [Fonte: <http://www.revistaberro.com.br/?materias/ler,968>]

Ao contrário dos ovinos e caprinos, o garanhão é classificado como “reprodutor de dias longos”, pois a sua capacidade reprodutiva máxima é atingida durante os períodos de aumento de luz natural. Assim, durante a primavera e o verão, há um aumento do tamanho e peso dos testículos, da produção de espermatozoides, da libido e das concentrações plasmáticas de LH, FSH, testosterona, inibina e prolactina e, é neste período do ano, que os garanhões atingem a puberdade.

A puberdade é influenciada também pela estação do ano e este fato pode ser explicado pelas variações nutricionais observadas no Brasil Central, uma vez que o fotoperíodo não é um fator importante, pois nessa região há pouca variação de luminosidade ao longo do ano. Mas nos países temperados, a estação de nascimento afeta a idade da puberdade. Animais nascidos na primavera permanecem reprodutivamente inativos até que o próximo incremento nas horas de luz ocorra, ou seja, na próxima primavera-verão. Por outro lado, os animais que nascem no outono atingem o peso para suportar a puberdade ao mesmo tempo em que ocorre o incremento nas horas de luz, o que quer dizer que chegam na puberdade mais jovens que os nascidos na primavera.

Para entender melhor as diferenças na idade à puberdade em animais nascidos em diferentes épocas do ano, vejamos o esquema 1:



Esquema 1. Início da puberdade (% de animais púberes) em potros Puro Sangue nascidos na primavera e outono em relação ao fotoperíodo, data, idade e peso corporal. [Fonte: Adaptado de BROWN-DOUGLAS, C. G.; FIRTH, E. C.; PARKINSON, T. J.; FENNESSY, P. F. *Onset of puberty in pasture-raised Thoroughbreds born in southern hemisphere spring and autumn*. Equine vet. J, V. 36, p. 499-504, 2004.]

Em zonas tropicais e subtropicais, a escassez de alimentos é provavelmente um dos principais fatores que limitam o desempenho reprodutivo. O nascimento na época seca pode favorecer a cria pela ausência de umidade excessiva, proporcionando ambiente favorável ao recém-nascido, pois nessa fase sua alimentação é totalmente dependente do leite materno, o que proporciona diminuição da incidência de doenças.

3.2.2 NUTRIÇÃO

A inadequada alimentação durante as fases iniciais da vida, como durante a gestação, na pré-desmama, ou mesmo no momento da desmama, leva a que durante o aumento

das gonadotrofinas na pré-puberdade, a secreção de LH seja mais baixa do que o normal, alongando o tempo em que as gonadotrofinas atingem a frequência e amplitude necessárias para iniciar a espermatogênese e atingir a puberdade. Além disso, a má nutrição afeta a esteroidogênese testicular, fato este demonstrado pela baixa produção de testosterona em animais com restrição alimentar, nos quais se observa demorar ainda mais o momento da puberdade (Foto 5), já que este hormônio é necessário para iniciar e manter a produção de espermatozoides.



Foto 5. A condição corporal é um importante fator que influencia a puberdade.

A suplementação alimentar resulta em maior peso testicular e produção espermática, o que pode indicar que o aumento da secreção de LH, concentrações de IGF-I e testosterona na pré-puberdade estão associados à maior maturação e função das células testiculares (Leydig e Sertoli) e ao maior crescimento testicular.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

Em geral, animais imaturos como aqueles que estão amamentando, são mais susceptíveis às deficiências nutricionais que animais adultos em termos de efeitos sobre a reprodução e, em algumas circunstâncias, estes animais podem sofrer danos permanentes na função reprodutiva. Um destes danos é o baixo crescimento testicular devido ao pouco desenvolvimento das células testiculares, trazendo como consequência a baixa capacidade para produzir espermatozoides.

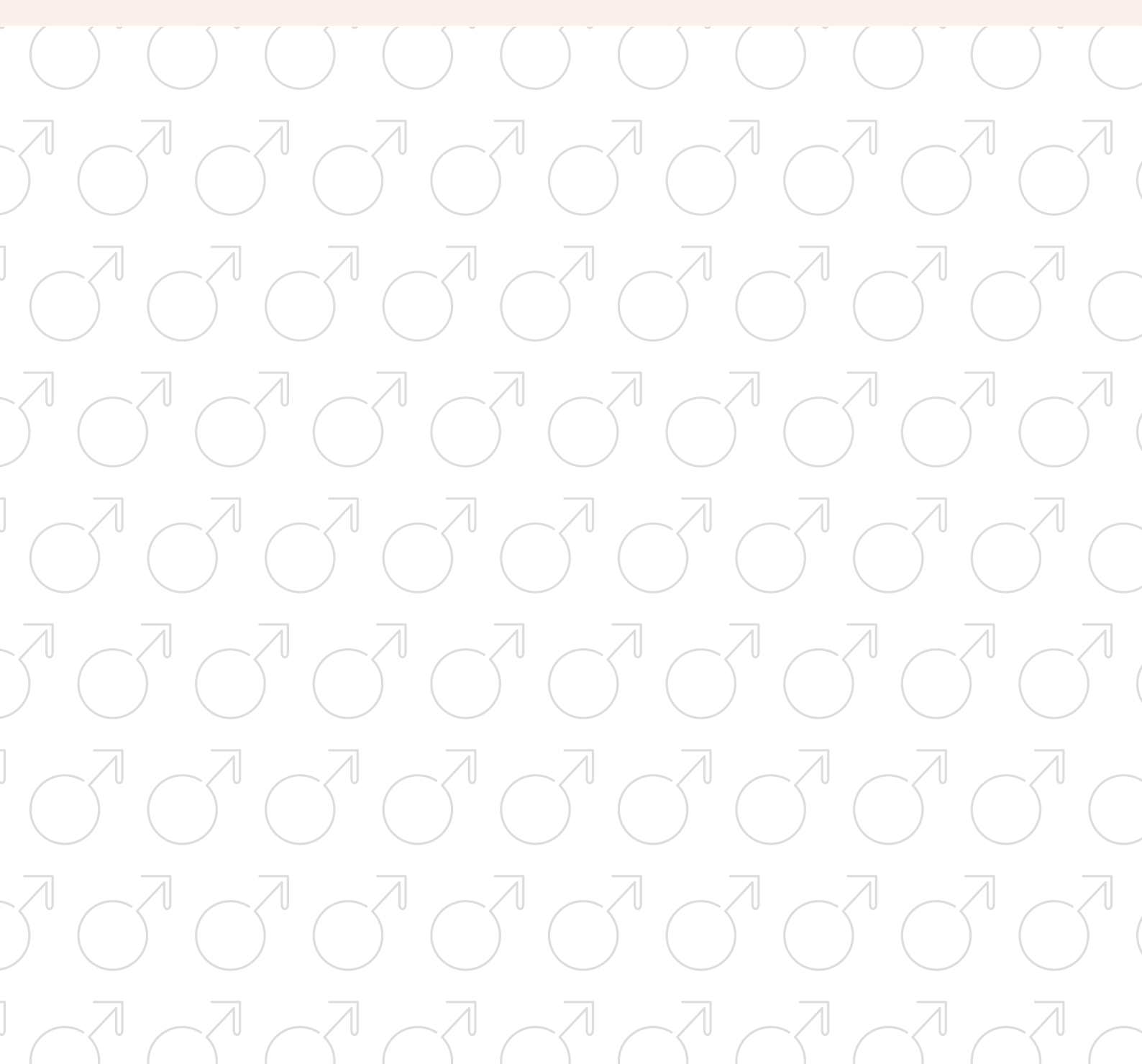
Igualmente ao que ocorre nos touros, nos ovinos o crescimento corporal e o peso parecem ser uma guia para identificar o início da puberdade. Carneiros com melhor plano de nutrição atingem a puberdade mais jovens e com maior peso que animais com baixo plano nutricional. Além disso, a baixa nutrição retarda o descenso dos testículos, o desenvolvimento do pênis e o aparecimento do primeiro espermatozoide no ejaculado.

4. CONCLUSÃO

A idade em que ocorre a puberdade é um fator importante sobre a produção, reprodução e a eficiência econômica nos sistemas de produção. A ocorrência da puberdade é uma característica utilizada para a identificação de animais precoces e é de fácil identificação sendo muito utilizada em programas de seleção.

5. RESUMO

- A puberdade nos machos domésticos tem algumas definições, todas elas relacionadas:
 - Idade em que o comportamento sexual é exibido pela primeira vez.
 - Idade à primeira ejaculação.
 - Idade em que aparece o primeiro espermatozoide no ejaculado.
 - Idade na qual aparece o primeiro espermatozoide na urina.
 - Idade em que o ejaculado já contém um número determinado de espermatozoides.
 - A época de ocorrência da puberdade é influenciada por fatores genéticos como a raça e o perímetro escrotal, e não genéticos ou ambientais, como a nutrição e a sazonalidade.



Principais Distúrbios Reprodutivos em Machos

***Autores: Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri***

8

META DO CAPÍTULO

Apresentar as principais causas de subfertilidade ou infertilidade em machos de espécies domésticas.

Fornecer subsídios para estimar o prognóstico e tratar machos com problemas reprodutivos.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Identificar as causas de subfertilidade ou infertilidade.
- Avaliar se o problema é ou não de caráter desqualificador.
- Tomar medidas para minimizar ou corrigir problemas reprodutivos.
- Orientar o proprietário quanto às medidas a serem tomadas.

1. INTRODUÇÃO

O tema deste capítulo é bastante amplo. Se fôssemos abordá-lo com detalhamento precisaríamos não apenas de um capítulo, mas sim de um livro todo. Portanto, é nossa pretensão chamar a sua atenção sobre as principais afecções do sistema genital do macho enfocando o que mais frequentemente poderá encontrar no exercício de sua profissão de médico veterinário. Considerando este aspecto, se você deseja ter o pleno domínio sobre a etiologia, a patogenia e a patologia de todas as afecções do sistema genital em machos é indicado você consultar um ou mais livros específicos sobre o tema.

É nossa intenção mostrar os caminhos para se chegar a um diagnóstico, discutir quais são as medidas indicadas para a solução dos casos, quando houver, procurando na medida do possível, ponderar a viabilidade econômica de se manter ou não o animal como reprodutor. Neste contexto, estamos nos referindo particularmente às espécies de animais de produção. A nossa conduta para os animais de companhia poderá ser totalmente diferente. Caberá a você analisar a pertinência ou não de instituir um tratamento em função da causa e do prognóstico, e orientar adequadamente o proprietário do animal.

Temos que ter a preocupação de sempre analisar se a anormalidade tem caráter genético, se é hereditária ou não, ou se é um problema adquirido. Qualquer que seja a causa genética, mesmo que você não esteja seguro de seu caráter hereditário, a conduta deverá ser para a retirada do animal da reprodução. Nos demais casos a sua expertise poderá ser requerida para a recuperação do animal.

2. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Você poderá ser chamado para um problema específico relacionado a um reprodutor ou poderá ser chamado para resolver um caso de subfertilidade de um rebanho. No primeiro caso, a abordagem será mais direta, pois já terá sido identificado o animal problema. No segundo caso, teremos que analisar se a causa tem maior probabilidade de estar ligada ao(s) macho(s) ou às fêmeas. Caso o problema se expresse pela subfertilidade ou infertilidade de um número pequeno de fêmeas há maior probabilidade da causa estar ligada às fêmeas. Quando a subfertilidade ou infertilidade atinge um número substancial de fêmeas do rebanho temos que considerar, prioritariamente, a causa estar associada ao(s) reprodutor(es), desde que o manejo reprodutivo adotado for pela monta natural. Quando a inseminação artificial for o método de fertilização temos que pensar na qualidade do sêmen utilizado, não excluindo como possível causa, o manejo da inseminação artificial propriamente dito. Observe como é importante você explorar adequadamente a anamnese. Dependendo desta indagação preliminar você dirigirá os seus passos subsequentes.

Além destes aspectos convém ponderar que por melhor que estejamos formados e capacitados, com certeza não temos o conhecimento pleno de todas as afecções e, ainda mais, de todas as causas que podem levar ao aparecimento das anormalidades. Portanto, desde o início da abordagem do caso é indicado considerar todas as possibilidades. Baseados nos dados de anamnese, nos sinais e sintomas levantados com o exame clínico e nos resultados dos exames laboratoriais executados, você gradativamente eliminará algumas hipóteses até chegar ao diagnóstico.

Adicionalmente, é importante ter o pleno domínio da fisiologia, particularmente da endocrinologia, e da anatomia topográfica do sistema genital para identificar e qualificar os achados. É indicado ressaltar que nem sempre teremos as respostas e uma posição firmada no final da primeira avaliação. Como citaremos no capítulo de Seleção de Reprodutores, poderão ser necessárias várias avaliações intervaladas de certo tempo para poder analisar a evolução do quadro e a real importância dos achados no futuro reprodutivo do animal em foco.

3. CLASSIFICAÇÃO DAS AFECÇÕES REPRODUTIVAS NOS MACHOS

As afecções reprodutivas nos machos podem ser classificadas de várias formas, algumas, entre outras que possam existir, são apresentadas a seguir:

- a) Primárias: são aquelas que o animal nasce com elas e que são perceptíveis logo ao nascimento, ou se expressam até a maturidade sexual (também chamadas de congênitas). Podem ser hereditárias ou não.

- b) Adquiridas: o próprio nome as define. São as que aparecem durante a vida útil do reprodutor.
- c) Infecciosas ou não infecciosas.
- d) Pré-testiculares, testiculares ou pós-testiculares, isto considerando a origem do agente causal.
- e) Pela sintomatologia clínica: ausência de desejo sexual; incapacidade de montar ou de copular (impotência *coeundi*); incapacidade de ejacular; falta de espermatozoides no ejaculado ou ejaculação alterada; ejaculado e/ou produção espermática inadequados (impotência *generandi*).
- f) Afecções por local de origem: escrotais, testiculares, epididimárias, das glândulas anexas, do pênis ou prepúcio.

Cada classificação usada para as afecções do sistema reprodutivo de machos tem uma abordagem própria e nenhuma cobre todos os aspectos. É interessante que o nosso raciocínio clínico, em um dado momento, considere cada uma das abordagens. O importante não é classificar, mas sim, diagnosticar a afecção e, melhor ainda, determinar a causa quando possível. Conhecendo-se o agente causal, teremos mais condições de estabelecer a conduta a ser tomada.

Para ordenar a nossa exposição vamos abordar as afecções pela sintomatologia clínica principal.

4. AFECÇÕES REPRODUTIVAS NOS MACHOS (SINTOMATOLOGIA CLÍNICA PRINCIPAL)

Temos que considerar que a baixa na fertilidade de um reprodutor pode ter múltiplas origens. A simples ausência de cópula é uma possibilidade e pode ser devido à falta de libido ou à incapacidade do reprodutor com boa libido de executar a monta. Também é importante lembrar que mesmo executando a monta e a intromissão peniana, a ejaculação de espermatozoides pode não acontecer. Ocorrendo a ejaculação, pode haver baixa produção ou produção inadequada de gametas ou simplesmente pode não haver espermatozoides no ejaculado. Além disto, a deposição do ejaculado em local inapropriado pode ser a causa, portanto, nossa análise tem que incorporar estas seis possibilidades.

4.1 AUSÊNCIA DE DESEJO SEXUAL

A ausência de desejo sexual pode ter múltiplas origens. É importante lembrar que o desejo sexual ou a libido é uma característica que é geneticamente transmissível. Portanto, a primeira origem pode ser genética. Nestes casos não é esperado a ausência total da libido, mas sim uma diferença no grau de expressão entre indivíduos. Fora desta possibilidade a ausência de libido pode ser adquirida por origens variadas como: processos dolorosos no sistema genital ou em regiões do corpo associados à execução da copula, subnutrição, disfunções hormonais, experiências sexuais traumatizantes, in experiência sexual,

senilidade (mais encontrada em animais de companhia por permanecerem no convívio do homem até idades mais avançadas), entre outras.

É conveniente lembrar que animais submetidos a uma intensa atividade sexual (muitas fêmeas para cobrir em pouco tempo) podem apresentar a queda temporária da libido (saciedade). É importante chamar a atenção para o fato de que a melhor maneira de identificar diferença de libido entre animais da mesma espécie é submetê-los a regimes de cobrição que permitam atingir a saciedade. Quando o desafio é pequeno (poucas fêmeas em cio por unidade de tempo), reprodutores com libido diferente podem demonstrar a mesma capacidade de cobrição.

A identificação da origem do processo pode requerer um exame clínico minucioso e deve levar muito em conta a vida sexual e social pregressa do reprodutor. O tratamento da ausência de libido só será possível se for encontrada a causa clínica primária. O simples tratamento com testosterona (hormônio associado à expressão do comportamento sexual) é ineficaz na grande maioria dos casos. Em animais de interesse zootécnico, a ausência de libido de etiologia idiopática é penalizada com o descarte do animal como reprodutor.

4.2 INCAPACIDADE DE MONTAR OU DE COPULAR

4.2.1 ORIGEM NO SISTEMA MUSCULOESQUELÉTICO

A monta e a cópula propriamente dita são atividades que exigem muito do sistema músculo esquelético, particularmente dos membros posteriores, que têm que sustentar boa parte do peso do animal durante este procedimento. Também estão envolvidos todos os componentes musculares, esqueléticos e neuronais da região pélvica e parte da coluna vertebral. Todos devem estar em perfeitas condições para que o(s) impulso(s) de introdução peniana possa(m) ser executado(s).

Em manejo de monta a campo a exigência do perfeito funcionamento do sistema locomotor é ainda maior. Portanto, estas partes devem ser adequadamente avaliadas. A existência de claudicação dos membros posteriores é um sinal facilmente detectável. No entanto, outras deficiências poderão ser mais discretas e notadas somente quando for dada a oportunidade do macho executar a cópula ou quando da tentativa de coleta de sêmen. As etiologias dos processos que prejudicam estas funções são múltiplas, não convém detalhar aqui cada uma, cabe a você fazer um exame completo para determinar a origem da alteração.

A incapacidade de copular também pode advir de processos dolorosos ou não, que impeçam a ereção peniana ou a exteriorização do pênis. A origem dos processos pode estar no prepúcio ou no próprio pênis.

4.2.2 ORIGEM PREPUCIAL

- A fimose é o estreitamento (estenose) do orifício prepucial e pode ser de origem congênita, traumática ou infecciosa.

- A parafimose é o não recolhimento do pênis após exteriorização devido ao estreitamento do orifício prepucial.

Nestes dois casos, dependendo do valor do animal a correção cirúrgica pode ser indicada. A parafimose pode levar à gangrena da glândula e deve ser encarada como uma emergência.

- A postite (processo agudo) ou acrobustite (processo crônico), denominação dada à inflamação do prepúcio, leva ao aumento de volume e até à fibrose da região. Quando a glândula do pênis está envolvida o processo é denominado balanopostite ou falopostite.

O tratamento é a retirada do agente causal e o combate aos sinais clínicos. Quando o processo se torna crônico e passa a deixar sequelas, a correção cirúrgica é uma conduta.

- O prepúcio anormalmente longo e penduloso, encontrado mais em bovinos zebuínos, pode impedir a protrusão do pênis.

A indicação nestes casos é não usar o touro para reprodução, pois o processo poderá aparecer nos descendentes. A correção cirúrgica tem sido usada em alguns casos.

4.2.3 ORIGEM PENIANA

- Traumatismos levando ou não ao aparecimento de hematomas.

- Fratura de pênis – acometendo mais as espécies que têm pênis fibroelástico e, mais particularmente, a espécie canina, que tem o osso peniano. A fratura gera sensibilidade dolorosa prejudicando a ereção e inibindo o desejo sexual.

- Processos inflamatórios da glândula (balanitis) ou do pênis (penitis, priapitis ou falitis) podem se originar de traumatismos ou de agentes infecciosos bacterianos ou virais.

A correção cirúrgica da fratura do pênis pode ser tentada, no entanto, este achado geralmente inviabiliza o futuro reprodutivo do animal para a monta natural. A redução do processo inflamatório e o controle do processo infeccioso (quando houver) é a conduta a ser tomada.

- Paralisia do pênis que leva a exposição continuada do pênis em ereção sem estimulação sexual (priapismo). A origem pode ser nervosa (lesão na coluna vertebral próximo à saída do plexo nervoso que controla a ereção) ou vascular (retorno venoso alterado). As afecções podem resultar da aplicação de alguns medicamentos. Os anti-hipertensivos, os antipsicóticos (por exemplo: clorpromazina, clozapina) e anticoagulantes (heparina), entre outros, podem causar o priapismo.

- Neoplasias como o fibropapiloma ou verruga da glândula encontrada principalmente em touros jovens (causada pelo papiloma vírus 2 bovino), o tumor venéreo transmissível (TVT – tumor de Sticker) nos cães, o carcinoma de células escamosas no garanhão, entre outras, são neoplasias que acabam prejudicando a ereção e/ou a cópula.

O fibropapiloma e o tumor venéreo transmissível são passíveis de tratamento. Para os demais, a retirada cirúrgica, quando possível, será a conduta a ser tomada.

- Persistência do frênilo prepucial - o frênilo prepucial é uma estrutura de tecido conjuntivo que liga a parte ventral da glândula do pênis à mucosa prepucial de machos jovens. Em bovinos, este se rompe naturalmente a partir da quarta semana até os 11 meses de vida. O não rompimento espontâneo com o início do interesse sexual impede a ereção e exteriorização do pênis. Esta condição tem caráter genético, portanto, a intervenção cirúrgica apesar de ser eficiente não é recomendada.

4.3 INCAPACIDADE DE EJACULAR

A falta de ejaculação pode ter sua origem em distúrbios neurológicos ou físicos. Pode ser devido à falha na transmissão dos impulsos nervosos associados à estimulação sexual

e à ejaculação como em caso de doenças degenerativas ou a processos que levam à dor antes ou durante a tentativa de cópula, como citado anteriormente. Em garanhões com distúrbio de ejaculação idiopática, o tratamento com agonistas α -adrenérgicos e bloqueadores β -adrenérgicos que estimulam a contração da musculatura lisa podem ter sucesso e promover a ejaculação durante a cópula em animais problema.

4.4 AUSÊNCIA DE ESPERMATOZOIDES NO EJACULADO OU “AZOOSPERMIA”

A azoospermia pode ser devida à obstrução de ductos e pode ser de origem congênita ou adquirida.

4.4.1 OCLUSÃO CONGÊNITA DO(S) DUCTO(S)

Podem ser encontradas agenesias, hipoplasias e aplasia segmentar dos epidídimos ou ductos deferentes. A aplasia segmentar pode ser de extensão restrita ou acometer todo o segmento. Em alguns casos, a má formação de um segmento está associada à má formação das outras estruturas que tiveram a mesma origem embrionária (exemplo: ductos mesonéfricos), como as ampolas e glândulas vesiculares. O acometimento pode ser uni ou bilateral. Nos touros é geralmente unilateral. Após o início da produção espermática, estas más formações levam à espermatocoele (acúmulo dos espermatozoides no ducto na parte cranial à obstrução). Quando for bilateral, o quadro será de azoospermia (ausência de espermatozoides no ejaculado) levando a infertilidade. O perigo está quando é apenas unilateral. Nestes casos, o baixo número de espermatozoides por ejaculado é o único sinal. Considerando que esta característica pode ser hereditária, não convém fazer uso do animal.

ATENÇÃO!

“Veja como é importante o exame minucioso do sistema genital durante a avaliação andrológica.”

O acometimento unilateral de agenesia segmentar pode passar despercebido, particularmente quando o segmento envolvido for pequeno!

Reprodutores com esta afecção podem expressar um quadro de subfertilidade somente quando expostos a um manejo intenso de cobrição.

A espermatocoele pode acontecer após alguns anos de atividade sexual com boa fertilidade. Pode ser resultante de uma obstrução congênita de ductos eferentes (túbulos em fundo de saco) que leva à parada do trânsito (espermioestase) e, na sequência, ao acúmulo gradativo de espermatozoides. No capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital dos Machos foi visto que o ducto epididimário é formado pela confluência de vários túbulos eferentes (o número de túbulos varia dependendo da espécie). No presente caso um ou alguns túbulos teriam esta má formação. A espermatocoele gradativa pode levar a atrofia do epitélio, ruptura da membrana basal e saída de espermatozoides para o interstício. O rompimento deste(s) túbulo(s) com o extravasamento de espermatozoides acarreta um processo inflamatório provocado pela rejeição do organismo aos espermatozoides que entraram em contato com a submucosa tubular. A inflamação pode levar à formação de granuloma espermático, geralmente na cabeça do epidídimo. O processo inflamatório por si, ou quando evolui para a fibrose, acaba acarretando a obstrução por compressão do ducto epididimário adjacente ao processo inflamatório. Este quadro pode ser erroneamente

confundido com epididimite de origem infecciosa. A consequência é a redução do número de espermatozoides por ejaculado (oligozoospermia - quando for unilateral) ou um quadro de azoospermia levando à infertilidade (quando for bilateral).

4.4.2 OCLUSÃO ADQUIRIDA DO(S) DUCTO(S)

Geralmente a oclusão adquirida é de origem traumática ou infecciosa, podendo também ser por compressão. Podem ser acometidos os epidídimos, ductos deferentes e ampolas dos ductos deferentes, além do cordão espermático como um todo.

Os casos mais severos de epididimite de origem infecciosa ou traumática podem resultar em aderência luminal com obstrução do ducto principal, ou por compressão, devido ao edema inflamatório ou da fibrose nos casos crônicos. Os sinais clínicos, além da alteração local, é a eliminação de espermatozoides com problemas de cauda e gota citoplasmática proximal no início do processo, podendo chegar a oligozoospermia ou a azoospermia quando a obstrução for unilateral ou bilateral, respectivamente.

O aparecimento de neoplasias próximas aos ductos pode resultar na obliteração luminal dos ductos. As patologias do cordão espermático que podem estar associadas à obstrução luminal do ducto deferente é a varicocele (menos provável), torções mais severas dos cordões espermáticos e funiculite (processo inflamatório do cordão espermático).

Quando a obstrução está instalada, geralmente o caso já é crônico sendo qualquer tratamento pouco eficiente. O tratamento rápido de processos inflamatórios agudos nestes segmentos pode minimizar a ocorrência de sequela, como a obstrução permanente.

4.5 EJACULAÇÃO ALTERADA

A ejaculação imprópria pode ser causada pela deposição do sêmen em local inapropriado ou pela retroejaculação.

4.5.1 DEPOSIÇÃO INADEQUADA DO EJACULADO

A hipospádia ou epispádia é uma alteração que pode ter origem congênita ou adquirida e é caracterizada pela abertura da uretra antes da glândula, levando à ejaculação fora da cavidade vaginal ou em lugar inapropriado. A correção cirúrgica pode ser tentada em casos adquiridos.

4.5.2 RETROEJACULAÇÃO

É caracterizada pela ejaculação retrógrada para dentro da bexiga. Pode ser causada pelo fechamento ineficiente do esfíncter da bexiga em consequência de processo infecciosos e traumáticos da região. Nos garanhões podem ser identificadas as pulsações uretrais na região ventral do pênis no momento do orgasmo, associadas à presença de um ejaculado com um volume restrito (oligospermia), ou ausência de ejaculado (aspermia).

Nestes casos, a genitália interna e externa aparece normal. Uma das formas de comprovar a retroejaculação é coletar a urina imediatamente após a ejaculação. Espermatozoides serão encontrados no precipitado após centrifugação da urina coletada. A aplicação de drogas que estimulem a contração do esfíncter da bexiga pode ajudar na redução de ocorrência de retroejaculação.

4.6 EJACULADO E/OU PRODUÇÃO ESPERMÁTICA INADEQUADOS

4.6.1 EJACULADO INADEQUADO

Estão incluídos neste tópico os distúrbios que não necessariamente estejam associados a qualquer alteração na produção espermática (quantitativa e qualitativa), mas resultem em ejaculados alterados. A hemospermia, presença de sangue no ejaculado, a urospermia, presença de urina no ejaculado, e ejaculados com aspectos atípicos devido à presença de células inflamatórias, grumos ou até pus, entre outras alterações, são exemplos de ejaculados atípicos.

LEMBRE-SE:

Qualquer alteração do ejaculado tem alto potencial de reduzir a sobrevivência dos espermatozoides, por modificar a composição do líquido seminal.

A hemospermia pode ser consequência de processos inflamatórios ou tumores das glândulas anexas ou uretra, como também de processos traumáticos ao longo dos ductos superiores do sistema genital e do pênis. A identificação da etiologia vai orientar o tipo de tratamento a ser instituído e o combate à sintomatologia clínica associado ao repouso sexual poderá ser a primeira abordagem.

Os processos inflamatórios associados ou não à hemospermia são caracterizados pela alteração do aspecto e coloração do ejaculado. A presença de células arredondadas na ejaculado, identificadas como células inflamatórias através de esfregaços corados, caracteriza a alteração. Um exame clínico minucioso de todos os segmentos do sistema genital deverá ser feito para identificar a origem do processo (uretrite, bulbouretrite, prostatite, vesiculite, entre outros). Nestes casos é indicado realizar o exame microbiológico do sêmen na tentativa de identificar o agente causal específico, quando houver (ver metodologia de coleta de amostra para exame microbiológico no capítulo Seleção de Reprodutores).

O tratamento será combater o agente infeccioso e/ou o processo inflamatório. Com o intuito de promover a renovação das secreções das glândulas anexas e a limpeza das glândulas e dos ductos deve ser considerada a exequibilidade de se realizar coletas frequentes de sêmen uma vez instituído o tratamento.

A urospermia é identificada pela coloração e odor do ejaculado e pode ser intermitente. A quantidade de urina presente pode ser bastante variada e nem sempre é associada a uma causa aparente. O distúrbio pode estar associado ao não fechamento (ou relaxamento) do esfíncter da bexiga durante a ejaculação. Esta alteração pode ser secundária advinda de distúrbios neurológicos, processos inflamatórios, infecções do trato urinário, urolitíase (cálculos urinários), entre outros. Nas espécies que ejaculam de forma fracionada (equinos, caninos e suínos, por exemplo), a coleta de sêmen fracionada pode evitar a contaminação do sêmen com urina.

4.6.2 PRODUÇÃO ESPERMÁTICA INADEQUADA

A produção espermática inadequada pode ser caracterizada pela simples redução do número de espermatozoides por ejaculado (oligozoospermia ou azoospermia) ou pela alteração na qualidade dos espermatozoides (teratospermia) ou ambas associadas.

O **criptorquidismo** é uma alteração de caráter genético e hereditário que é caracterizada pela ausência do descenso ou descenso parcial (unilateral) de um ou dos dois testículos (bilateral). É relativamente frequente em cavalos e gatos (particularmente os de raça Persa), mas pode ocorrer em outras espécies. Nos casos de criptorquidismo bilateral o animal será infértil (azoospermico), pois os testículos dentro da cavidade abdominal não preservam a capacidade de produzir espermatozoides. O perigo reside nos casos de criptorquidismo unilateral, quando o animal preserva a capacidade de produzir espermatozoides normais (pelo testículo que migrou) mantendo sua capacidade fertilizante. Neste caso, o ejaculado será oligozoospermico, considerando que apenas um testículo está ativo. Devido ao caráter genético (dominante no equino e recessivo em outras espécies) é indicada a exclusão do animal da reprodução.

Outros distúrbios de caráter genético como o **monorquidismo** (presença de apenas um testículo) associado a ejaculados oligozoospermicos ou o **anorquidismo** (ausência completa de testículos) são mais raros. É indicada a retirada de animais monórquidos da reprodução.

A **senilidade** ocorre em todas as espécies, no entanto, vai ser observada somente nas espécies de animais de companhia por serem mantidas no convívio do homem até a morte natural. As demais, geralmente são sacrificadas antes da manifestação da senilidade reprodutiva. Com a idade, os reprodutores podem perder a libido e vão perdendo a capacidade de produzir espermatozoides. É um processo gradativo que ocorre em idades variáveis entre indivíduos da mesma espécie. A senilidade é caracterizada por ejaculados que apresentam aumento gradativo na incidência de anormalidades espermáticas e a redução gradativa no número de espermatozoides por ejaculado (oligozoospermia) podendo chegar a azoospermia. É consequência de um desbalanceamento hormonal (LH e FSH) que ocorre com a idade. Nos cães, pode se manifestar a partir dos 7 anos e nos equinos, a partir dos 12 anos de idade e geralmente está associada a redução do tamanho dos testículos sem causa aparente.

Não existe tratamento. Considerando a possibilidade de ocorrência, os reprodutores devem ser explorados o máximo possível em idades mais jovens. Nos reprodutores de alto valor genético pode-se fazer preventivamente durante o período de plenitude reprodutiva uma reserva biológica (congelamento de espermatozoides) para uso posterior.

A **hipoplasia testicular** é o crescimento incompleto dos testículos atingindo tamanhos menores do que o esperado para a idade do animal (Foto 1). Geralmente se expressa após a ocorrência da puberdade. Pode ser uni ou bilateral e geralmente é de caráter hereditário, no entanto pode ser adquirida. A hipoplasia é devida ao crescimento incompleto de parte ou de todos os túbulos seminíferos, associado a vários graus de redução no número de espermátogônias e de suas descendentes.

A hipoplasia de caráter hereditário é causada por genes autossômicos recessivos que apresentam penetrância incompleta. Esta particularidade indica que o(s) testículo(s) pode(m) apresentar grau variado de subdesenvolvimento. Este distúrbio pode advir de anormalidades cromossômicas (XXY).

A hipoplasia adquirida pode ter origem sistêmica ou local. Agentes que causem deficiência de LH e FSH ou que sejam tóxicos às células envolvidas na espermatogênese podem prejudicar o crescimento testicular. O acometimento pode vir ainda na fase fetal ou ser provocado após o nascimento. Por exemplo, o uso de anabolizantes durante o período de crescimento pode retardar a ocorrência da puberdade e, dependendo da dose e da

duração do tratamento, pode prejudicar definitivamente o crescimento testicular levando à hipoplasia.

As hipoplasias completas bilaterais são facilmente identificadas e estão associadas à infertilidade. A dificuldade em diagnosticar este distúrbio ocorre quando o subdesenvolvimento testicular é discreto, já que estes reprodutores podem se reproduzir apresentando apenas um quadro de subfertilidade. Este distúrbio é encontrado em várias espécies. Nos touros, geralmente é do tipo unilateral parcial.

Deve-se cuidar em diferenciar a hipoplasia da hipotrofia. Esta última é caracterizada pela diminuição temporária ou permanente do tamanho testicular por alguma causa adquirida.



Foto 1. Hipoplasia testicular unilateral em bovino. [Acervo pessoal do pesquisador]

Na hipoplasia, além do menor tamanho testicular, o ejaculado é alterado. O espermiograma é geralmente caracterizado pela diminuição do número de espermatozoides (oligozoospermia) associada ao aumento na incidência de anormalidades espermáticas, particularmente, os defeitos de cabeça dos espermatozoides. Pelo quadro espermático não é possível diferenciar a hipoplasia da degeneração testicular (veja abaixo).

LEMBRE-SE:

A hipoplasia parcial, uni ou bilateral é a mais perigosa, pois não impede os animais acometidos de se reproduzirem.

Como muitas vezes é difícil certificar se a causa da hipoplasia é adquirida ou se tem caráter hereditário (sabendo que na maioria das vezes tem origem congênita/hereditária), os animais com este distúrbio devem ser descartados da reprodução!

A **degeneração testicular** é o distúrbio reprodutivo adquirido mais frequente em machos e ocorre na maioria das espécies. A espécie suína é particularmente sensível. Nos bovinos, os *Bos taurus taurus* são mais susceptíveis que os *Bos taurus indicus*. Na maioria das vezes é um distúrbio transitório, mas que em casos mais graves, pode deixar sequelas que

alterem definitivamente a capacidade reprodutiva do animal (por exemplo: hipotrofia testicular, uni ou bilateral).

Existe um grande número de causas que levam à degeneração testicular. Todo processo que resulte no aumento da temperatura sistêmica ou local pode afetar o testículo.

LEMBRE-SE:

Na grande maioria dos animais domésticos, para que a espermatogênese seja perfeita, os testículos têm que estar de 2 a 5° C abaixo da temperatura corporal.

Infecções sistêmicas e locais, traumas locais (processo inflamatório-orquite) edemas não inflamatórios, dermatites escrotais, alterações vasculares do plexo pampiniforme ou da superfície testicular (varicocele), acúmulo de gordura pericordão espermático e hérnia inguinoescrotal podem estar na origem do aumento da temperatura local. Além disto, deficiências na dieta, desequilíbrios endócrinos, intoxicações por metais pesados (cádmio e chumbo, em particular), toxinas, exposição à radiação, quimioterápicos, tumores, estresse prolongado, entre outras, podem ser causas de degeneração testicular.

A degeneração testicular expressa a ocorrência de alteração adquirida na espermatogênese. Ela pode ser bilateral ou unilateral, total (os dois testículos são afetados na plenitude) ou parcial (parte de um ou ambos os testículos são afetados). As células do epitélio seminífero por terem uma alta taxa metabólica são bastante sensíveis a agentes externos. Entre as células dos túbulos seminíferos, os espermátócitos primários parecem ser mais sensíveis à degeneração que as espermatogônias e as células de Sertoli. Estas duas últimas apresentam maior resistência a injúrias e em muitas condições podem se regenerar. Com a degeneração ocorre a queda na motilidade espermática, no número total de espermatozoides por ejaculado e a incidência de anormalidades da morfologia espermática aumenta, particularmente, os defeitos de cabeça e de gota citoplasmática proximal.

Dependendo da duração e da intensidade da injúria, o quadro espermático poderá estar mais ou menos alterado. Nos casos mais severos poderão aparecer células da linhagem espermática (espermatogônias, espermátócitos ou espermátides) podendo o quadro evoluir para a azoospermia. É importante achar a etiologia do processo o mais rapidamente possível e retirar o agente causal para minimizar a possibilidade de irreversibilidade do quadro.

Os efeitos na qualidade seminal podem não aparecer imediatamente após a injúria, vai depender de qual grupamento celular foi afetado. Além dos efeitos da injúria poderem se manifestar apenas após alguns dias, a recuperação, após a retirada do agente causal, pode levar certo tempo. Lembre-se que a duração da espermatogênese e da maturação espermática pode corresponder a mais de 60 dias (veja os capítulos de Espermatogênese, Maturação e Capacitação Espermática, Reação Acrossômica e Fertilização).

Quando o agente causal também afetar a maturação espermática (que ocorre no epidídimo) a alteração na qualidade seminal pode ser detectada mais rapidamente. A primeira alteração detectável será a queda da motilidade espermática, e em seguida, o aumento na incidência de gota citoplasmática proximal e de defeitos de cauda. A queda no número de espermatozoides por ejaculado e o aumento de defeitos de cabeça geralmente aparecem alguns dias ou até uma semana após o início da injúria.

A **disfunção epididimária** pode levar à queda de fertilidade. Todas as causas de aumento de temperatura escrotal citadas para a degeneração testicular (como agentes tóxicos e infecciosos específicos) podem levar a alteração do epidídimo. A disfunção epididimária pode ser uni ou bilateral e é expressa particularmente pela mudança na qualidade espermática. A queda na motilidade espermática, o aumento na incidência de gota citoplasmática proximal e distal, e das anormalidades morfológicas da cauda dos espermatozoides caracterizam o acometimento do epidídimo.

Processos inflamatórios dos epidídimos (epididimite) são acompanhados pela presença de leucócitos no ejaculado. O combate à causa é o procedimento a ser tomado. A sequele mais importante é a obstrução do lúmen (disfunção discutida anteriormente).

4.7. NEOPLASIAS

Tumores podem se desenvolver em qualquer segmento do sistema genital masculino, no entanto, os tumores de testículos são mais comuns. Tumor das células intersticiais (células de Leydig), sertoliomas (células de Sertoli) e seminomas (células germinativas) são os mais frequentes. Nos cães, estes tumores são geralmente benignos e ocasionalmente podem adquirir o caráter maligno. Nesta espécie também é relativamente frequente a hiperplasia e hipertrofia da próstata, sendo mais comum em animais mais velhos, a castração e uma medida terapêutica útil. Tem sido reportado haver uma associação entre a ocorrência de criptorquidismo e tumor testicular.

O tumor mais frequente das glândulas anexas é o adenocarcinoma de próstata, e tem sido reportado com certa frequência em cães.

A ultrassonografia somada aos demais métodos de avaliação clínica permitem melhor avaliar a área sob suspeita. A retirada cirúrgica, quando o acesso é possível, é uma conduta a ser tomada. Quando a localização é no(s) testículo(s) a castração uni ou bilateral é indicada.

Nos cães pode ocorrer o tumor venéreo transmissível (TVT – Sarcoma de Sticker). É transmitido principalmente pela cópula e se manifesta tanto em machos como em fêmeas. Nos machos, o prepúcio e o pênis são as localizações mais frequentemente acometidas. A incidência é maior em animais adultos. O tratamento pode ser pela retirada cirúrgica, a quimioterapia ou radioterapia. A quimioterapia é forma de tratamento mais usada, no entanto, requer o acompanhamento do animal.

4.8 DOENÇAS INFECCIOSAS

Não será foco deste capítulo a descrição aprofundada das doenças infecciosas, venéreas ou não, ligadas ao sistema genital do macho. O intuito é chamar a atenção sobre algumas que aparecem com certa frequência. Estas infecções podem levar a orquite, epididimite, ou acometer os outros segmentos do sistema reprodutivo (ampolite, vesiculite, prostatite, bulbouretrite, uretrite, entre outras). Geralmente as infecções estão associadas à degeneração testicular (via alteração na termorregulação) e a ejaculados alterados (ejaculados de aspecto turvo e coloração alterada, com células arredondadas, com grumos, sangue, entre outros) e quando o acometimento for o epidídimo pode evoluir para a obstrução do ducto. Existem também doenças transmitidas pela cópula que afetam principalmente a fertilidade da fêmea. Caso você deseje aprofundar nesta área de conhecimento procure literatura específica.

A brucelose pode acometer os touros (*Brusella abortus*), varrões (*Brucella suis*), cães (*Brucella canis*), bodes (*Brucella melitensis*), carneiro (*Brucella ovis*) levando ao aparecimento de orquite e/ou epididimite.

Nos ovinos, a epididimite causada por *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis* e *Histophilus somni* pode ser uma causa importante de queda na fertilidade, podendo estar associada a processos inflamatórios discretos das ampolas e das glândulas vesiculares.

A tuberculose pode acometer também o sistema genital masculino. A campilobacteriose genital bovina (*Campylobacter fetus subsp. Venerealis*) e a Tricomonose bovina (*Tritrichomonas foetus*) transmitidas pela cópula levam à queda de fertilidade das fêmeas e podem passar despercebidas nos machos (portadores). Além destes agentes causais, outros podem estar na origem de processos inflamatórios. Inúmeros agentes que estão presentes na flora uretral, peniana e/ou prepucial podem, em caso de baixa de resistência, se tornar patogênicos.

5. CONCLUSÕES

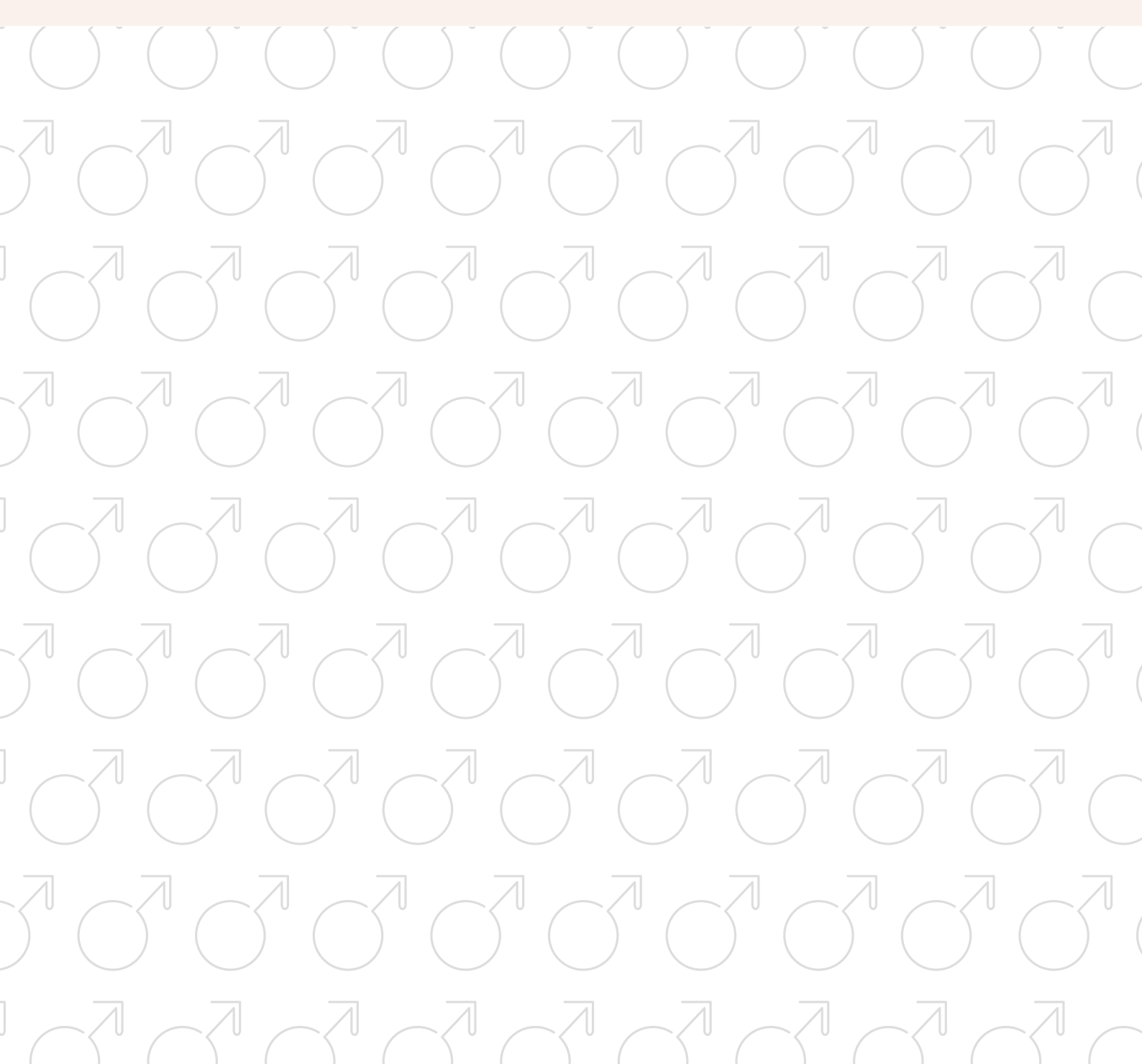
A redução da fertilidade dos machos pode ter múltiplas causas, que isoladas ou em associação, levam à queda da eficiência reprodutiva. A origem do processo pode estar no sistema genital, como pode refletir um acometimento de outro sistema do organismo. Portanto, a realização de uma boa anamnese e um exame clínico completo do reprodutor são necessários para identificar todas as possibilidades. O sucesso para a preservação do potencial reprodutivo do animal está muito ligado à rapidez na identificação do(s) agente(s) causal(ais) e no pronto restabelecimento do equilíbrio funcional dos sistemas envolvidos na reprodução. Considerando que um reprodutor tem o potencial de fertilizar inúmeras fêmeas ao longo de sua vida útil é imprescindível destinar uma atenção especial para identificar defeitos de caráter hereditário e excluir da reprodução os animais acometidos.

6. RESUMO

- As afecções reprodutivas nos machos podem ser classificadas de várias formas: primárias, adquiridas, infecciosas ou não infecciosas, considerando a origem do agente causal, pela sintomatologia clínica e pelo local de origem.
- A ausência de desejo (libido) pode ter múltiplas origens: processos dolorosos no sistema genital ou em regiões do corpo associados à execução da cópula, subnutrição, disfunções hormonais, experiências sexuais traumatizantes, inexperiência sexual, senilidade, entre outras.
- A incapacidade de montar pode ser devida a um processo doloroso ou não. Podem estar envolvidos os componentes musculares, esqueléticos e neuronais da região

pélvica e parte da coluna vertebral, ou processos que impeçam a ereção peniana ou a exteriorização do pênis.

- A falta de ejaculação pode ter sua origem em distúrbios neurológicos ou físicos.
- A ejaculação imprópria pode ser causada pela deposição do sêmen em local inapropriado ou pela retroejaculação.
- Podem estar associados a ejaculados inadequados: a hemospermia, urospermia, grumos ou pus.
- A produção espermática inadequada pode ser devida a: criptorquidismo, monorquidismo, anorquidismo, senilidade, hipoplasia testicular, degeneração testicular ou disfunção epididimária.
- Os tumores podem se desenvolver em qualquer segmento do sistema genital. Entre os mais comuns encontramos: células intersticiais (células de Leydig), sertoliomas (células de Sertoli) e seminomas (células germinativas), adenocarcinoma de próstata e o sarcoma de Sticker.
- As infecções levam a orquite, epididimite ou podem acometer os outros segmentos do sistema reprodutivo (ampolite, vesiculite, prostatite, bulbouretrite, uretrite, entre outras). Geralmente as infecções estão associadas à degeneração testicular e/ou a ejaculados alterados.



9

Seleção de Reprodutores: Avaliação do Potencial Reprodutivo

***Autores: Ana Maria Loaiza Echeverri
Marc Henry***

META DO CAPÍTULO

Conhecer as características mais importantes a serem avaliadas no animal para selecioná-lo como reprodutor.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Saber os passos necessários para a avaliação do potencial reprodutivo de um macho.
- Executar cada um dos procedimentos necessários para a escolha de um reprodutor e discernir a importância de cada um.
- Entender qual é a importância do perímetro escrotal na escolha de um reprodutor.
- Interpretar os resultados obtidos e orientar adequadamente o produtor ao final do processo de avaliação.

1. INTRODUÇÃO

Existe um ditado com relação à seleção dos reprodutores de um rebanho: “A análise visual diz qual dos animais parece ser o melhor. Sua genealogia diz como ele deveria ser. Seu desempenho e teste de progênie dizem como realmente ele é”.

Donald D. Nelson

A seleção de machos a serem utilizados como reprodutores é uma das etapas mais importantes nos rebanhos, considerando que esses animais vão transmitir 50% do seu genótipo a um grande número de filhos. Portanto, é de vital importância estimarmos da melhor forma possível qual seria o potencial de fertilidade dos reprodutores para, assim, obtermos a maior eficiência reprodutiva.

A seleção de reprodutores não deve ocorrer focando apenas um atributo, mas devem ser considerados vários fatores na hora de fazer a escolha. Dentre estes podemos citar:

- ⚭ A raça;
- ⚭ O seu desenvolvimento corporal frente à idade;
- ⚭ As características produtivas desejáveis;
- ⚭ O potencial do mesmo em corrigir características deficientes no rebanho;
- ⚭ O potencial de comercialização de sua descendência;
- ⚭ E, finalmente e obrigatoriamente, o potencial reprodutivo, o qual será o foco deste capítulo.

Quando selecionamos um reprodutor, devemos ter a confiança de que ele será capaz de fertilizar as fêmeas do plantel e, para isso, devemos fazer uma avaliação andrológica completa, visando à melhoria da eficiência reprodutiva do rebanho.

2. SELEÇÃO DE REPRODUTORES

Existem várias maneiras de selecionar um reprodutor:

2.1 SELEÇÃO PELA GENEALOGIA

Consiste em diferenciar animais, através da avaliação dos seus progenitores. Mas, se este instrumento auxiliar de seleção não vier acompanhado de dados de desempenho dos seus ascendentes (pais), não permitirá estimar a qualidade esperada dos animais selecionados.

2.2 SELEÇÃO PELA CONFORMAÇÃO

Consiste em visualizar o exterior do animal, procurando-se encontrar indivíduos com qualidades desejáveis para a formação do plantel. As características de conformação mais importantes e para as quais deve-se aplicar a seleção são: aprumos, números de pares de tetas (fêmeas), sistema genital (machos e fêmeas), harmonia das formas, e desenvolvimento correto das partes do corpo de maior interesse econômico, como por exemplo, o lombo e o pernil, no caso dos suínos e ausência de qualquer defeito de conformação de caráter genético. No entanto, a boa conformação física não é garantia que um animal será um bom reprodutor.

2.3 SELEÇÃO PELO DESEMPENHO

Consiste na escolha de reprodutores com base nos seus dados de produção. Estes dados de produção são obtidos através de testes de desempenho, realizados nas estações oficiais, podendo também serem realizados nas criações particulares.

2.4 SELEÇÃO PELA PROGÊNIE

Consiste na avaliação do reprodutor, através do desempenho de seus descendentes. A seleção, portanto, consiste em manter como reprodutores, os animais cujos filhos apresentaram os melhores resultados nas características de interesse.

2.5 SELEÇÃO PELO POTENCIAL REPRODUTIVO

Na realidade é essencial que a avaliação do potencial reprodutivo do indivíduo seja um complemento a qualquer outro método de seleção.

3. EXAME ANDROLÓGICO

A realização do exame andrológico tem como princípio fundamental caracterizar o potencial reprodutivo dos animais e deve incorporar a avaliação da saúde geral, saúde hereditária e saúde reprodutiva tanto no aspecto do desejo de executar a cobertura, da capacidade de monta, quanto na capacidade fecundante.

O exame andrológico deve ser realizado num lugar adequado e seguro, tanto para o técnico como para o animal. A avaliação deve ser rigorosa e completa, lembrando que diferenças no processo de avaliação serão encontradas entre espécies.

Mas, quando é recomendado fazer um exame andrológico?

- Antes do início da estação de monta. Cada reprodutor deve ser avaliado pelo menos uma vez por ano. A avaliação andrológica permite identificar animais problemas antes que estes sejam confirmados tardiamente através de baixos índices de prenhez ou parição;
- Em animais com conhecida ou suspeita de subfertilidade;
- Antes da participação em exposições;
- Antes de adquirir um reprodutor para o rebanho;
- Antes dos animais serem destinados à venda (dependerá qual é o lado que você está assessorando, o comprador ou o vendedor).

A avaliação deve ser feita por um veterinário devidamente capacitado em relação aos aspectos reprodutivos e à saúde individual e do rebanho. Por mais capacitado que o técnico seja é bom saber que o laudo expressará apenas uma estimativa do potencial reprodutivo. Na sequência, faremos uma descrição detalhada do processo de avaliação andrológica, sabendo que diferenças metodológicas podem ser necessárias dependendo da espécie em foco. Complemente as informações dadas neste capítulo com aquelas presentes nos capítulos: Coleta e Avaliação Seminal em Animais Domésticos e Comportamento Sexual.

ATENÇÃO!

Existem, hoje, múltiplos testes laboratoriais de avaliação de inúmeros atributos ligados à reprodução de machos, no entanto, ainda não existe um teste que avalie todos os atributos ao mesmo tempo e certifique a fertilidade de um indivíduo.

Até a presente data, a única forma precisa que existe para saber qual é o potencial reprodutivo de um macho é fazendo um teste de cobertura a campo frente a um número de fêmeas férteis que desafie a sua capacidade máxima.

Quais são, então, os passos para realizar a avaliação do potencial reprodutivo?

3.1 ANAMNESE

Deve ser realizada de forma a obter o máximo de informações sobre o reprodutor. É sempre bom ter em mente que a pessoa que estamos entrevistando pode ser a chave para a solução do problema. Portanto, as perguntas devem ser colocadas de forma que o interlocutor possa interpretá-las corretamente e, assim, prover uma resposta confiável. Na dúvida, sempre é possível confirmar a informação refazendo, em outro momento, a mesma pergunta expressa de outra forma. É essencial que você questione o que é factível de ser respondido pela pessoa em sua presença, e também não é conveniente perguntar o que de fato só o seu exame poderá responder.

É também indicado elaborar mentalmente uma sequência de perguntas para não deixar de cobrir todos os aspectos necessários. Evite abordar novamente assuntos já explorados. Devem ser abordados aspectos individuais ligados ao animal, assim como explorar aspectos do rebanho no qual atua. Estes poderão refletir a capacidade reprodutiva do animal que está sendo avaliado. Não há dúvida que durante o exame clínico poderão surgir questionamentos que deverão ser esclarecidos à medida que surgirem.

Para animais que estavam sendo usados como reprodutores, a arguição deve incluir detalhes concernentes ao número de fêmeas que ele cruzou, à taxa de gestação (caso esta informação esteja disponível), e ao número de filhos por estação. A título de exemplo, para a espécie equina, o manejo utilizado para a reprodução pode ser importante. Em relação à duração do cio da égua, quando é que foi liberada a cobrição. Se for muito afastada do dia da ocorrência da ovulação, só esta falha de manejo, pode ser causa de subfertilidade. Nesta mesma espécie, conhecendo que nos períodos de transição estacional a égua pode ter cios anovulatórios, o uso destes períodos pode levar a uma interpretação equivocada de ineficiência do reprodutor. Na verdade, para todas as espécies os aspectos de manejo devem ser analisados. A anamnese será mais completa se houver possibilidade de incluir relatos sobre o comportamento sexual e a libido do animal.

Entre os múltiplos aspectos a serem abordados, não devem ser excluídos fatores como a ocorrência anterior de doenças ou lesões, procurando conhecer tanto sua duração como a severidade. Medicações anteriormente aplicadas, como hormônios, esteroides, corticoides, antibióticos, etc., podem estar relacionados ao processo em curso. A indagação sobre o manejo sanitário pode prover um direcionamento ao raciocínio clínico.

Está claro que não existe um modelo fixo de perguntas a ser seguido, pois, dependendo das respostas iniciais, o curso da indagação pode variar. O importante é tentar subtrair o máximo de informações que podem direcionar melhor o exame e, no final, a interpretação dos achados.

3.2 EXAME CLÍNICO GERAL

É muito importante a inspeção do animal em estação imóvel e em movimento, a avaliação deve incluir os sistemas nervoso, respiratório, circulatório, digestivo e locomotor, com verificação da condição dos aprumos, articulações e cascos, e da condição corporal. Caso seja percebida alguma alteração em um dos sistemas, o exame daquele sistema deve ser aprofundado.

3.2.1 CONDIÇÃO CORPORAL

Os animais candidatos a reprodutores devem apresentar uma boa condição corporal com alguma reserva de energia em forma de gordura. Animais obesos diminuem o rendimento e a resistência para a perseguição (por exemplo, touros em pastoreio extensivo) e monta de fêmeas em cio e pode estar associado à diminuição da qualidade espermática. Já animais magros podem perder a libido.

3.2.2 PÉS, PERNAS E ARTICULAÇÕES

Bons pés e pernas são essenciais para animais que devem percorrer longas distâncias para cobrir muitas fêmeas. Particular atenção deve ser dada à maneira como os machos se movem, pois estes não devem apresentar sinais de claudicação. Anormalidades nos membros traseiros são especialmente prejudiciais, pois durante a cópula boa parte do peso corporal é sustentada por estes membros.

Abaixo estão ilustrados alguns problemas de membros que podem levar a aumentar o estresse sobre o sistema músculo-esquelético na hora da cópula (modelo bovino – Figura 1; modelo equino – Figura 2):

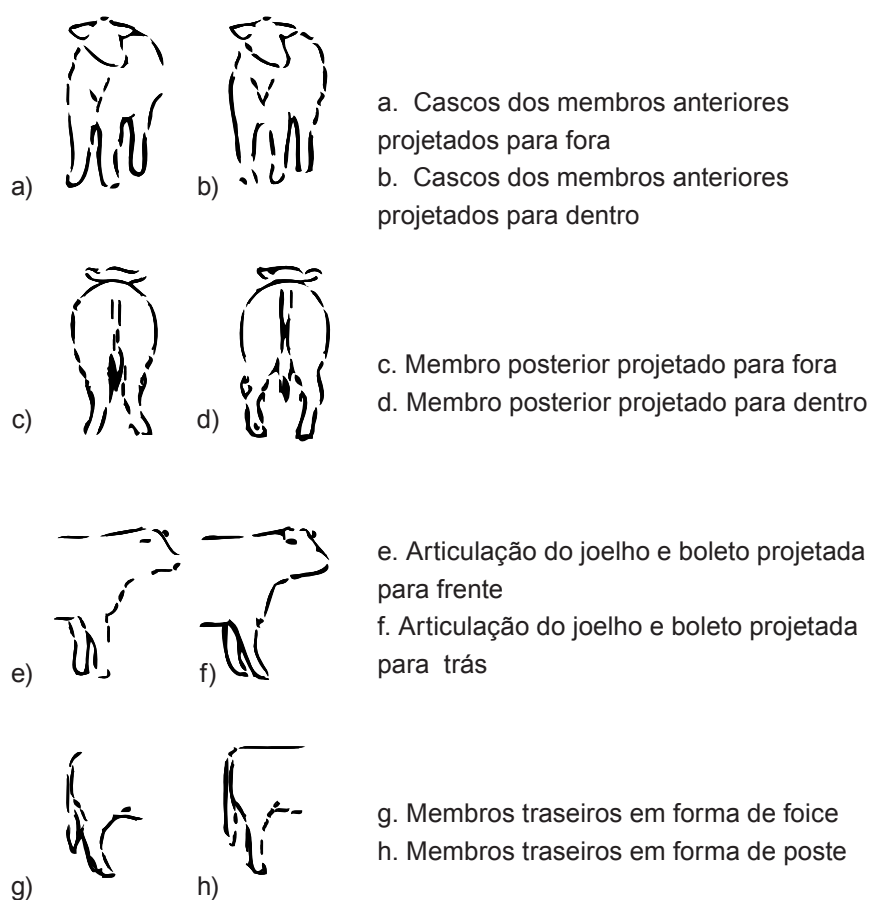


Figura 1. Anormalidades dos membros que podem afetar o desempenho reprodutivo do macho.

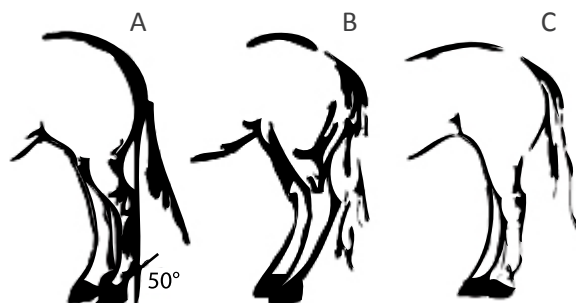


Figura 2. Estrutura do membro posterior do cavalo observada de lado. A. Ideal; B. Membros traseiros em forma de foice; C. Membros traseiros em forma de poste.

Algumas malformações que afetam os joelhos dificultam a movimentação dos reprodutores já que diminuem a flexão da articulação e a capacidade de impulso (Figura 2), tornando a cópula uma experiência dolorosa e traumática para o animal.

3.2.3 MALFORMAÇÕES HEREDITÁRIAS

Especial atenção terá que ser dada às malformações de caráter hereditário. Na dúvida da anormalidade ser ou não hereditária, é aconselhável não usar o animal como reprodutor. Dentre as más formações que podem ser detectadas estão as malformações nas vértebras, hérnia umbilical ou inguinoescrotal, criptorquidismo, prognatismo, agnatismo e algumas imunodeficiências, entre outras.

3.3 EXAME FÍSICO DO SISTEMA REPRODUTOR

O exame físico do sistema genital pode ser realizado antes da coleta de sêmen ou, em animais mais agitados, pode ser conveniente fazê-lo imediatamente após a coleta, considerando que ele poderá estar menos ansioso neste período.

3.3.1 INSPEÇÃO VISUAL E PALPAÇÃO DO ESCROTO

Nesta parte do exame é importante lembrar que a localização do escroto e dos testículos é diferente em algumas espécies (veja o capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho). O escroto nos bovinos, ovinos e caprinos é mais penduloso e afastado do abdômen. Nas espécies suína, canina e felina, a sua localização é mais próxima do corpo, perto do períneo. Em espécies com testículos mais pendulosos, a distância da parede abdominal pode influenciar o desenvolvimento testicular. É importante lembrar que os testículos estão localizados no escroto para que a espermatogênese seja perfeita e, para isto, os testículos devem estar de 4 a 6° graus abaixo da temperatura corporal (aplicável à maioria das espécies de animais domésticos), portanto, a localização dos testículos em relação ao corpo é importante.

A inspeção visual do escroto tem como objetivo verificar sinais de inflamação, trauma, alterações de volume, cicatrizes, presença de ectoparasitos, edema, entre outros. O escroto deve apresentar espessura uniforme e elasticidade adequada e os testículos têm que estar livres e móveis dentro do escroto. O animal não deve apresentar dor à palpação.

Vamos ver alguns aspectos que devem ser detectados à inspeção do escroto:

Para dar um exemplo utilizaremos a espécie bovina como modelo. Touros com escroto reto na sua porção lateral, na altura do cordão espermático (Figura 3, touro A) podem ter

depósitos de gordura que prejudiquem a termorregulação do testículo, influenciando a espermatogênese, principalmente durante o verão. Animais cujos testículos ficam muito perto do corpo raramente produzem sêmen de boa qualidade e devem ser evitados no rebanho (Figura 3, touro C). O touro B tem um escroto considerado normal.

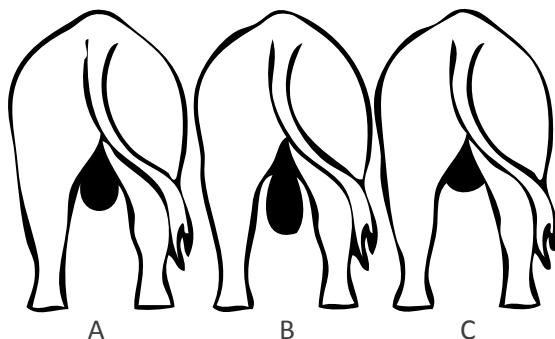


Figura 3. Três formas testiculares vistas em touros. A. Testículos retos. B. Testículos normais. C. Testículos com cordão espermático curto. O testículo B é o mais desejável. [Fonte: Modificada de Coulter, Glenn H. *Evaluating and Managing the Herdsire for Reproduction*. Agriculture Canada Research Station, Lethbridge, Alberta. 1987.]

3.3.2 PALPAÇÃO DOS TESTÍCULOS, EPIDÍDIMOS E CORDÕES ESPERMÁTICOS

A apalpação dos testículos permite avaliar a mobilidade e a consistência com o intuito de identificar anormalidades. A consistência normal dos testículos é fibroelástica, mas pode variar desde extremadamente fibróticos (consistência muito dura) até macios (consistência flácida). Condições tais como degeneração testicular ou hipoplasias testiculares e orquite (inflamação dos testículos) afetam o tamanho e consistência dos testículos e resultam em espermatogênese anormal. Os testículos devem ter um contorno liso e regular. A palpação de nódulos ou aderências pode sugerir inflamação crônica, infecções ou neoplasias.

Não podemos nos esquecer de palpar os epidídimos e cordões espermáticos. A cabeça e a cauda do epidídimo são mais facilmente palpáveis, o corpo é uma cinta fina que em condições de normalidade pode não ser detectado (reveja a posição de cada segmento do epidídimo no capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho). Aplasia segmentares e granulomas da cabeça e cauda do epidídimo como processos inflamatórios são anormalidades que podem ser detectadas pela palpação.

O cordão espermático deve ser avaliado quanto à espessura, consistência e sensibilidade. Varicocele do plexo pampiniforme pode prejudicar a termorregulação dos testículos.

3.3.3 EXAME DO PÊNIS E PREPÚCIO

O pênis é palpado através da bainha externa e por exposição manual, não deve apresentar lesões ou aderências. A inspeção pode ser realizada quando da coleta de sêmen (método da vagina artificial) ou estimulação sexual (equídeos). É importante lembrar que o formato do pênis varia segundo a espécie animal.

Prepúcio longo ou prolapso da mucosa prepucial pode ocorrer particularmente em zebuínos. Quando a mucosa está inflamada ou o prepúcio é muito longo o acasalamento pode ficar prejudicado.

3.3.4 AVALIAÇÃO DAS GLÂNDULAS ACESSÓRIAS

Localizadas na região pélvica, a avaliação deve ser feita pelo toque retal, quando possível. Convém lembrar que nem todas as glândulas estão presentes em todas as espécies de

animais domésticos e que o formato varia de uma espécie para outra (veja capítulo de Anatomofisiologia do Sistema Genital do Macho). Anormalidades nas glândulas acessórias não são incomuns e são causa de baixa qualidade espermática.

Bovinos e equinos: nestas espécies as glândulas acessórias podem ser avaliadas por toque retal. Poderão ser avaliadas as glândulas vesiculares, ampolas do ducto deferente, próstata (parcialmente difusa junto à uretra), glândulas bulbouretrais, quanto à consistência, mobilidade (quando aplicável), tamanho, forma e sensibilidade.

Ovinos e caprinos: nestas espécies as glândulas são pouco acessíveis pelo toque retal digital.

Suínos: nesta espécie a única glândula acessória passível de palpação é a bulbouretral.

Cães: a glândula prostática é a única glândula acessória nesta espécie. Ela é dividida em dois lóbulos que podem ser palpados pelo reto, já em cães de grande porte, somente a parte caudal desta glândula pode ser palpada.

3.3.5 BIOMETRIA TESTICULAR

O tamanho dos testículos e o perímetro ou largura escrotal estão diretamente relacionados à produção espermática. Testículos de maior tamanho têm a capacidade de produzir maior quantidade de espermatozoides. Quando o perímetro escrotal é maior (dentro da normalidade), é esperada uma boa motilidade associada a uma frequência menor de espermatozoides anormais, características de boa qualidade seminal.

Tem sido demonstrado que o perímetro escrotal ou largura escrotal (para equinos) é um bom preditor da ocorrência da puberdade em várias espécies de animais (touro, ovinos, caprinos e equinos). O perímetro escrotal apresenta uma herdabilidade (h^2) considerada de média a alta (Tabela 1) o que torna este atributo interessante como parâmetro de seleção.

TABELA 1. HERDABILIDADE DO PERÍMETRO ESCROTAL (PE) EM DIFERENTES ESPÉCIES.

Espécie	h^2 do PE	Fonte
Bovinos	0,29 a 0,42	Boligon et al., 2010
	0,42	Silva et al., 2011
	0,45 a 0,60	Loaiza-Echeverri et al., 2013
Ovinos	0,30	Matos et al., 1992

Você pode imaginar porque a medida do perímetro escrotal é importante?

Um parâmetro importante na seleção de reprodutores é a correlação genética, que explica como duas características estão relacionadas entre si. Uma correlação positiva elevada significa que, enquanto uma característica aumenta, a outra característica geralmente também aumenta. Quando as características são correlacionadas negativamente, significa que se uma característica aumenta, a outra provavelmente vai diminuir.

Para explicar melhor a importância da correlação genética veja alguns exemplos ligados ao perímetro escrotal avaliado em bovinos:

- O perímetro escrotal possui uma correlação genética **negativa** com a idade da puberdade nos machos... Mas, ou que isso quer dizer?

Muito simples, quer dizer que quando eu seleciono animais de maior perímetro escrotal, indiretamente estou diminuindo a idade à puberdade da sua descendência, neste caso, uma resposta favorável para o produtor.

- O perímetro escrotal possui uma correlação genética **positiva** com o peso à desmama... E neste caso, o que isso significa?

Isso quer dizer que quanto maior o perímetro escrotal do pai, maior será o peso no período da desmama dos filhos.

- O perímetro escrotal possui uma correlação genética **negativa** com alguns parâmetros reprodutivos das fêmeas relacionadas geneticamente com estes machos... Você entendeu agora o que isso significa?

Isso quer dizer que a seleção de reprodutores com maior perímetro escrotal estará associada à diminuição da idade à puberdade, da idade ao primeiro parto e do intervalo entre partos das filhas ou fêmeas relacionadas geneticamente a estes reprodutores.

É importante fazer uma boa interpretação dos resultados já que, às vezes, uma correlação negativa é mais *favorável* que uma positiva ou vice-versa, como no caso do exemplo anterior.

Nos ovinos, o perímetro escrotal também apresenta uma correlação *favorável* com alguns parâmetros produtivos de importância zootécnica.

Para algumas raças bovinas, europeias ou zebuínas foram elaboradas tabelas de medidas de perímetro escrotal por faixas etárias (veja Manual de Andrologia do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA, 2013). Estas tabelas são um bom guia para você ter como referência quando estiver avaliando machos de um rebanho.

É importante ressaltar que muitas partes do sistema genital do macho podem ser avaliadas pela ultrassonografia. É uma técnica não invasiva que permite detectar anormalidades existentes nas diversas partes do sistema e também permite fazer mensurações mais precisas. Pode-se fazer o acesso dos segmentos desejados via contato externo ou via endorretal. Este método de avaliação ajuda muito, mas é importante frisar que a inspeção convencional (visão) e a palpação são métodos que mantêm sua importância, mesmo com a introdução de novas técnicas de avaliação semiológica.

3.4 AVALIAÇÃO DO SÊMEN

O exame do sêmen deve complementar a avaliação clínica do reprodutor e deve ser realizado de forma criteriosa e sistemática, e consiste em duas avaliações principais que são: 1) a avaliação macroscópica do ejaculado, que compreende a avaliação do volume, do aspecto, da cor e odor; 2) a avaliação microscópica do sêmen, que compreende a avaliação da motilidade, concentração e morfologia espermáticas.

A avaliação do ejaculado, as características dos ejaculados por espécie e os métodos de coleta de sêmen de cada espécie serão abordados em outro capítulo com mais detalhes. Leia-o com atenção, pois complementa a avaliação que tem que ser feita para selecionar um reprodutor.

3.5 AVALIAÇÃO DA LIBIDO OU CAPACIDADE DE CÓPULA

A libido pode ser definida como a disposição do macho para montar, efetuar e completar

a cópula com uma fêmea; enquanto a capacidade de cópula está relacionada ao número de fêmeas diferentes que o reprodutor é capaz de cobrir em uma unidade de tempo. Estas duas características são componentes importantes para avaliar o potencial de reprodução de um macho. Os resultados da avaliação destes parâmetros dependem de inúmeros fatores como a próprio interesse sexual do animal avaliado, da relação fêmea/macho, de quantas fêmeas em cio estão disponíveis por reprodutor, do grau de competição entre reprodutores e também influencia a eficiência de cobrição, a extensão da pastagem onde os animais são alocados. Independentemente de existirem os fatores que podem alterar a eficiência de cobrição é importante, dentro do possível, incorporar ao exame de potencial reprodutivo um teste para qualificar o interesse sexual dos machos.

Para melhor abordar o assunto, considerando sua importância, os aspectos de comportamento sexual foram focados em capítulo próprio. Para complementar as informações vistas neste segmento é necessário você estudar adequadamente o capítulo referente ao comportamento sexual dos machos.

ATENÇÃO!

A libido não está relacionada às características seminais nem ao perímetro escrotal. Devido a isto, é possível obter sêmen de boa qualidade em animais com baixa ou alta libido e vice-versa.

4. EXAMES COMPLEMENTARES

Acabamos de aprender a sequência desejada para executar uma avaliação andrológica de um reprodutor. A sequência dada pode ser executada por qualquer veterinário que assessorar sistemas de produção animal. No entanto, é bom saber que existem outros exames laboratoriais que podem complementar as informações colhidas a campo. Além disto, a cada dia que passa, com a evolução dos conhecimentos científicos, novos métodos de avaliação dos espermatozoides são disponibilizados. No capítulo de coleta e avaliação seminal serão citados alguns exames complementares específicos do sêmen.

A avaliação microbiológica pode ser realizada tanto do ejaculado, como da uretra (equinos), como de um lavado prepucial. Caso a suspeita seja infecção no sistema reprodutivo superior, o exame microbiológico do sêmen ou da uretra é o mais indicado. Se o foco for doença infecciosa transmitida pela cópula, o lavado prepucial pode ser o mais indicado. É bom lembrar que todo ejaculado é contaminado pela flora uretral, peniana e/ou prepucial. Consequentemente, para melhor interpretar o resultado de avaliação microbiológica pode vir a ser necessária a coleta de duas amostras consecutivas, por exemplo, dois ejaculados coletados em um intervalo curto. No primeiro ejaculado, o agente causal virá misturado com outros contaminantes do sistema genital em uma dada proporção. Na segunda avaliação, é muito provável que predomine o agente causador da inflamação, pois a flora uretral já foi alterada em função da ocorrência do primeiro ejaculado. Portanto, a interpretação de um exame microbiológico de contaminantes

seminais deve ser feita com muito rigor. No entanto, sabe-se que a simples presença de determinados microorganismos indica a sua associação a problemas reprodutivos.

LEMBRE-SE:

Bom seria basear a seleção de um reprodutor no seu potencial reprodutivo e no seu valor genético.

Como o valor genético seria medido? Através do índice intitulado “diferença esperada de progênie (DEPs)”. O que é isto?

Diferenças esperadas na progênie (DEPs) constituem uma medida que indica o valor genético de um animal comparado com outros da mesma raça, independente da idade ou de sua origem.

Como a diferença esperada na progênie pode ser útil?

- Permite comparar dois animais da mesma raça em termos de seu mérito genético para alguma característica. As DEPs indicam o que você pode esperar na descendência destes reprodutores que é devido à sua carga genética.
- As DEPs podem ser usadas como uma ferramenta para aumentar, diminuir ou manter alguma característica para a qual elas foram calculadas.
- As DEPs podem ser utilizadas como um critério de seleção. Em primeiro lugar, você tem que definir que característica seria interessante para o seu sistema de produção, e em seguida eleger o reprodutor que tenha sido favoravelmente avaliado nesta característica.

O que as diferenças esperadas na progênie não podem fazer?

- As DEPs não podem ser usadas para comparar animais de raças distintas.
- As DEPs não podem prever resultados.

Quais DEPs você pode usar para eleger os reprodutores?

- Peso ao nascimento
- Peso no período da desmama
- Peso ao sobreano
- Perímetro escrotal
- Influência materna (leite)
- Altura e peso das filhas à maturidade
- Facilidade de parto
- Instinto maternal
- Duração da gestação
- Peso da carcaça
- Marmorização dos músculos
- Tamanho de lombo
- Espessura de gordura
- Docilidade

5. INTERPRETAÇÃO DO EXAME ANDROLÓGICO

Para tomar a decisão sobre o futuro do indivíduo como reprodutor você tem que levar em conta todos os achados, desde aqueles levantados pelo exame clínico geral até os mais específicos como a avaliação do sistema genital e da qualidade do sêmen, incluindo a morfologia espermática e do comportamento sexual.

ESTEJA ATENTO:

Você já pensou aprovar como reprodutor um garanhão que é portador de anemia infecciosa equina?

Note que o exame clínico tem que ser bastante completo caso você seja o único técnico responsável por emitir um parecer, mesmo que o cliente tenha solicitado apenas um exame andrológico.

É importante, ao final, você emitir um parecer claro que oriente o criador. Foi alertado ao longo do capítulo que não existe ainda um teste que indique com exatidão qual é a fertilidade de um reprodutor. No entanto, com os exames que fazemos temos a capacidade de detectar os reprodutores problemas. A irregularidade encontrada pode ser uma considerada grave, que não nos deixe qualquer dúvida sobre a inconveniência de usar o animal como reprodutor, como podem ser achados indesejáveis, de grau leve a moderado, tendo caráter transitório ou não. Portanto, quando da emissão de um laudo é indicado classificar o reprodutor como “apto” para reprodução, “questionável” ou “inapto”.

O apto seria aquele que tem todos os parâmetros avaliados dentro da normalidade para a espécie, considerando no julgamento, a idade que o animal tem. Questionável seria aquele reprodutor que tem um ou mais parâmetros abaixo do limiar desejado, que podem voltar à normalidade com o tempo ou permitir, mesmo com o problema, obter índices de fertilidade aceitáveis. O inapto é aquele que tem uma deficiência considerada grave ou que apresenta uma deficiência que comprovadamente será persistente (defeitos genéticos, entre outros).

Aqueles que são classificados como “questionáveis” poderão melhorar e com o tempo ser reclassificados como aptos. Ou ainda, caso o problema persista ou se agrave podem acabar sendo descartados como reprodutores.

Deu para você notar que nem sempre a decisão final pode ser dada com um único exame? Em certos casos você terá que repetir certas avaliações algumas vezes para de fato se certificar das características evolutivas do quadro. Lembre-se da duração da espermatogênese e maturação espermática no epidídimo, estes períodos podem indicar qual seria o intervalo mais adequado, entre exames, para que você tenha melhor capacidade interpretativa.

De todo jeito, ao final de cada avaliação você tem a possibilidade de emitir um parecer resultante daquela avaliação. É bom orientar o seu cliente que o parecer representa a situação encontrada no momento do exame e que um laudo não é válido para toda vida. Qualquer acidente pode mudar a situação em poucas horas...

6. CONCLUSÕES

Um dos fatores determinantes da eficiência de um sistema de produção animal é a fertilidade e esta exerce um grande impacto sobre os índices econômicos do sistema. Ter bons reprodutores é uma questão imprescindível. Devido a isso, avaliar adequadamente o potencial reprodutivo de cada um é uma medida que fortalece a possibilidade de sucesso de qualquer exploração animal.

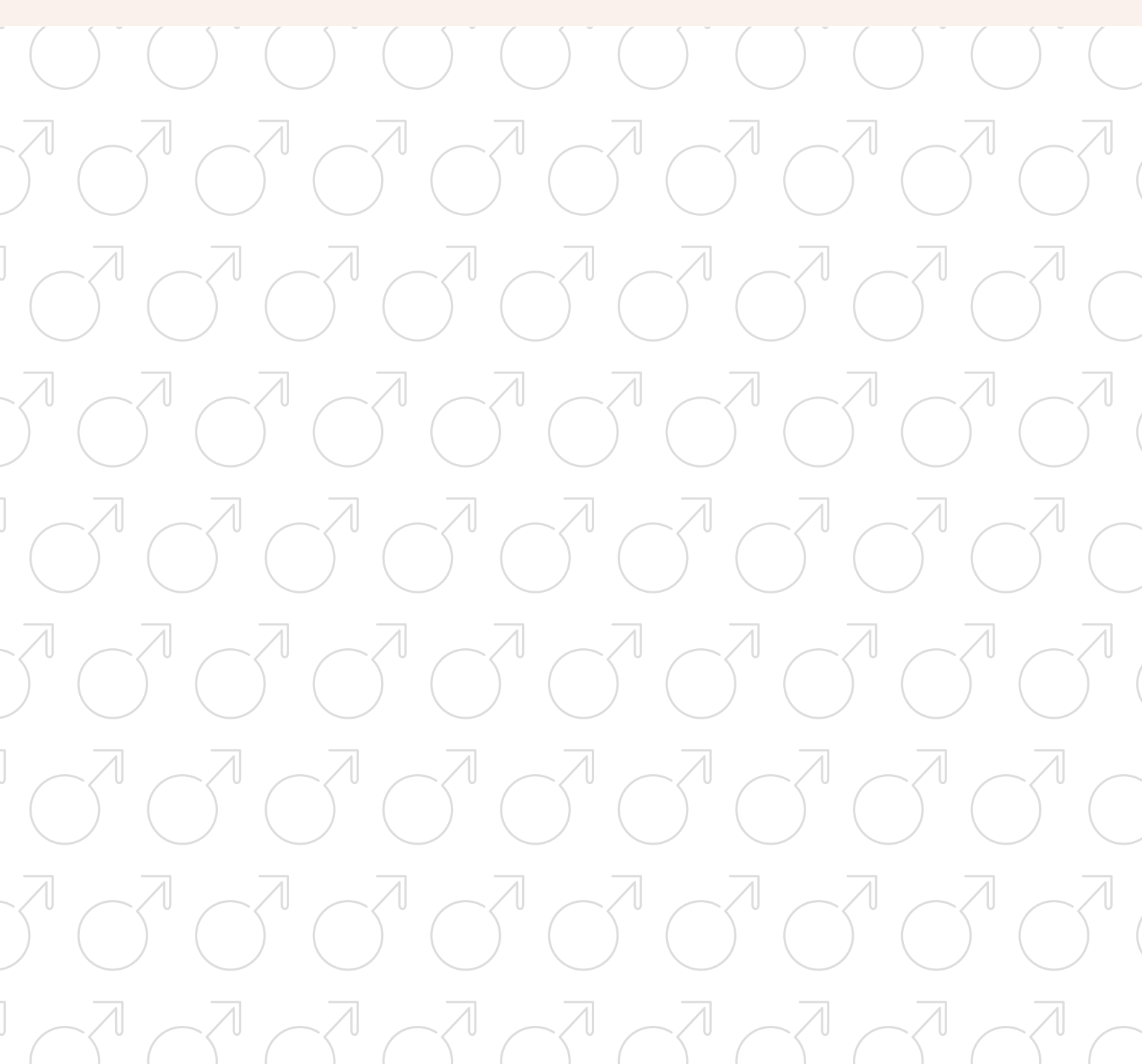
Não há dúvida que o foco a ser mantido no sistema de seleção é a melhoria dos índices produtivos e reprodutivos. No entanto, sempre haverá sistemas de produção em níveis de evolução diferentes. Por exemplo, propriedades que vêm selecionando há mais tempo os valores de referência de perímetro escrotal podem estar acima da média da população examinada, assim como em outras propriedades, pode estar aquém da grande maioria dos animais. Portanto, os parâmetros que balizarão a seleção de reprodutores poderão não ser os mesmos em propriedades diferentes, cabe a você defini-los.

A rapidez na melhoria pode requerer investimentos imediatos, que poderão em determinadas propriedades não serem passíveis de execução na velocidade desejada, o que leva à elaboração de estratégias diferentes em cada caso. Relembre que a comparação entre contemporâneos para a escolha dos melhores já é um grande passo.

Adicionalmente, a meta a ser atingida no processo de seleção tem que ser bem definida. Não adianta termos animais extremamente precoces se o custo para que o efeito precocidade seja expresso na plenitude inviabiliza o sistema de produção. Para a reprodução temos que almejar os maiores índices possíveis, para a definição de metas de produção temos que incorporar a variável viabilidade econômica, dentro do contexto regional. Os desafios são múltiplos e cabem ao exercício do bom senso solucioná-los.

7. RESUMO

- É importante fazer um exame andrológico antes do início da estação de monta, em animais com conhecida ou suspeita de subfertilidade, antes da participação em exposições, antes de adquirir um animal como reprodutor, ou antes dos animais serem destinados à venda.
- Existem vários métodos de seleção: seleção pela genealogia, pela conformação, pelo desempenho, pela progênie e pelas características reprodutivas.
- O exame andrológico deve incluir: o exame clínico geral, exame específico do sistema reprodutor, a avaliação da qualidade do sêmen e a avaliação da libido ou capacidade de cópula.
- Após a finalização do exame os animais devem ser classificados como aptos, questionáveis ou inaptos.



10

Coleta e Avaliação Seminal em Animais Domésticos

***Autores: Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri***

META DO CAPÍTULO

Conhecer as características dos ejaculados em diferentes espécies de animais domésticos.

Descrever os procedimentos para coletar e avaliar o ejaculado e uma dose de sêmen.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Coletar adequadamente as amostras para avaliação do ejaculado ou uma dose de sêmen.
- Executar todas as avaliações necessárias para caracterizar um ejaculado ou uma dose de sêmen.
- Discernir as diferenças entre ejaculados de espécies diferentes.
- Interpretar os resultados e emitir um laudo de avaliação.

1. INTRODUÇÃO

Vimos, em capítulo anterior, a importância da seleção de reprodutores. Para complementar o tema vamos abordar mais detalhadamente neste capítulo o que fazer para obter uma amostra de sêmen adequada, quais são os métodos de avaliação seminal e como temos que interpretar os achados. Além disso, é foco deste segmento prover os procedimentos que temos que executar para avaliarmos qualitativamente uma dose de sêmen destinada ao uso em programas de inseminação artificial.

2. MÉTODOS DE COLETA DE SÊMEN E CARACTERÍSTICAS SEMINAIS EM ESPÉCIES DE ANIMAIS DOMÉSTICOS

Antes de descrevermos os métodos de coleta de sêmen é indicado discutirmos o tipo de amostra seminal que devemos tentar obter. A palavra “tentar” é usada aqui, pois nem sempre conseguiremos obter a amostra desejada, quer seja porque o animal não responde

às nossas tentativas ou porque a espécie ou raça requer uma abordagem diferenciada. Temos que ter em mente que, para podermos interpretar adequadamente a qualidade de uma amostra seminal, esta deve representar o mais fidedignamente possível o que naturalmente ocorre, isto é, ser o mais parecido possível a um ejaculado que o reprodutor deposita no sistema genital feminino no ato da cópula. Portanto, o método de eleição de coleta de sêmen sempre será o que mais simula o ato da cópula, conseqüentemente, será importante cuidar da estimulação sexual previamente à coleta, já que temos que prover a condição necessária para o reprodutor alcançar um orgasmo pleno e ter uma ejaculação completa.

Dependendo do indivíduo ou da espécie, fatores externos podem prejudicar a eficiência de nossas tentativas. Alguns animais têm sua atenção desviada com muita facilidade, pois detectam rapidamente quando o processo foge ao usual. A estimulação sexual prévia é importante, pois o reprodutor devidamente estimulado conseguirá melhor eliminar em cada ejaculado a quantidade de espermatozoides disponíveis nas reservas extragonadais. Para efeito de interpretação, devemos sempre considerar a atividade sexual à qual estava submetido o reprodutor no período prévio à coleta. Ele estava em descanso? Ou vinha de um regime de cópula intenso? Vindo de um período de descanso, é esperado obter-se um ejaculado com um número elevado de espermatozoides que podem não representar a produção espermática diária daquele indivíduo. Em descanso, as reservas extragonádicas estarão próximas de sua capacidade máxima. Desconsiderando este aspecto em nossa análise poderemos erroneamente interpretar que a quantidade de espermatozoides encontrada é adequada ou até acima da esperada, quando na realidade, se este animal estivesse em regime de cobrição diária, a quantidade de espermatozoides ejaculados seria muito menor. Mantendo atividade sexual diariamente, ele poderia não ser capaz de produzir a quantidade mínima necessária de espermatozoides para obter a fertilidade desejada. Portanto, o aspecto relacionado à atividade sexual prévia à coleta tem que ser considerado na hora da interpretação.

2.1 O QUE FAZER PARA SE OBTER UMA AMOSTRA QUE REPRESENTA A PRODUÇÃO ESPERMÁTICA DIÁRIA?

De fato esta amostra é a que nos daria melhor condição interpretativa. Para se obter um ejaculado nestas condições teremos que equilibrar as reservas extragonadais. É conhecido que existem diferenças entre indivíduos quanto à capacidade destas reservas. Portanto, o ideal seria coletar o reprodutor diariamente (intervalo de 24 horas) até que o número total de espermatozoides no ejaculado oscile discretamente em relação a um valor médio. Isto será indicativo de que a quantidade de espermatozoides retirados em um dia acaba sendo repostada durante o próximo período de 24 horas. Para isto ocorrer, poderá levar oito dias em um indivíduo, e até 14 dias em outro. Aquele que tiver maior reserva extragonádica levará mais tempo do que aquele com uma pequena reserva.

A importância de se obter uma amostra nesta condição está no fato de poder estimar, baseando-se exclusivamente na amostra seminal, quantas fêmeas poderiam ser cobertas em um período de 24 horas por este reprodutor. O valor de referência para o cálculo seria o número mínimo de espermatozoides viáveis necessários para obter uma boa fertilidade na espécie em foco. Não se esqueça, não é só sêmen que é necessário, o reprodutor teria que ter a libido para executar estas cópulas.

Vocês verão que na maioria das vezes não será possível obter uma amostra desta, por uma série de razões, sendo a principal, a dificuldade de manejo dos reprodutores. No

entanto, quando for o caso, poderá ser necessário executar este esforço. Uma alternativa que poderá ser mais facilmente exequível será esgotar as reservas em um dia, ou seja, submeter o reprodutor a múltiplas coletas ou cópulas em período curto e avaliar o ejaculado produzido após um intervalo de 24 horas de inatividade. A outra será solicitar que o reprodutor execute uma cópula por dia por certo período de tempo e então, poderá ser marcada a visita para recolher a amostra no dia desejado.

Além do aspecto relacionado à produção espermática diária, particularidade importante a ser considerada, pode vir a ser necessário confirmar se o ejaculado que foi coletado é de fato representativo. Em outra situação, no caso de ter sido coletado um ejaculado de qualidade questionável, deverá ser avaliado se foi um erro na coleta ou manipulação da amostra ou se é de fato a característica real do ejaculado. Nestes dois casos pode ser indicado coletar uma segunda amostra em um intervalo de tempo relativamente curto. É sugerido o intervalo de uma hora para dar tempo do reprodutor se recompor, mas não tempo suficiente para repor as reservas extragonadaís. Teoricamente, na segunda tentativa você poderá obter espermatozoides que permaneceram menos tempo armazenados.

Reprodutores que têm espermatozoides com baixa motilidade na primeira coleta podem melhorar na segunda, isto é mais frequentemente visto naqueles que vêm de um período de descanso longo. Em condições de normalidade e considerando que a primeira amostra seja de fato representativa, você poderá se basear nos seguintes parâmetros para interpretar os achados das coletas: o segundo ejaculado tem que ter o volume similar ao anterior; a concentração espermática e o número total de espermatozoides do segundo ejaculado devem cair e ficar próximos da metade; a motilidade espermática ficará similar ou poderá melhorar (acabamos de comentar uma das causas) e a incidência de anormalidades espermáticas não pode mudar. Qualquer mudança nestas tendências deve ser avaliada e interpretada.

2.2 QUAIS SÃO OS PRINCIPAIS MÉTODOS DE COLETA DE SÊMEN?

O primeiro que deve ser tentado é o método da vagina artificial. É o método de eleição para se conseguir uma amostra mais próxima daquela que seria ejaculada durante uma cópula. É usado para várias espécies.

A vagina artificial é uma estrutura tubular de diâmetro e comprimento ajustados ao tamanho do pênis, que é internamente recoberta por uma mucosa de borracha bem flexível. Em uma das extremidades é fixado o recipiente coletor. A temperatura da câmara interna é ajustada colocando-se água aquecida para se obter a temperatura final de 37 a 42° C (ajustada em função do reprodutor). A pressão interna é controlada insuflando ar por uma válvula lateral. Para a coleta deixa-se o reprodutor previamente estimulado montar em uma fêmea em cio ou um manequim e, na hora do galeio/monta, desvia-se o pênis para dentro do lúmen da vagina artificial. É importante o reprodutor introduzir o pênis na vagina e não o técnico vestir a vagina artificial no pênis do reprodutor.

O segundo método mais utilizado é a estimulação elétrica usando um equipamento denominado eletroejaculador. É um sistema que é controlado manualmente ou através de programação prévia, para emitir pulsos elétricos de amperagens de diversas intensidades e durações. O estímulo elétrico é direcionado para o assoalho da pelve tentando estimular as ampolas dos ductos deferentes, uretra pélvica e glândulas anexas adjacentes. O estímulo é dado colocando-se via endorretal uma estrutura cilíndrica de diâmetro compatível com a espécie, de material isolante, com uma das pontas afinada e apresentando embutidos em apenas uma das duas hemipartes, os eletrodos dispostos paralelamente no eixo maior.

Após higienização do prepúcio, em um copo coletor, o assistente coletará o fluido turvo expelido pelo orifício prepucial, excluindo o fluido transparente. Os estímulos elétricos devem ser intermitentes e inicialmente devem ser de baixa intensidade, aumentando gradativamente na intensidade e duração até a eliminação de sêmen. As principais desvantagens do uso de eletroejaculadores são o estresse causado pelo estímulo elétrico pelo método de contenção do animal, assim como, às vezes, os estímulos podem levar à queda do animal no tronco de contenção. Adicionalmente, a amostra coletada não é representativa de um ejaculado normal, pois dependendo da estimulação elétrica, obteremos uma amostra de concentração variável, geralmente mais diluída do que a fisiológica. No entanto, pode ser a única alternativa viável para coleta de sêmen (veja uso por espécie) em determinados casos.

Outros métodos de coleta de sêmen são utilizados e serão descritos na abordagem da metodologia usada em cada espécie que passamos a discutir na sequência:

- Bovinos

A vagina artificial é o método de eleição. É possível utilizá-la na grande maioria das necessidades quando o foco são as raças de *Bos taurus taurus*. Devido à índole dos touros destas raças, o condicionamento é relativamente fácil, particularmente quando se inicia o processo em animais mais jovens. Geralmente utiliza-se como manequim uma vaca em cio natural ou estrogenizada e, às vezes, simplesmente bem contida.

Nas raças de *Bos taurus indicus* é possível a coleta pelo método da vagina artificial, mas somente em animais muito mansos e devidamente treinados e condicionados, geralmente doadores de sêmen em centrais de congelamento. Para o caso de animais submetidos à coleta nas fazendas, este método é substituído pelo método da eletroejaculação, devido, principalmente, ao temperamento bravo destas raças quando criadas extensivamente.

Nos bovinos é possível a coleta de uma amostra seminal pelo método da massagem das ampolas dos ductos deferentes associada a estimulação da uretra pélvica. Procura-se estimular contrações da uretra fazendo a massagem em nível da próstata, inserção das glândulas seminais e, subsequentemente, fazenda a massagem crânio/posterior das ampolas dos ductos deferentes. Desta forma, objetiva-se lançar para o lúmen uretral o conteúdo destas glândulas acessórias. Este procedimento é repetido várias vezes até o sucesso desejado. Este método permite obter apenas uma amostra bastante reduzida (apenas algumas gotas) constituída de uma população espermática reduzida. A amostra serve para avaliar a morfologia espermática, mas os dados de motilidade e concentração espermática têm que ser considerados com reserva.

- Búfalos

O método da vagina artificial é o método de eleição. A eletroejaculação é mais fácil em animais mais jovens. Reprodutores mais velhos podem não aceitar este método. A ocorrência de acidentes não é descartada se houver insistência.

- Caprinos

Devem ser coletados preferencialmente pelo método da vagina artificial e o uso da eletroejaculação é restrito aos casos em que há dificuldade em executar o primeiro método.

- Ovinos

Utiliza-se preferencialmente o método da vagina artificial. Nesta espécie pode ser utilizado como manequim até outro macho. A eletroejaculação é possível deixando o animal em estação ou em decúbito lateral, como é recomendado por alguns técnicos. Nesta última posição, consegue-se retrain o prepúcio com certa facilidade e expor a glândula do pênis que pode ser imobilizada com uma gaze. É possível, desta forma, coletar uma amostra de sêmen pela eletroejaculação sem que entre em contato com a mucosa prepucial, diminuindo a contaminação.

- Suínos

Em suínos, o método mais utilizado é o da mão enluvada. Após breve fricção do prepúcio sobre o pênis, ao ser exposta a glândula do pênis ela é contida abraçando-a com os dedos da mão, mantendo uma pressão continuada. Em sequência, o restante do pênis é exteriorizado gradativamente. Durante todo período da ejaculação, que é demorado no varrão, mantém-se uma pressão pulsátil e forte sobre a glândula. Pode-se, desta maneira, separar as diferentes frações do ejaculado, sendo a segunda, mais rica em espermatozoides e a última, acompanhada de eliminação do gel. Para executar este tipo de coleta o reprodutor tem que ser condicionado a montar em um manequim rígido, especialmente dimensionado. Durante o processo de condicionamento pode ser necessário colocar uma porca em cio próximo ao manequim e o uso de urina de porca em cio sobre o manequim pode auxiliar a estimulação do doador de sêmen. Também existe a vagina artificial para suíno, mas é raramente utilizada. A eletroejaculação pode ser utilizada em último caso, mas somente com o animal sedado.

- Equinos

Devem ser coletados pelo método da vagina artificial. A eletroejaculação não pode ser tentada com risco de acidentes graves. O método da massagem das ampolas não se aplica para estas espécies. Em animais que têm problema na coluna ou de aprumos posteriores pode ser tentada a coleta de sêmen com o animal em estação, imóvel. Para aumentar as chances de sucesso o reprodutor tem que ser adequadamente estimulado, primeiramente para entrar em ereção e, na sequência, para chegar à ejaculação. Uma vez em ereção, o pênis é vestido com uma luva descartável cano longo, ou qualquer outro recipiente plástico de formato e plasticidade similar. Em seguida, com uma mão segurando um chumaço de algodão previamente submerso em água aquecida próxima a 50° C, abraça-se a glândula do pênis mantendo uma pressão continuada e com a outra mão realiza-se um garrote na base do pênis mantendo uma pressão pulsátil continuada. Procura-se desta forma, renovando frequentemente o aquecimento do chumaço de algodão na água quente, estimular o garanhão ou jumento até a ejaculação. Pode-se não obter sucesso na primeira tentativa, a insistência pode dar bons resultados. Não há dúvida que o sêmen coletado virá bem contaminado pela mucosa da glândula. Por isto deve ser usado somente como método alternativo.

- Cães

Utiliza-se o método da mão enluvada. Após massagem prévia do pênis ainda dentro da bolsa prepucial, ao primeiro sinal do engurgitamento do bulbo, retrai-se o prepúcio até a região pós-bulbo e mantém-se com a mão um garrote do pênis justo posterior ao bulbo, exercendo pressão continuada sobre o pênis. Terminada a ereção e ao sinal do doador (levanta um dos membros posteriores), o pênis é gentilmente rotacionado em direção posterior (o pênis acaba sendo direcionado em posição contrária à cabeça do animal), e

nesta posição, exerce-se tração continuada sobre o pênis até o final da ejaculação. Podem ser separadas as três porções do ejaculado, a primeira pobre em espermatozoides, a segunda rica e a terceira novamente pobre em espermatozoides. A interrupção da coleta após a obtenção da fração rica tem que ser executada com cuidado. A mucosa peniana do cão é altamente sensível, podendo ocorrer sangramentos esporádicos. A estimulação sexual deve ser feita preferencialmente com fêmea em cio nas imediações. Animais bem condicionados podem doar sêmen na ausência de fêmea.

A eletroejaculação pode ser tentada em animais sedados e é uma alternativa para os canídeos selvagens.

- Felinos

A coleta de sêmen em gato doméstico pode ser realizada por meio de vagina artificial ou eletroejaculação. O uso da vagina artificial não é considerado um método prático já que há necessidade de treinamento do doador durante pelo menos duas a três semanas, sendo que somente obtemos sucesso em 60 a 70% dos casos. Adicionalmente, o gato, mesmo que treinado, se colocado em ambiente diferente daquele que ele usualmente convive, provavelmente não ejaculará. A eletroejaculação é considerada o método de eleição para obtenção de sêmen felino por ser um procedimento simples, rápido e prático e podem requerer a sedação do animal.

Apresentamos na página 147 os parâmetros seminais esperados para espécies de animais domésticos que são mais frequentemente avaliadas (Tabela 1). É bom esclarecer que estes parâmetros são esperados quando se utiliza o método de coleta de sêmen mais indicado para a espécie. São valores médios para animais sexualmente maduros. Você deve estar lembrado que animais no período pós-púbere passam por um período de produção espermática irregular, para depois normalizar a produção e maturação espermática. Os valores apresentados devem ser usados como guia. É necessário que você interprete os achados de cada caso, levando em consideração a idade do animal, a época em que foi tentada ou foi colhida a amostra (somente para espécies sazonais), o método de coleta utilizado, o regime de cópula imediatamente anterior à data da coleta e as condições gerais que envolveram o procedimento.

3. AVALIAÇÃO DO SÊMEN

A avaliação do sêmen deve complementar a avaliação clínica do reprodutor (veja capítulo Seleção de Reprodutores) e deve ser realizada o mais breve possível após a coleta, procurando preservar o ejaculado de sofrer choque térmico (espermatozoides de suínos são muito sensíveis ao choque pelo frio) e de ser exposto ao sol. É indicado preservar o ejaculado aquecido a 37° C desde a coleta e durante todo período de avaliação. O exame tem que ser realizado de forma criteriosa e sistemática, e consiste em duas avaliações principais que são:

3.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO EJACULADO

Imediatamente após a ejaculação, o volume é avaliado, lembrando que uma amostra coletada com vagina artificial mostra valores mais próximos dos fisiológicos. O aspecto

é determinado pela concentração e pode ser classificado em cremoso, leitoso, seroso ou aquoso e a cor, que poderá ser branca, marfim, acinzentada ou amarela citrino. Também é avaliado o odor, que em condições de normalidade é classificado como “*sui generis*”. A alteração do aspecto ou da cor geralmente é indicativa de alguma patologia envolvendo o sistema tubular e/ou glândulas anexas.

3.2 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DO SÊMEN

Nesta parte do exame serão avaliados o movimento de massa (quando aplicável), o movimento espermático individual e o vigor, a concentração e a morfologia espermáticas.

O *movimento de massa* ou também chamado de turbilhonamento é avaliado em menor aumento (100 X) em microscopia óptica de campo claro ou contraste de fase. Coloca-se uma gota de sêmen sobre a lâmina previamente aquecida sem colocar lamínula. O movimento é resultante da concentração, da motilidade individual e vigor espermáticos e é classificado subjetivamente pela visualização de ondas quando se observa a periferia da gota. A escala varia de zero a cinco. Zero, quando somente são observados espermatozoides imóveis ou móveis, mas sem formação de ondas, e cinco, quando se observam ondas que se deslocam intensamente.

A *motilidade individual* é expressa em percentagem e varia conforme a proporção de espermatozoides que são móveis (varia de 0 a 100%). A avaliação deve ser feita colocando uma gotícula de sêmen sobre uma lâmina aquecida recobrimo-a com lamínula. A motilidade individual pode ser avaliada usando microscópio óptico de campo claro ou microscópio de contraste de fase no aumento de 200 ou 400X. É uma avaliação subjetiva e exige prática do avaliador. Hoje pode ser avaliada e classificada uma série de características do movimento espermático fazendo uso de sistemas computadorizados. No entanto, a avaliação subjetiva, criteriosamente realizada, continua trazendo a maioria das informações necessárias para a avaliação andrológica.

O *vigor* é a força do movimento da cauda que influencia a velocidade com que os espermatozoides se deslocam, é avaliado simultaneamente quando se observa a motilidade espermática individual. É classificado de um a cinco, sendo um, vigor baixo e cinco, de alta intensidade.

A *concentração espermática* é a quantidade de espermatozoides por milímetro cúbico (sptz/mm³) ou centímetro cúbico (sptz/ml) de sêmen. Esta é avaliada colocando-se um volume conhecido de sêmen em um volume pré-determinado de formol salina, água destilada ou outra solução previamente preparada. O objetivo é diluir o sêmen para que os espermatozoides possam ser contados usando câmara de Neubauer ou medindo a densidade ótica, que é transformada em concentração usando tabela previamente elaborada, entre outros métodos. A diluição usada varia de ejaculado para ejaculado e particularmente de espécie para espécie. Geralmente utilizam-se diluições que variam de 1:10 até 1:400. Veja que na tabela de padrões seminais, nas espécies ovina e caprina, o volume esperado é baixo e a concentração é alta. Nestas espécies, a diluição de 1:400 é a mais indicada, na maioria das vezes. Na espécie equina o volume seminal é muito variável e geralmente a concentração é intermediária. Nesta espécie, dependendo do volume do ejaculado, pode variar a diluição de 1:10 (ejaculado bastante diluído) até 1:200 (ejaculado concentrado). Para sêmen de bovinos geralmente é utilizado a diluição de 1:200. Na avaliação macroscópica do ejaculado, imediatamente pós-coleta, o aspecto do sêmen permitirá que você defina qual diluição usar. É importante não esquecer de homogeneizar o ejaculado antes de retirar a amostra e mensurar o volume com precisão.

Por exemplo, a diluição de 1:200 pode ser obtida colocando-se 20 microlitros de sêmen em quatro mililitros de formol salina, mais precisamente, em quatro mililitros de formol salina menos 20 microlitros correspondentes ao volume de sêmen que será adicionado. Tendo uma diluição de referência você poderá facilmente calcular as demais. Nas soluções utilizadas, os espermatozoides são preservados imóveis, por isto não se pode esquecer de homogeneizar bem a amostra diluída antes de aspirar uma alíquota para preencher a câmara de Neubauer. O esquecimento deste procedimento pode levar a avaliações muito erradas. Por exemplo, pegar uma alíquota com muitos espermatozoides, acima da real, aspirando principalmente a porção onde os espermatozoides ficaram precipitados (fundo do tubo) ou, se for aspirada uma alíquota na parte de cima do mesmo tubo, poderão vir menos espermatozoides do que viriam se a amostra fosse adequadamente homogeneizada.

A Câmara de Neubauer tem dois retículos de 25 quadrados (Figura 1) separados um do outro e que são recobertos por uma lamínula hiperplana. Para o preenchimento do espaço entre o retículo e a lamínula hiperplana devem ser usadas duas alíquotas diferentes da amostra diluída. É uma forma de você detectar erros de preenchimento ou de homogeneização inadequada. A diferença no número de espermatozoides contados, comparando os resultados dos dois retículos, não pode ultrapassar 10%. Se isto ocorrer, recomeça do início. Geralmente são contados 5 quadrados em cada retículo e calcula-se a média. Caso o sêmen tenha sido diluído demais, pode-se adotar como uma estratégia para diminuir erros, contar os 25 (vinte e cinco) quadrados de cada retículo. Não se esqueça! Se fizer isto, você deverá ajustar os dados que serão incorporados na fórmula abaixo:

$$\text{Nº de espermatozoides} = \frac{\text{Número médio de SPTZ contados por retículo}}{A/25 \times 1/10 \times 1/B}$$

A = número de quadrados contados em um retículo

B = fator de diluição utilizado

O valor obtido será a concentração por mm³; para obtermos a concentração por mL (cm³) deve-se multiplicar o valor por 1000.

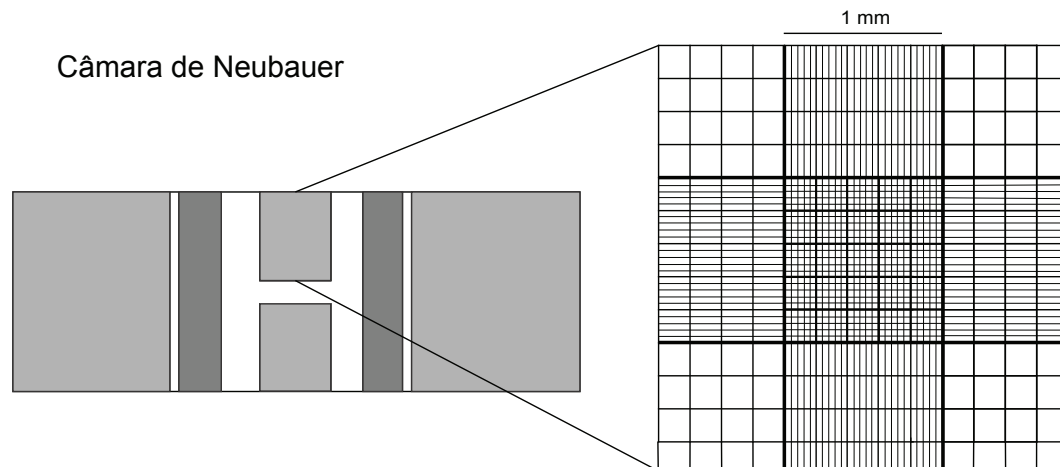


Figura 1. Câmara de Neubauer, à direita em primeiro plano está sendo mostrado o retículo da parte superior da câmara. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

Quando o sêmen é coletado pelo método do eletroejaculador, massagem de ampolas, ou outros, a concentração espermática não vai corresponder à que seria obtida pelo método da vagina artificial. Portanto, a concentração obtida nestes casos tem que ser analisada com reserva e às vezes, nem ser considerada.

Para efeito de interpretação, é necessário considerar o número total de espermatozoides presentes no ejaculado completo. Para obter este valor é só multiplicar a concentração obtida por mL pelo volume do ejaculado. A avaliação única da concentração de espermatozoides por mL pode variar muito em animais que tenham volume bastante variável de sêmen (ex: equinos). Quando o volume do ejaculado for alto, a concentração poderá ser baixa e vice versa levando, às vezes, a duas concentrações espermáticas totalmente diferentes para um mesmo número total de espermatozoides por ejaculado. Visto isto, você nota como é importante sempre considerar qual é o número total de espermatozoides no ejaculado coletado.

A avaliação da morfologia espermática deverá sempre fazer parte do exame andrológico. Podem existir espermatozoides com boa motilidade que apresentam alterações na forma, particularmente da cabeça. Está bem estabelecido para a maioria das espécies de animais domésticos que a fertilidade tem uma associação inversa à frequência de espermatozoides morfologicamente anormais. Geralmente este efeito se expressa quando a incidência de anormalidades ultrapassa 30%.

A morfologia espermática pode ser avaliada em microscopia óptica usando esfregaços de espermatozoides em lâminas coradas (existem várias colorações – vermelho congo, giemsa, Karras, entre outros) ou em microscopia de contraste de fase ou de interferência diferencial, usando preparações úmidas, sempre no aumento de 1000X (10X ocular + 100X objetiva de imersão). A preparação úmida consiste em colocar uma gotícula de sêmen preservada em formol salina sobre uma lâmina e recobri-la com uma lamínula. O excesso de líquido é eliminado exercendo uma pressão discreta sobre a lamínula recoberta com papel absorvente. Este procedimento é essencial para que a maioria dos espermatozoides fique posicionada de forma que todo o contorno da cabeça possa ser observado no mesmo plano. Avaliam-se pelo menos 200 células e o resultado é expresso em porcentagem.

A morfologia espermática pode ser classificada por dois métodos, um que caracteriza individualmente todos os defeitos e os classifica em função do local de ocorrência, em defeitos de cabeça, peça intermediária ou peça principal, separando as gotas citoplasmáticas proximais e distais. O outro caracteriza os defeitos individualmente e os classifica em defeitos maiores ou menores (os com maior ou menor probabilidade de influenciar a fertilidade). As duas formas de apresentação são corretas, o importante é saber a frequência e o tipo de anormalidades que foram detectadas.

É importante saber, para efeito de interpretação, os conceitos de defeitos compensáveis e não compensáveis. Os defeitos compensáveis são aqueles que não exercerão influência sobre a fertilidade se o número total de espermatozoides por dose for aumentado. Por exemplo, o defeito de peça principal dobrada. Os espermatozoides com este defeito não competirão para a fertilização, mas poderão exercer influência na fertilidade se o número total de espermatozoides por dose é baixo. Nestes casos, se aumentarmos o número total de espermatozoides na dose vamos conseguir colocar o número mínimo necessário de espermatozoides normais para obter a fertilidade esperada. Desta forma, compensamos o defeito!

Por outro lado, quando o defeito é não compensável não adianta aumentar o número de espermatozoides por dose que a fertilidade permanecerá abaixo do desejado. Por

exemplo, se houver uma frequência anormalmente alta do defeito de cabeça chamado de piriforme (cabeça em forma de pêra). Estes espermatozoides podem ter motilidade normal e todo aparato para fertilizar em boas condições, competindo em igualdade de condições com os outros normais. No entanto, podem ter um defeito no DNA e inviabilizar a evolução do desenvolvimento do embrião já nas fases iniciais, a partir das primeiras divisões celulares. Estes espermatozoides, por conseguirem ultrapassar a zona pelúcida e entrar no oócito, inviabilizaram a entrada de outro que poderia estar normal. Neste caso, não adianta aumentarmos o número de espermatozoides por dose, pois não estaremos alterando a proporção de espermatozoides normais. Note que defeitos classificados como não compensáveis são mais graves. Somente pela observação feita da maneira descrita acima não se poderá afirmar se o defeito é compensável ou não, os dados de fertilidade do reprodutor poderão fornecer um subsídio. No entanto, é bom você registrar estes conceitos, eles servirão para ponderar a importância de cada defeito.

Observe a tabela 1 e veja que para a maioria das espécies a proporção de espermatozoides normais desejável é 70% ou mais. Isto não quer dizer que o animal que tiver 68% de normais terá uma fertilidade menor, a mudança é gradativa e vai depender do tipo de defeito. Você pode entender melhor, pelo menos em parte, o porquê desta ponderação.

Está padronizado como “valor referência” que a incidência de defeitos maiores não seja superior a 10% e que a incidência total de anormalidades não ultrapasse 30%. Além destes referenciais é necessário ter um cuidado especial na interpretação quando um defeito só ultrapassa a incidência de 5%, particularmente quando for da cabeça do espermatozoide. Por exemplo, na avaliação foram detectados 8% de cabeças delgadas na base, ou 7 % de cabeças piriforme, mesmo que o número total de defeitos não ultrapasse 30%, e que a incidência de defeitos maiores não passe de 10%, você tem que ficar alerta. Caso este achado seja persistente, levante a suspeita de que ele seja de origem hereditária. Fique bastante atento, pois isto pode ser um motivo para penalizar um reprodutor. Adicionalmente, temos que ter a consciência que podemos não estar detectando um defeito com os métodos de avaliação empregados. Por exemplo: e se tiver faltando um receptor para a zona pelúcida na membrana acrossomal interna? Não vamos conseguir detectar este defeito com as avaliações microscópicas utilizadas, portanto, quando o touro é sabidamente subfértil e você não encontrou uma causa que explique a baixa fertilidade, considere esta possibilidade entre muitas outras e, eventualmente, recorra a um laboratório que possa te auxiliar com métodos de avaliação mais completos e de maior sensibilidade.

TABELA 1. CARACTERÍSTICAS SEMINAIS DESEJÁVEIS

Característica	Bovinos	Búfalos	Caprinos	Ovinos	Equinos	Suínos	Caninos	Felinos
Volume (mL) (vagina artificial)	5-8	2-8	0,5-1,5	0,5 – 3	40-60	50-600 mL	1,5 a 80,0 mL	0,12-0,25
Primeira fração	NA	NA	NA	NA	Rica em sptz	Pobre em sptz	Pobre em sptz	NA
Segunda fração					Gel	Rica em sptz	Rica em sptz	
Terceira fração					NA	Gel	Pobre em sptz	
Cor	branca/ marfim	branca/ marfim	branca/ marfim	branca/ marfim	branca acinzentada	branca acinzentada	branca acinzentada	branca
Odor	SG	SG	SG	SG	SG	SG	SG	SG
Movimento de massa	≥3	≥3	≥4	≥3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Motilidade dos espermatozoides (%)	≥70	≥70	≥80	≥80	≥60	≥70	≥70	≥60
Vigor dos espermatozoides	≥3	≥3	≥3	≥3	≥3	≥3	≥3	≥4
Concentração SPTZ/mL	~350x10 ⁶	~2x10 ⁶	2-5x10 ⁹	1-3x10 ⁹	~100 – 200x10 ⁶	200 – 400x10 ⁶	20x10 ⁶ a 300x10 ⁶	13 x10 ⁶ a 153 x10 ⁶
N° total de SPTZ/ejaculado	3-5x10 ⁹	~1x10 ⁹	3-5x10 ⁹	3-5x10 ⁹	~5x10 ⁹	60x10 ⁹		
SPTZ normais (%)	≥70	≥70	≥80%	≥80	≥70	≥70	≥70	≥70
Gotas proximais (%)	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

SG= *sui generis*; NA= não se aplica; ~= aproximadamente; SPTZ= espermatozoides (Manual de Andrologia do CBRA).

4. EXAMES SEMINAIS COMPLEMENTARES

Poderíamos citar como método complementar já estabelecido há mais tempo, a avaliação do pH seminal, a avaliação usando colorações específicas de outros tipos celulares presentes no ejaculado, como leucócitos, células da linha espermatogênica, entre outros. A alteração do pH pode estar associada a problemas inflamatórios ou contaminação por urina.

Além destes exames existem inúmeros testes usando fluorocromos para avaliar a integridade das membranas espermáticas, a condensação do DNA, a atividade das mitocôndrias, dentre outros testes. Estes exames requerem uma estrutura laboratorial mais complexa. Se você estiver atuando no campo e os exames convencionais de

avaliação não indicarem a etiologia do processo de sub ou infertilidade de um reprodutor, pode ser indicado recorrer a um laboratório devidamente equipado e capacitado para complementar as avaliações.

É indicado você consultar o Manual de Andrologia, editado pelo *Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA* todas as vezes que precisar.

www.cbra.org.br

5. AVALIAÇÃO DE DOSES DE SÊMEN

Muitas vezes a expertise poderá ser solicitada para analisar doses de sêmen utilizadas para inseminação artificial com sêmen resfriado ou sêmen congelado. Nas duas possibilidades o foco deverá ser a identificação do número de espermatozoides viáveis por dose. A palavra viável poderia ser entendida por espermatozoides móveis e morfolologicamente normais. Saber o número exato de espermatozoides móveis morfolologicamente normais não é uma tarefa fácil de executar até a presente data. Teríamos que poder separar somente os espermatozoides móveis e fazer a morfologia espermática somente neste grupo. Portanto, com a avaliação convencional podemos, no máximo, tentar chegar o mais próximo possível deste resultado.

Para isto, vamos ter que avaliar a motilidade, a concentração espermática e fazer a avaliação da morfologia espermática.

Para avaliar a motilidade, o sêmen resfriado ou congelado deverá ser reaquecido a 37° C e o restante do procedimento é igual ao anteriormente descrito. Não haverá avaliação do movimento de massa. Para alcançar uma maior precisão é indicado, após o descongelamento, deixar a amostra aquecida a 37° C por pelo menos três minutos antes de avaliar a motilidade. A avaliação imediata poderá resultar em uma percentagem um pouco menor de espermatozoides móveis. É necessário ter a atenção redobrada quando foram utilizados meios diluidores com gema de ovo. Os grumos da gema podem dificultar a avaliação subjetiva da motilidade como é um complicador quando se analisa por meio de sistema computadorizado. Os grumos maiores de gema podem ser confundidos com espermatozoides imóveis nos sistemas computadorizados.

Atenção: Para ver as características desejáveis de uma amostra de sêmen submetida ao processo de congelamento ou resfriamento, dirigir-se à tabela 2, no final do capítulo.

A avaliação da concentração espermática segue o mesmo procedimento descrito anteriormente. Na avaliação de dose seminal devemos lembrar que, para o processamento do resfriamento ou congelamento, os espermatozoides foram diluídos em um extensor, portanto, a diluição necessária para contagem em câmara de Neubauer deverá ser bem menor do que quando o ejaculado é completo, a diluição de 1:10 já poderá ser suficiente. É bom lembrar que o cálculo da concentração nos levará ao número de espermatozoides por mL. Se for sêmen congelado, a dose poderá ter sido envasada em palheta de 0,25 mL, consequentemente, o número total de espermatozoides na dose será $\frac{1}{4}$ da concentração

encontrada em um mL. Portanto, o volume da dose tem que ser considerado.

A morfologia espermática deve ser avaliada como descrito anteriormente.

Como os resultados em mãos é só fazer o cálculo para se estimar o número de espermatozoides viáveis. Para tanto, poderíamos multiplicar o número total de espermatozoides por dose pela percentagem de móveis, o que nos levaria a quantidade de espermatozoides móveis por dose. Agora começa o nosso problema: elimino ou não a quantidade de espermatozoides anormais do valor encontrado para o número de móveis? Se retirarmos o total de espermatozoides anormais do total de móveis poderemos estar penalizando a amostra. Quem afirmaria que todas as anormalidades estão nos espermatozoides móveis? Isto é pouco provável... Por outro lado, dizer que as anormalidades somente se encontram nos espermatozoides imóveis seria temerário. Já vimos anteriormente que espermatozoides com certos defeitos de cabeça podem ter boa motilidade. O que fazer então? Vem aí uma sugestão!

Para nos aproximarmos do valor real de espermatozoides viáveis poderíamos considerar a retirada somente dos espermatozoides com anormalidades de cabeça e, eventualmente, gotas proximais, considerando que as anormalidades de peça intermediária e peça principal podem ter sido mais frequentes em espermatozoides imóveis... É uma linha de raciocínio. Se desejarmos ter toda segurança, podemos retirar do número de espermatozoides móveis a percentagem total de espermatozoides anormais. Com certeza estaremos subestimando o número de espermatozoides móveis e morfologicamente normais. Fazendo desta forma, caso o número de espermatozoides encontrado esteja acima do número mínimo necessário para obter boa fertilidade, estaremos tranquilos. A dificuldade sempre será quando isto não acontecer. É sempre bom lembrar que um reprodutor pode necessitar, por exemplo, de um número mínimo de 10 milhões de espermatozoides por dose, enquanto outro tem a mesma fertilidade com 7 milhões ou, outro reprodutor, pode precisar até de 14 milhões por dose. Você pode observar que o nosso parecer não será facilmente estabelecido. Deveremos usar o bom senso para nos posicionarmos. Infelizmente, biologia não é matemática. Levar em conta o tipo de anormalidades encontradas ajudará na interpretação.

Em caso de litígio, como a legislação atual não define mais o número mínimo necessário de espermatozoides por dose, podemos solicitar junto à Central que congelou o sêmen, qual o padrão foi utilizado para comercializá-lo, e verificar se este padrão foi atingido na dose avaliada. Você também tem que conhecer o número de espermatozoides normais com motilidade progressiva que é recomendado por dose para a espécie. Não se esqueça da variabilidade individual e analise se a dose que está sendo avaliada apresenta características próximas às desejadas.

TABELA 2. CARACTERÍSTICAS DESEJÁVEIS DE UMA AMOSTRA DE SÊMEN SUBMETIDA AO PROCESSO DE CONGELAMENTO OU RESFRIAMENTO

Características / dose	Bovinos	Búfalos	Caprinos	Ovinos	Equinos	Suínos	Caninos
SÊMEN CONGELADO							
Motilidade espermática (%)	≥30	≥30	≥30	≥30	≥30	≥30	≥30
Vigor	≥3	≥2	≥2	≥3	≥3	≥3	≥3
Dose inseminante (sptz viáveis)							
Via transcervical convencional	~10x10 ⁶	≥10x10 ⁶	40x10 ⁶	150 a 200x10 ⁶	400x10 ⁶	3x10 ⁹	NA
Via laparoscópica	NA	NA	NA	40x10 ⁶	NA	NA	30-50x10 ⁶
Espermatozoides normais (%)	≥ 70	≥70	≥80	≥80	≥ 60	Acros ≤50 Gota Prox ≤10	≥70
Defeitos maiores (%)	≤ 10	≤10	≤ 10	≤10	≤ 10	≤ 10	≤ 10
SÊMEN RESFRIADO							
Motilidade espermática (%)			≥ 60	≥ 60	≥50	≥50	≥ 50
Vigor			≥ 3	≥ 3	≥3	≥3	≥ 3
Dose inseminante convencional (sptz viáveis)			150x10 ⁶	150x10 ⁶	200–500 x10 ⁶	2,5x10 ⁹	150x10 ⁶
Volume da dose (mL)			0,025 - 0,05	0,025 - 0,05	10-30	80-100	0,5-4,0
Espermatozoides normais (%)			≥ 80	≥80	≥60	≥80	≥70
Defeitos maiores (%)			≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 10

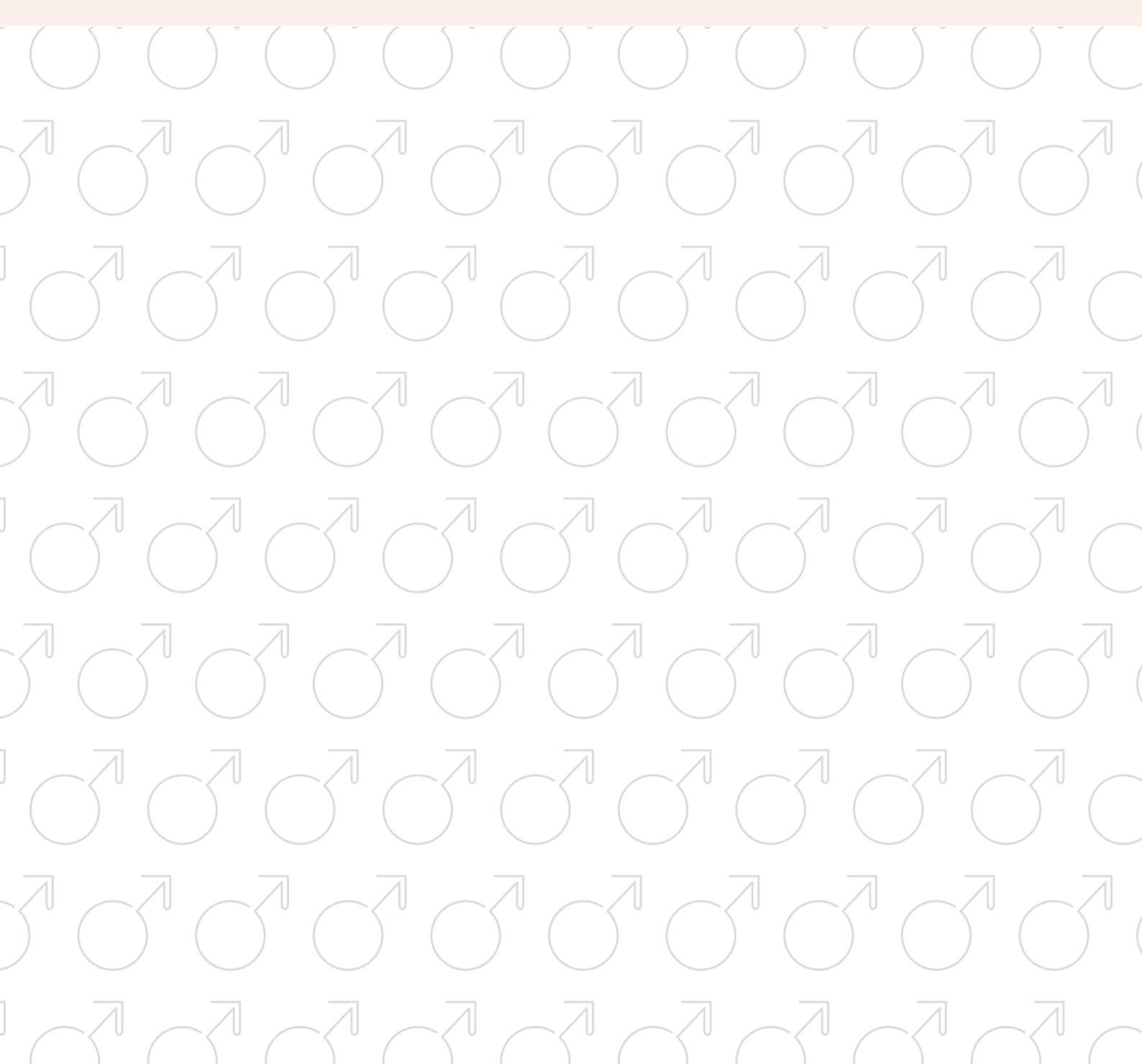
Acros= defeito de acrossoma; Gota prox.= gota proximal; sptz= espermatozoide. (Manual de Andrologia do CBRA).

6. CONCLUSÕES

A avaliação seminal pelos métodos descritos no presente capítulo não permite detectar todas as anormalidades que podem ocorrer nos espermatozoides e, como foi adiantado no capítulo de “Seleção de Reprodutores”, não pode prever a fertilidade real de um reprodutor. No entanto, realizando o exame de forma criteriosa e considerando todas as variáveis no ato da interpretação, a metodologia proposta neste capítulo permitirá diagnosticar a grande maioria dos problemas relacionados à baixa qualidade espermática. Para alguns casos poderá ser necessário recorrer a exames mais detalhados para melhor inferir a viabilidade da célula espermática.

7. RESUMO

- Para interpretar adequadamente a qualidade de uma amostra seminal é importante que esta seja o mais parecido possível a um ejaculado que o reprodutor depositaria no sistema genital feminino no ato da cópula.
- Para se obter um ejaculado apto para a avaliação seminal é indicado equilibrar as reservas extragonadaais antes de fazer o exame propriamente dito.
- Os métodos de coleta de sêmen mais utilizados são: vagina artificial, eletroejaculação, massagem das ampolas dos ductos deferentes associada à estimulação da uretra pélvica e método da mão enluvada em suínos e cães.
- A avaliação macroscópica do sêmen consiste da avaliação do volume, aspecto, cor e odor.
- Na avaliação microscópica do sêmen serão avaliados: o movimento de massa (nas espécies em que se aplica), a motilidade individual, o vigor, a concentração e a morfologia espermática.
- Poderá ser necessário repetir os exames antes de emitir um laudo definitivo sobre os achados espermáticos.



Comportamento Sexual do Macho

Autores: Luiza Fernandes Mendonça Kling

Custódio Antônio Carvalho Júnior

Marc Henry

11

META DO CAPÍTULO

Fornecer subsídios para a avaliação do comportamento sexual de reprodutores.

Demonstrar que a análise do comportamento sexual, particularmente da libido e capacidade de monta, é parte integrante da avaliação do potencial reprodutivo de machos.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este capítulo você seja capaz de:

- Conhecer as particularidades do comportamento sexual de reprodutores das principais espécies de animais domésticos.
- Propor algumas formas de avaliar e classificar a libido.

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de aumentar a produção de alimentos para atender às demandas da espécie humana obrigou o homem a aumentar a produtividade dos animais que foram sendo domesticados. Para atingir esta meta têm sido utilizados manejos que alteram o equilíbrio e a seleção natural das espécies, chegando-se a utilizar técnicas de reprodução assistida. No entanto, qualquer que seja a evolução das estratégias de multiplicação das espécies impostas pelo homem continuará sendo necessário que os reprodutores mantenham tanto a sua capacidade de produzir gametas férteis, quanto o desejo e a capacidade de executar a cópula.

Adicionalmente, se pensarmos que em países onde a extensão territorial é considerável, a monta natural, em sistemas de criação extensivos, continuará sendo uma técnica de expansão de rebanhos economicamente viável.

Portanto, qualquer que seja a vertente desejada, escolher reprodutores com boa libido e capacidade de monta é uma estratégia que não pode ser abandonada. Para tal, propomos, neste capítulo, estudar alguns aspectos do comportamento reprodutivo e do cortejo sexual de algumas espécies de animais domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos, cães e gatos), com o intuito de fornecer subsídios para seleção de reprodutores.

VOCÊ SABIA?

O comportamento sexual (libido e capacidade de monta) é uma característica geneticamente transmissível. Portanto, a identificação e a seleção de machos com alto desempenho sexual são essenciais para o melhoramento genético e para a potencialização da produção animal. A título de exemplo, nos ovinos estima-se que a herdabilidade é de 0,22 a 0,33 para desempenho sexual.

2. LIBIDO E INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

Como você já sabe, a inseminação artificial (IA) vem sendo utilizada cada vez mais em várias espécies, com o objetivo de acelerar o ganho genético. A coleta de sêmen é uma etapa essencial neste processo. Você consegue imaginar qual a importância da libido dos reprodutores nas centrais de congelamento de sêmen?

Basta pensarmos que os machos que apresentam boa disposição e avidez para realizar a cópula facilitarão o processo de coleta do sêmen pelo método da vagina artificial. Além disto, é bom lembrar que muitas vezes estes animais precisam realizar a ejaculação na ausência de uma fêmea em estro. Adicionalmente, muitos dos machos nascidos de inseminação artificial acabarão sendo reprodutores que atuarão sob regime de monta natural.

Apesar de sua importância, os estudos focando a libido dos reprodutores têm recebido pouca atenção. Atualmente, existe ampla aceitação que a avaliação andrológica faça parte dos critérios de seleção, porém, ainda é deficiente a inclusão da avaliação da libido e da capacidade de monta no processo de avaliação andrológica.

3. COMPORTAMENTO SEXUAL

Você sabe o que é o comportamento sexual? O comportamento sexual é um componente obrigatório do processo reprodutivo! Pode ser classificado como a mais forte necessidade instintiva de todo o reino animal, podendo sobrepor várias outras necessidades fisiológicas como, por exemplo, a insaciabilidade alimentar momentânea e o descanso.

No macho, o comportamento sexual está associado ao desejo de detectar uma fêmea receptiva (libido) e a capacidade de executar a cópula. O objetivo é perpetuar as espécies promovendo a oportunidade de ocorrer a cópula entre o macho e a fêmea e, assim, prover a oportunidade do espermatozoide encontrar e fertilizar o óvulo. Por definição, a capacidade de monta é o número de montas que o macho é capaz de realizar, num determinado espaço de tempo.

3.1 E A LIBIDO, O QUE É?

Antes de qualquer coisa, devemos pensar na libido como uma das formas de manifestação do comportamento sexual dos animais.



A libido é caracterizada como o desejo do macho de realizar a cópula. Você sabia que o termo “libido” foi inicialmente utilizado por Freud, um importante estudioso do comportamento humano? Este termo foi então, transferido dos trabalhos da psicologia para a veterinária. Apesar de Freud ter considerado o termo aplicável tanto às fêmeas quanto aos machos, na literatura animal este termo é usado somente para os machos.

A manifestação da libido é influenciada por fatores relacionados ao próprio animal (fatores genéticos) e pelo ambiente em que ele vive (fatores ambientais). A libido pode ser considerada uma característica importante na determinação da fertilidade do macho, junto com a qualidade do sêmen e a capacidade de executar a cópula. Não há, porém, correlação entre a libido e a qualidade seminal, podendo um reprodutor de baixa libido ter bom sêmen e vice-versa.

Você consegue imaginar quais os fatores que exercem maior influência na expressão da libido?

Dentre todas as condições capazes de alterar a sua manifestação, o estado nutricional e a idade são considerados de maior importância. O estado de deficiência nutricional crônica interfere com a libido, já que a manutenção do próprio organismo (sobrevivência) passa em primeiro lugar. Em geral, animais jovens detectam menos fêmeas em estro e necessitam de maior quantidade de montas para conseguir realizar a cópula. Fica fácil entendermos que os efeitos da idade e da experiência sexual são dificilmente dissociáveis visto que com a idade ocorre naturalmente um aumento gradativo da experiência sexual.

Somente os animais adultos expressam a libido?

Não! Esta habilidade começa a ser intensificada próximo à puberdade e continua até a maturidade sexual. Alguns sinais de interesse sexual podem se manifestar na infância, no entanto, falta determinar o quanto estas manifestações nesta idade expressam o potencial na idade adulta. Atingida a maturidade sexual, em condições de normalidade, a libido é mantida até a senilidade, dependendo basicamente da produção de testosterona.



Fonte: <http://senepolsantaluzia.com.br/senepol/vantagens-producao-de-carne/>

4. AVALIANDO A LIBIDO E A CAPACIDADE DE MONTA

No Brasil, o regime de monta natural é predominante na maioria das espécies voltadas para produção de alimento. Assim, é imprescindível a identificação dos machos com maior interesse sexual e melhor desempenho reprodutivo.

Por que realizar os testes de libido ou capacidade de monta?

O intuito é detectar reprodutores que consigam cobrir um maior número de fêmeas diferentes em um menor intervalo de tempo. Com isto pode-se aumentar a relação de fêmeas por macho, favorecendo a pressão de seleção e a redução de custos de produção.

Sendo assim, é fundamental a necessidade da avaliação conjunta das características dos órgãos do aparelho reprodutivo, características seminais e do comportamento sexual.

Apesar da importância de conhecermos a libido dos reprodutores, precisamos estar cientes de que a sua avaliação e, particularmente sua mensuração, são extremamente complicadas de serem realizadas. Os testes de avaliação de libido são mais frequentemente utilizados para os bovinos e ovinos de corte pela necessidade destes realizarem a monta a campo em sistemas de criação extensiva, geralmente sob desafio de um grande número de fêmeas.

Você provavelmente já deve ter visto várias formas diferentes de avaliar a libido de animais da mesma espécie. Isto acontece porque ainda hoje não existe um padrão estabelecido para a sua avaliação. Já foram realizados experimentos com os animais livres (a campo) e em locais restritos (piquetes); com apenas uma ou várias fêmeas presentes, estando fora do estro ou em estro (induzido ou natural), contidas ou livres, e testes com duração de apenas alguns minutos ou até mais de uma hora. As respostas comportamentais dos machos são, então, anotadas para serem utilizadas na classificação da libido.

Ao utilizarmos testes para avaliação da libido devemos levar em consideração as particularidades de cada espécie. Por exemplo: animais que possuem o pênis fibroelástico apresentam poucos comportamentos preliminares durante o cortejo sexual, antes da monta e intromissão do pênis. Nas espécies que precisam ser estimuladas para ocorrer a ereção do pênis (como por exemplo os equinos), a habilidade de se obter a ereção deve ser incluída como um dos componentes da avaliação da libido. Nestes machos a cópula só será possível se forem capazes de manter a ereção total.

5. O CORTEJO SEXUAL NAS DIFERENTES ESPÉCIES DOMÉSTICAS

É interessante registrar que o cortejo sexual não segue os mesmos rituais entre espécies e isto também é válido para aquelas que foram domesticadas. Portanto, para podermos avaliar com mais exatidão as diferenças de libido entre indivíduos de uma espécie, é necessário conhecermos os padrões de cortejo sexual inerentes a cada uma. Devemos, antes de tudo, saber o que avaliar e classificar. Nos próximos segmentos vamos discorrer um pouco sobre as particularidades do comportamento sexual de algumas espécies.

5.1 BOVINOS

Antes de entrarmos no comportamento sexual dos bovinos é bom conhecermos um

pouco dos aspectos básicos do comportamento social desta espécie e que têm influência direta no comportamento sexual.

Os bovinos são animais gregários. Apesar do fato de viverem em grupo proporcionar uma série de vantagens para os indivíduos, também resulta em competição por recursos, principalmente quando escassos. Um aspecto importante está relacionado com o uso do espaço pelos animais. Os animais não se distribuem ao acaso no ambiente. Esta distribuição está relacionada às estruturas físicas e biológicas do ambiente e ao comportamento social. De maneira geral, estes espaços apresentam dimensões variáveis dependendo da disponibilidade de recursos, clima e presença de predadores, entre outros.

Quando o animal defende a área surge o que é denominado de território, que pode ser múltiplo, quando corresponde a toda área, ou específico, por exemplo, o local de descanso. Os bovinos são caracterizados pelo compartilhamento das áreas onde vivem, não sendo animais essencialmente territoriais. Existe apenas um tipo de área que é defendida pelos bovinos, mas não é considerado um território, o espaço individual que é representado pela área onde o animal se encontra, portanto não é fixo, muda de acordo com o seu deslocamento.

Os comportamentos sociais para definição de espaços não são suficientes para minimizarem a agressividade entre os animais no momento de disputa por algum recurso. Existe ainda outro mecanismo de controle social que resulta na definição da liderança e da hierarquia de dominância.

A dominância é estabelecida nos grupos pela competição (interação agressiva) por um determinado recurso. O dominante é o indivíduo ou indivíduos do grupo que ocupam as posições mais altas na hierarquia. Os fatores que normalmente determinam a posição na hierarquia são o peso, a idade e a raça. O tempo de estabelecimento da hierarquia num lote recém-formado depende do número de animais e do sistema de criação e é rapidamente estabelecido em agrupamentos novos.

Um fato peculiar é observado na relação dominante e submisso relatado no comportamento sexual dos bovinos e no comportamento de cortejo, tanto sob alta, como baixa incidência de vacas em cio. Os touros subordinados iniciam o cortejo e acompanham a fêmea em cio por um tempo, mas com a aproximação do dominante eles se afastam e o dominante assume o espaço. A resultante deste tipo de interação sugere que o touro dominante pode estar aproveitando o subordinado para a identificação de vacas em cio localizadas em espaço mais afastado daquele que ele naturalmente controla. As fêmeas também parecem exercer um papel restritivo ao acesso do macho, em certas situações elas demonstram preferência pelo touro dominante. As fêmeas são bastante ativas e quando em estro, elas se deslocam com mais frequência, montam umas sobre as outras e formam um grupo sexualmente ativo. Este grupo pode ser facilmente observado a distância e deve constituir uma forma das fêmeas em cio atraírem a atenção dos machos. A monta de fêmeas sobre a garupa do macho pode também ocorrer.

Outro aspecto do comportamento social dos bovinos que deve ser diferenciado da dominância é a liderança. A liderança de um animal resulta na atividade sincronizada do rebanho bovino, há sempre um animal que inicia as atividades como, por exemplo, o deslocamento ou mudanças de atividade. Quando este animal é seguido pelos outros ele

INTERESSANTE!

Touros subordinados com boa libido vão cobrir fêmeas, eles aproveitarão um descuido do dominante ou quando o mesmo estiver mais afastado. Além disto, o tamanho da pastagem influenciará, quanto maior a pastagem menor será a interferência do efeito da dominância.

A eficiência dos subordinados dependerá de sua libido e do grau de disponibilidade momentâneo de fêmeas em cio. O efeito da dominância se expressa mais quando o grau de competição por fêmea é maior (poucas ou apenas uma fêmea em cio no lote).

é o líder. Geralmente, vacas mais velhas lideram o rebanho, porém este animal não está necessariamente no topo da ordem de dominância.

5.1.1 FATORES QUE INFLUENCIAM A LIBIDO DOS TOUROS

Vários fatores podem influenciar na manifestação sexual dos touros e estes fatores podem atuar inibindo ou estimulando a demonstração da libido. Fatores raciais exercem influência sobre a expressão da libido. Touros de raças leiteiras têm expressado maior libido quando comparado aos touros de raças de corte, também touros mestiços (*Bos taurus* x *Bos indicus*) geralmente expressam maior libido que os touros de raça pura.

Tem sido aventado que touros de raças europeias teriam melhor libido do que touros de raças zebuínas. No entanto, a realidade é que touros zebuínos apresentam menor taxa de serviço por fêmea em estro e menor número de tentativas de monta, mas, de fato, as taxas de prenhes a campo, em condições de criação extensiva, não tem sido diferentes das encontradas para touros de origem europeia. As diferenças observadas no comportamento entre os touros de raças europeias e os touros de raças zebuínas provavelmente são oriundas de fatores adaptativos a ambientes mais quentes (tropical a equatorial) onde os zebuínos são predominantemente criados. Por outro lado, touros de raças de origem europeia sofrem maior impacto em ambientes com temperaturas e umidades elevadas, reduzindo a eficiência reprodutiva.

5.1.2 COMPORTAMENTO SEXUAL DO TOURO

O cortejo sexual é melhor evidenciado a campo, e é um período prolongado de interação, onde por aproximadamente dois dias antes do cio propriamente dito, no período de proestro, o touro permanece próximo à fêmea em um comportamento de guarda. Durante este período, ele faz uso da olfação de partes do corpo e urina da vaca, procurando detectar feromônios, realiza reflexos ou tentativas de monta, com ou sem ereção e protrusão parcial do pênis, procurando detectar o estado de imobilidade que caracteriza o estro. Para este fim, alguns touros chegam a pressionar com o queixo a região posterior da vaca; as fêmeas respondem à pressão do queixo ficando paradas, em estação, aguardando a cópula, quando estão no cio, ou se afastam quando não estão no cio. Após este teste ou mesmo sem fazê-lo, o touro pode realizar vários reflexos de monta e tentativas de montas, para testar o estado de imobilidade e então, culminar com a cópula.

Certos comportamentos como cheirar e lamber a genitália da fêmea e o reflexo de Flehmen são realizados continuamente, porém, a intensidade e a frequência da expressão destes aumentam quando as fêmeas estão em estro. Existem diferenças quanto

à utilização dos sentidos para a detecção da fêmea em cio. Para touros de raças europeias, o simples fato de a fêmea permanecer parada em estação já é suficiente para que ele efetue a monta. Os touros zebuínos, antes de chegarem à cópula executam o cortejo sexual de forma mais completa. Portanto, a visão parece ser mais importante para touros de raças europeias, enquanto os zebuínos acionam com intensidade similar os sentidos da visão e a olfação no intuito de detectar feromônios específicos do período de receptividade sexual.

O reflexo de Flehmen (Figura 1) se caracteriza pelo posicionamento do corpo ereto em estação, extensão e elevação da cabeça e pescoço, com suave abertura labial e exposição do palato superior, relaxamento da mandíbula com protrusão do lábio inferior, exposição da gengiva e enrugamento e fechamento total ou parcial das narinas.

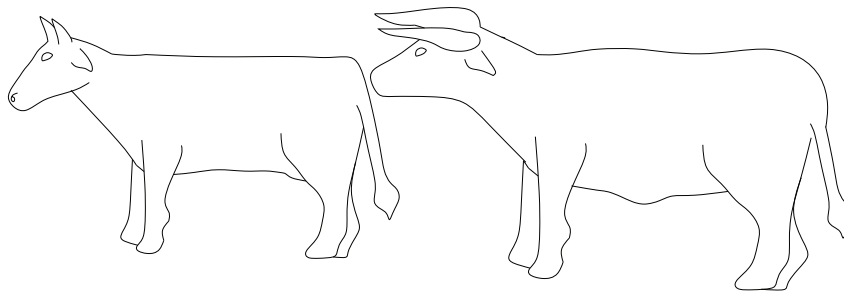
VOCÊ SABIA?

Os feromônios são substâncias voláteis liberadas na urina, fezes ou secretadas pelas glândulas cutâneas. Estas substâncias captadas pelo macho agem como sinalizadores químicos do status endócrino das fêmeas. Esta sinalização ocorre quando os feromônios são captados no ato de cheirar e conduzidos ao órgão vomeronasal pelo reflexo de Flehmen.

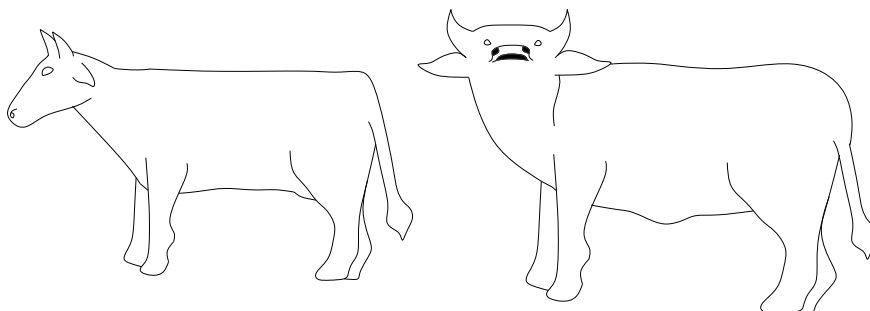


Figura 1. Reflexo de Flehmen. [Fonte: <http://www.simbiotica.org/zebradegrevy.htm>]

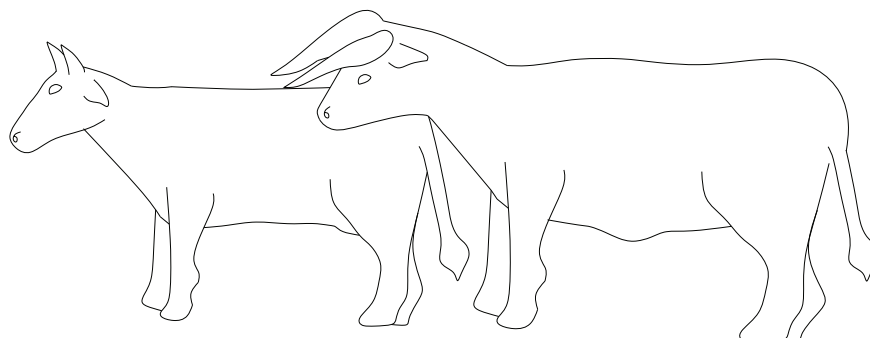
O reflexo de Flehmen tem a finalidade de transferir compostos de baixa volatilidade ou não voláteis da urina da fêmea para receptores do órgão vomeronasal, desencadeando uma variedade de respostas neuroendócrinas no macho e que vão permitir identificar o estado de receptividade da fêmea. A sequência de comportamentos de cópula está representada na Figura 2.



ATO DE CHEIRAR



REFLEXO DE FLEHMEN



TESTE DE IMOBILIDADE

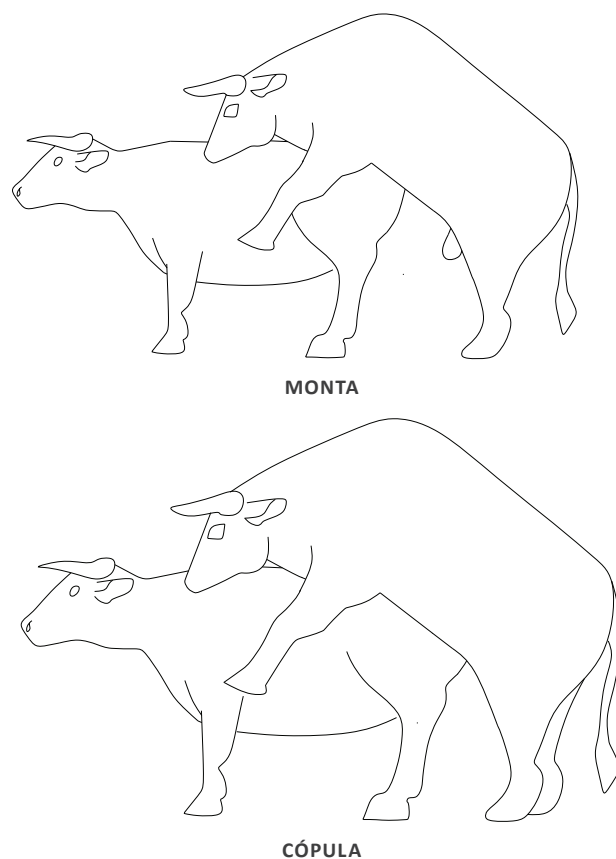


Figura 2. Sequência do comportamento sexual de touros. [Ilustrado por Ana Maria Loaiza Echeverri]

5.1.3 TESTES DE COMPORTAMENTO SEXUAL EM BOVINOS

O primeiro teste de libido para bovinos foi desenvolvido em 1959 por Hultñas, em animais mantidos em centrais de inseminação artificial. Os animais eram submetidos a três coletas de sêmen (método da vagina artificial) consecutivas em um período de 10 minutos usando como manequim uma fêmea contida fora do estro. O sistema de pontuação seguia a seguinte metodologia: ausência de interesse pela fêmea (zero); pouco interesse em montar e cheirar vulva e intenções esporádicas de realizar a monta completa (1); monta completa após repetidas tentativas (2); montas rápidas, mostrando pouco desejo aparente, mas com satisfatória procura (3); monta rápida com atenção concentrada na fêmea (4); desejo de montar, aproximação da fêmea com interesse (5); desejo e procura intensos para montar a fêmea (6).

Em 1971, os primeiros conceitos de libido foram utilizados para a avaliação de touros. Nesta avaliação, Osborne e colaboradores (1971), levaram em consideração a intensidade com que o touro abordava a fêmea até a cópula. A partir de então, foram incluídos os comportamentos relacionados à corte. O teste era feito em curral com duas fêmeas em estro, livres. Os comportamentos eram observados durante cinco minutos e a classificação dos animais seguia o seguinte critério: nenhum interesse pela fêmea (0); algum interesse, mas sem realizar a monta completa (1); monta ou tentativa de monta por uma vez (2); monta ou tentativa de monta por mais de uma vez, mas sem realizar a cópula (3); realização de cópula (4).

Na década de 80, Chenoweth (1981) incorporou sobre o teste de Osborne algumas

modificações. Cada animal era avaliado individualmente em curral de 13 x 15 m, durante 10 minutos, incluindo na avaliação mais parâmetros. A classificação passou a se basear nos seguintes parâmetros: sem interesse sexual (0); somente uma vez (cheirar região perineal) (1); positivo interesse pela fêmea, em mais de uma ocasião (2); ativa perseguição da fêmea, com persistente interesse sexual (3); uma monta ou tentativa de monta, mas nenhuma cópula (4); duas montas ou tentativas de monta, mas nenhuma cópula (5); mais de duas montas ou tentativas de monta, mas nenhuma cópula (6); uma cópula seguida de nenhum interesse sexual (7); uma cópula seguida de interesse sexual (8); duas cópulas seguidas de nenhum interesse sexual (9); duas cópulas seguidas por interesse sexual (montas ou tentativas de monta ou serviços)(10).

Maistarde foi idealizado o teste de capacidade de serviço (cópula). Este se baseia no número de cópulas que um touro é capaz de realizar durante 40 minutos após estimulação sexual prévia durante 10 minutos (observação de outros touros cobrindo). O teste é realizado usando fêmeas fora do cio contidas em tronco. A capacidade de monta foi classificada como alta, média ou baixa respectivamente, quando quatro ou mais serviços completos; dois ou três serviços completos; um ou nenhum serviço completo eram realizados no período estabelecido.

Em rebanhos com melhor libido foram usados para este mesmo teste os parâmetros de 7 ou mais cópulas, 3 a 6 cópulas ou menos de duas cópulas para classificação, respectivamente, de touros com alta, média ou baixa capacidade de monta.

Você conheceu um pouco de como os testes de avaliação do comportamento sexual foram sendo desenvolvidos na espécie bovina, particularmente para as raças de origem europeia. Baseando-se nestes modelos foram idealizados testes para os zebuínos. O foco das mudanças foi adaptar um modelo que pudesse acomodar em sistema de avaliação em área restrita, a índole e o comportamento desta sub-espécie. Ainda não existe um teste padrão para os zebuínos, mas as modificações incorporadas consistiram no ajuste da escala de pontuação em função da expressão dos comportamentos e na procura do ajuste no tempo de observação.

Um dos modelos propostos para zebuínos é a avaliação simultânea de cinco touros por 10 minutos em curral na presença de quatro vacas, duas em cio, sendo uma delas contida. A pontuação dada segue o seguinte esquema: Sem interesse sexual (0); Identificação da fêmea em cio (por olfação) (1); Olfação e perseguição insistente (2); Tentativa de monta sem salto, com mugido, deslocamento ou masturbação (3); Tentativa de monta sem salto com pênis exposto (4); Tentativa de monta com salto sem pênis exposto (5); Duas ou mais tentativas de monta com salto sem pênis exposto (6); Tentativa de monta com salto e pênis exposto (7); Duas ou mais tentativas de monta com salto e pênis exposto (8); cópula (9); Duas ou mais montas com cópula (10).

O outro modelo prevê a colocação de 20 vacas em curral induzindo o cio em três vacas, avaliando a conduta de cada touro por cinco minutos e classificando-os como de alta (exibição de cópula ou monta abortada com perseguição das fêmeas); média (realização de reflexo de monta, tentativa de monta ou monta abortada); e baixa libido (realização de reflexo de Flehmen ou perseguição ativa de fêmea).

Outro modelo proposto é colocar 30 vacas em piquete de aproximadamente quatro hectares, induzindo o cio em um primeiro momento na metade delas e, na sequência, nas outras. Neste procedimento avalia-se sequencialmente grupos de 10 touros (devidamente identificados) por pelo menos 40 minutos, deixando os touros sem qualquer interferência

durante a metade do tempo e na outra metade do período, os observadores a cavalo agrupam todo lote em uma área mais restrita do piquete (rodeio). A classificação é feita baseando-se nos comportamentos de interesse pela fêmea e na realização de comportamentos pré-copulatórios e copulatórios. A classificação dada é de alta, média e baixa libido.

Outras alternativas são propostas por vários técnicos, o importante quando pretende-se classificar o comportamento sexual de zebuínos é procurar avaliar os touros em ambiente que propicie menor interferência do homem, por isto a realização de teste em piquetes pode ser indicado. É interessante classificar os touros fazendo uma comparação entre contemporâneos, criados e submetidos a um mesmo manejo. Os testes são eficientes para classificar os de baixa libido, mas deve haver cuidado especial ao ranquear os animais de maior libido, pois a demonstração de potencial de cobrição em um tempo restrito pode não corresponder fidedignamente ao potencial durante toda uma estação de monta.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

5.2 CAPRINOS

Os machos caprinos são animais muito precoces! Aos quatro meses de idade podem atingir a puberdade e alcançar a plena capacidade de se reproduzirem com apenas seis a sete meses. A partir de dois anos de idade, o macho já é considerado adulto e atinge o peso ideal, assim como o desenvolvimento corporal e a produção espermática plena inerente à sua genética. A vida útil de um reprodutor gira em torno de sete a oito anos de idade, apresentando a partir de então, uma diminuição no seu potencial reprodutivo, assim como de sua libido.

5.2.1 FATORES QUE INFLUENCIAM O COMPORTAMENTO SEXUAL DE CAPRINOS

Os pequenos ruminantes são conhecidos como animais estacionais de dias curtos ou noites longas, tornando-se sexualmente ativos quando ocorre a diminuição da duração do fotoperíodo (final de verão, início de inverno). Esta característica é importante, pois limita a produtividade dos pequenos ruminantes, principalmente em regiões de clima temperado, onde as variações no número de horas de luz por dia ao longo do ano são mais evidentes. Já em regiões tropicais, onde o fotoperíodo varia muito pouco, não é evidenciada uma forte sazonalidade reprodutiva, e não existe variação substancial no interesse sexual ao longo do ano. Por isso, nestas regiões, o momento da reprodução pode ser mais influenciado pelo manejo nutricional. A nutrição e o clima podem interagir com os fatores endócrinos modificando a manifestação do comportamento sexual dos bodes.

Outro fator importante que pode interferir na manifestação do comportamento sexual nos caprinos são os eventos sociais. Em rebanhos que apresentam mais de um reprodutor, o macho mais velho e dominante impede os mais novos de realizarem a cópula. Um movimento de cabeça sugestivo de ameaça ou mesmo a realização de alguns passos em direção aos machos jovens podem ser suficientes para inibir o subordinado.

Outro fator que pode vir a interferir na manifestação do comportamento sexual na fase adulta é a redução no contato social (com outros indivíduos da mesma espécie) durante os períodos juvenis do desenvolvimento. Caprinos jovens interagem tanto com machos como com fêmeas, montando indiscriminadamente sem ereção do pênis ambos os sexos,

cheirando a vulva das fêmeas ou o prepúcio dos machos. Com o avançar da idade e a evolução da sexualidade, os cabritos aprendem a distinguir fêmeas e machos e passam a praticar a masturbação. Quando atingem a puberdade (quando ocorre o desbridamento do pênis, ou seja, o rompimento do frênulo peniano), já são capazes de realizarem o cortejo característico do macho adulto, a ereção e a cópula. Neste contexto pode-se inferir a importância da experiência prévia para o desenvolvimento reprodutivo masculino característico da espécie.

Em caprinos ocorre um fenômeno denominado “impressão” ou “estampagem” (este termo vem do inglês “imprinting”). A estampagem é irreversível e não se trata de instinto, mas sim de um tipo de aprendizagem a que o animal está susceptível durante a fase inicial de sua vida. Nestes animais a estampagem sexual da infância refletirá na escolha de um parceiro na fase adulta. Cordeiros e cabritos criados juntos (um carneiro em rebanho de bodes ou um bode em rebanho de carneiros), sem contato com animais de sua própria espécie, manifestarão “estampagem” recíproca após a maturidade sexual por meio da preferência do bode por ovelhas e do carneiro por cabras. Em associação à estampagem, é possível nesta espécie o desenvolvimento de comportamento homossexual.

Os principais comportamentos realizados durante o cortejo sexual até a realização da cópula em machos caprinos são: cheirar a região urogenital da fêmea; reflexo de Flehmen; golpear o solo com o membro anterior (cotoveladas); expor a língua várias vezes; emitir sons em tons graves; expor o pênis; urinar sobre si mesmo; realizar montas sem ereção culminando com a cobrição, com a introdução do pênis seguida do galeio com ejaculação rápida (Figura 3). Após a cópula existe um período para recuperação denominado de período refratário.

5.3 OVINOS

O interesse sexual e a realização de cópula com ejaculação de espermatozoides viáveis ocorre dos 4 aos 6 meses de idade, com peso vivo correspondente a 40 até 60% do peso adulto. Outros fatores, como época de nascimento devida ao fato desta espécie também ser sazonal como nos caprinos (mais em regiões temperadas do que tropicais) e a genética, também exercem influência sobre a idade da puberdade.

Fatores externos como nutrição ou clima podem alterar os estímulos endócrinos resultando em mudança da libido. Fatores sociais, como em caprinos, também são importantes, a influência da estampagem (imprinting), e a manifestação de homossexualismo também ocorrem nos ovinos. Para interação social os machos utilizam os sentidos da visão, audição, olfato, tato e paladar. Destes, o olfato é o principal sentido utilizado para desencadear o comportamento reprodutivo.

A imobilidade reflexa da fêmea em estro quando abordada por um macho é reconhecida e é entendida pelo carneiro como uma sinalização para a continuação da sequência do cortejo sexual. O macho desenvolve na sequência um padrão de expressão de comportamentos caracterizado por atos estereotipados, cuja sequência varia com a raça e também com o indivíduo.

A sequência dos comportamentos durante o cortejo dos carneiros é similar à dos bodes e inclui: cheirar a vulva da fêmea, reflexo de Flehmen, golpear o solo com o membro anterior (cotoveladas), expor a língua várias vezes, emitir sons em tons graves, expor o pênis,

INTERESSANTE!

Os bodes apresentam um cheiro forte bem característico. Para nós, humanos, ele pode ser muito desagradável, porém funciona como um atrativo sexual para as cabras!

Com o início do período de acasalamento os machos tendem a modificar a forma natural de urinar e passam a eliminar a urina através de um jato fino e com alta pressão ao longo do ventre, peito e barba, impregnando seu corpo com odores específicos.

realizar falsas montas ou montas sem ereção, e culmina com a monta com introdução do pênis e ejaculação durante o galeio de curtíssima duração.

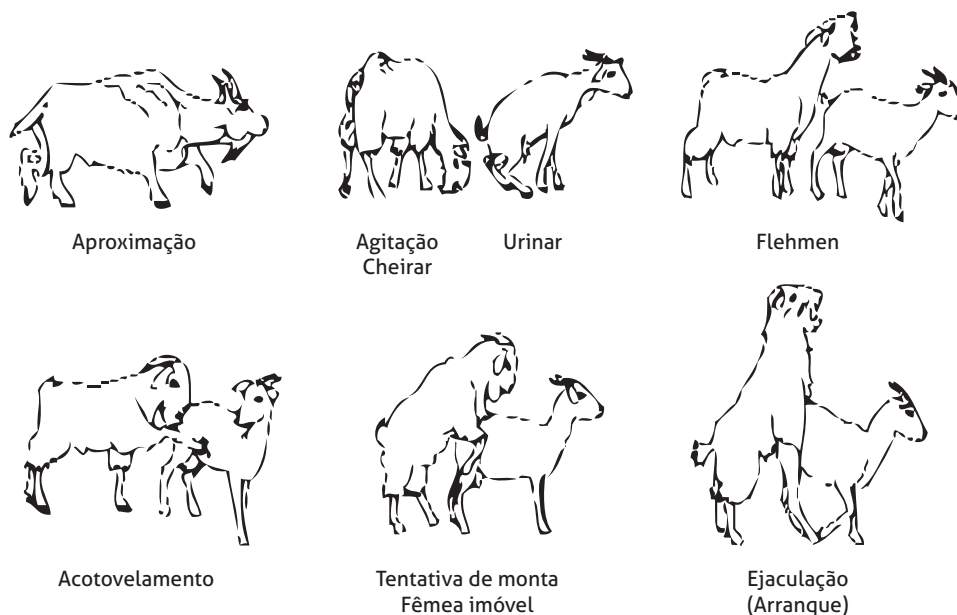


Figura 3. Sequência do comportamento sexual dos pequenos ruminantes.

A rapidez para a execução da cópula em ovinos é dependente de experiência prévia. Carneiros com experiência sexual prévia possuem mais facilidade para montar e copular. Carneiros jovens e inexperientes realizam mais reflexo de Flehmen, cheiradas, cotoveladas e montas incompletas. No entanto, os padrões motores de conduta durante o cortejo não são alterados. A principal consequência da inexperiência sexual em carneiros é a menor eficiência para executar a cópula.

ATENÇÃO!

Ao tentar classificar a libido de animais jovens não se esqueça de considerar o aspecto de experiência sexual prévia.

O estímulo visual antes da realização da monta ou de testes de avaliação da libido não é um fator crucial para a expressão do comportamento sexual, porém, o contato prévio com fêmeas pode fornecer aos carneiros a prática na execução da cópula ou pode ajudar na desinibição de machos inexperientes. Assim, machos destinados à produção devem ser colocados em contato com fêmeas e outros machos de sua espécie com o intuito de estimular os comportamentos de cortejo e cópula inerentes à espécie.

Outro comportamento observado em carneiros jovens é relatado como sendo “ansiedade da separação”. Este comportamento é caracterizado como atitudes mais agressivas e de vocalização excessiva. A expressão do mesmo pode estar relacionada à inexperiência sexual do macho ou à separação recente do indivíduo do seu grupo de convívio. Mudanças de ambiente ou até mesmo a aproximação e o manejo dos animais por tratadores estranhos aos machos podem ser a causa da manifestação deste comportamento.

5.4 TESTES UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO SEXUAL DE PEQUENOS RUMINANTES

O teste ideal para acessar a libido do macho caprino e ovino ainda não está bem definido, não existindo um teste padrão. Em geral, os conceitos básicos aplicados aos bovinos têm sido usados para pequenos ruminantes apesar de serem espécies distintas e apresentarem padrões de cortejo sexual próprios.

Em pequenos ruminantes, a libido pode ser avaliada através de um teste simples. O macho é colocado em presença de uma fêmea em estro e o tempo decorrente desde sua apresentação à fêmea até a ejaculação subsequente é quantificado em segundos. Esta quantificação é então traduzida em notas (Tabela 1).

TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DE REPRODUTORES OVINOS E CAPRINOS QUANTO À LIBIDO EM PRESENÇA DE FÊMEA EM ESTRO.

Tempo (segundos) até a ejaculação	Libido do reprodutor
Até 30	Excelente
De 31 a 60	Boa
De 61 a 120	Regular
Acima de 120	Sofrível

CHEMINEAU et al., 1999

Atualmente existem vários outros testes sendo empregados para avaliação do comportamento sexual de pequenos ruminantes. Um destes testes consiste na avaliação do comportamento sexual de vários machos expostos às fêmeas, contidas e em anestro. Outra metodologia consiste na avaliação de um macho frente a fêmeas em cio soltas. O tempo de exposição dos machos frente à fêmea em ambos os testes é de 20 minutos. O fato das fêmeas estarem em estro ou anestro pode afetar o interesse sexual do macho, alguns autores sugerem o uso de fêmeas em cio durante os testes de libido.

O comportamento sexual de carneiros também pode ser avaliado durante a coleta de sêmen com vagina artificial. Neste teste os machos são avaliados pelo tempo que levam para efetuar o salto, a classificação é feita em uma escala de 1 a 5, sendo que os carneiros classificados com 1 são aqueles que saltam rapidamente, e cinco são aqueles que levam até cinco minutos.

No teste de capacidade de monta os machos normalmente são classificados em machos com alta capacidade de monta e machos com baixa capacidade de monta, de acordo com o número de montas que efetuam durante o período de teste. Em sistemas intensivos de criação, onde um maior número de fêmeas entra em cio diariamente, machos com alta capacidade de monta fertilizam maior número de fêmeas quando comparados aos machos com baixa capacidade de monta. Contudo, em sistemas pouco intensivos a taxa de fertilização não difere entre carneiros ou bodes com alta ou baixa capacidade de monta.

VOCÊ SABIA?

Borregas, mesmo em pleno cio, devido à inexperiência, são mais refratárias aos machos. Imagine se ambos forem inexperientes!

Por isto, para os acasalamentos a campo, avalie bem qual deve ser a proporção macho-fêmea dependendo da experiência prévia do macho ou das fêmeas!!!

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

5.5 SUÍNOS

A puberdade nos suínos ocorre por volta dos 8 meses de idade e sofre influência direta do status nutricional do animal, além de ser estimulada pelos sentidos como olfação, audição e tato. Um exemplo disto é o atraso da puberdade em leitoas quando criadas em ambiente com alto cheiro de amônia. A amônia mascara os odores que aceleram o aparecimento da puberdade.

O cortejo sexual de suínos é composto por uma fase de identificação da fêmea em cio quando a olfação das partes do corpo e, particularmente, da genitália externa da fêmea é realizada. O desferimento de golpes no flanco das porcas pelo chanfro do reprodutor é frequente, assim como as tentativas de monta sem ereção. A emissão de grunhidos específicos e a salivação do macho também são expressas durante o cortejo.

Uma alternativa para avaliação da libido dos suínos é usar baias de 3 x 4 metros, colocando cada macho na presença de uma fêmea em estro por 15 minutos. A avaliação é feita contando o número de saltos corretos e incorretos realizados pelo reprodutor. O teste é concluído quando o macho salta sobre a fêmea e mostra viabilidade para concluir a cópula.

Outra alternativa utilizada é observar a quantidade de saltos que realizavam na presença do manequim móvel por um período máximo de quinze minutos. Os animais são classificados em alto, médio e sem libido, de acordo com o tempo que demoram para realizar o salto e a colheita de sêmen após a introdução do manequim na baia. Os animais que não realizam o salto são classificados como sem libido.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

5.6 EQUINOS

A puberdade na espécie equina ocorre dos 16 aos 19 meses de idade e esta variação está muito associada à época de nascimento do potro. Como a espécie equina é sazonal, particularmente nas latitudes mais afastadas do equador, o início da estimulação hormonal pode corresponder à época de baixo fotoperíodo, retardando o processo.

O interesse sexual nos potros já começa na tenra infância, se exacerba próximo à puberdade e atinge a plenitude com a maturidade sexual (próximo aos cinco anos). No entanto, potros com 24 meses já demonstram grande interesse sexual.

Inicialmente, convém lembrar, a organização social dos equinos é em harém, onde um garanhão é o dominante e o único a copular as fêmeas de seu grupo. Machos nascidos no harém acabam se afastando do grupo quando atingem a idade de reprodução. Os machos solteiros acabam se juntando em grupos de solteiros até formarem ou tomarem a liderança de um harém.

O cortejo sexual nos equinos é bastante prolongado. Continuadamente o garanhão tenta detectar fêmeas no período de receptividade. As fêmeas, quando na fase do proestro, se aproximam do macho passando a pastar nas imediações do mesmo. Durante o cortejo sexual o garanhão utiliza a olfação (partes do corpo, períneo, urina e fezes), execução do reflexo de Flehmen, morder partes do corpo, montas sem ereção, até que, após estimulação, o pênis do garanhão entra em ereção e a cópula é executada.

Podem-se observar grandes variações na libido entre garanhões, particularmente quando eles são submetidos a um intenso manejo de cópula. No entanto, como esta espécie é criada como animal de estimação, não tem sido compatível realizar qualquer seleção incluindo o quesito libido.

No ato de compra e venda ou quando da avaliação andrológica é conveniente incluir algumas avaliações indicativas de libido. O interesse por fêmea em cio, o tempo para entrar em ereção (minutos), o tempo para executar a cópula ou para coleta de sêmen pelo método da vagina artificial têm sido utilizados para classificar a libido. O resultado da avaliação da libido tem sido expresso numericamente, quanto ao parâmetro avaliado e mensurável (tempo/duração), ou subjetivamente, como bom, médio ou ruim. Também é avaliada a capacidade do garanhão de montar na garupa de uma fêmea, considerando que problemas nos aprumos posteriores e de coluna podem prejudicar a realização da cópula. Em condições de normalidade é esperado que um garanhão submetido a um bom manejo reprodutivo consiga fertilizar em uma estação de monta em torno de 50 éguas. Geralmente o número de fêmeas destinadas a cada garanhão está abaixo disto.

ATENÇÃO:

Montas sem ereção durante o cortejo sexual são executadas pela maioria das espécies de animais domésticos. Elas não devem ser interpretadas como incompetência dos reprodutores em entrar em ereção. Ao executarem a monta sem ereção não interfira, pois é uma forma de testar o grau de receptividade das fêmeas.

Vários são os fatores que podem interferir nos resultados e que devem ser ponderados para a interpretação dos resultados: experiência prévia do reprodutor, regime de cobrição (após descanso prolongado ou em plena atividade), nutrição, entre outros. A sazonalidade tem uma influência discreta sobre a libido dos garanhões. Nos meses de menor fotoperíodo pode haver uma queda na libido, no entanto, esta queda não impede que o garanhão execute a monta em qualquer época do ano. O fotoperíodo tem maior influência na reprodução das fêmeas.

5.7 CÃES E GATOS

Nos cães, a puberdade é normalmente alcançada dos 7 aos 11 meses de idade. As raças caninas de menor porte alcançam a puberdade antes das raças de maior porte, pois seu peso corporal adulto é atingido em idades mais precoces.

Os estímulos visuais e auditivos são de importância secundária na atração do macho, o principal estímulo é pelos odores dos feromônios lançados pelas fêmeas no período de proestro e estro. O macho inicialmente cheira e lambe a vulva e a região perineal. Normalmente, a cadela em fase estral permite essa investigação e mesmo algumas vezes volta seu quarto traseiro na direção do macho. Uma fêmea que não está no cio afastará seu quarto traseiro.

É interessante registrar que durante a cópula, o cachorro geralmente faz um giro, erguendo uma pata traseira sobre o posterior da cadela, ficando as suas cabeças em

VOCÊ SABIA?

Em asininos, períodos de intenso cortejo sexual são iniciados por um urro do jumento, atraindo as fêmeas receptivas que estão mais distantes. A fêmea é altamente participativa durante o cortejo sexual.

Durante o cortejo o jumento se afasta subitamente das fêmeas em cio, várias vezes, esperando que as mesmas se reaproximem, antes de ele entrar em ereção peniana e eleger a fêmea para copular.

direções opostas até o final da cópula, que pode durar de 5 a 30 minutos. Durante esse estágio, o pênis sofre uma torção de 180 graus.

Após a ejaculação, quando o bulbo está relaxado, os animais se separam. Após um período de repouso, o interesse do macho retorna. Animais com boa libido podem copular até 5 vezes no dia.

O gato macho não mostra interesse sexual pela fêmea em fase de anestro ou metaestro, mas durante o proestro e estro, o gato é atraído tanto pelo chamado da fêmea (audição) e o comportamento geral da fêmea, quanto pelo odor (olfação) de sua urina. O macho delimitará o seu território ao emitir jatos de urina (jateamento) e se esfregar contra as áreas ainda não assinaladas, podendo ainda lambar seu pênis parcialmente ereto, como um sinal de prontidão para a cópula.

Tanto em cachorros como em gatos não são realizados quaisquer testes de seleção de libido. Nos cães não é infrequente o aparecimento de problemas na esfera comportamental reprodutiva que geralmente são solucionados fazendo uso de técnicas de reprodução assistida. A finalidade de criação destas espécies (animais de estimação) não comporta a eliminação de animais menos eficientes.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

6. CONCLUSÃO

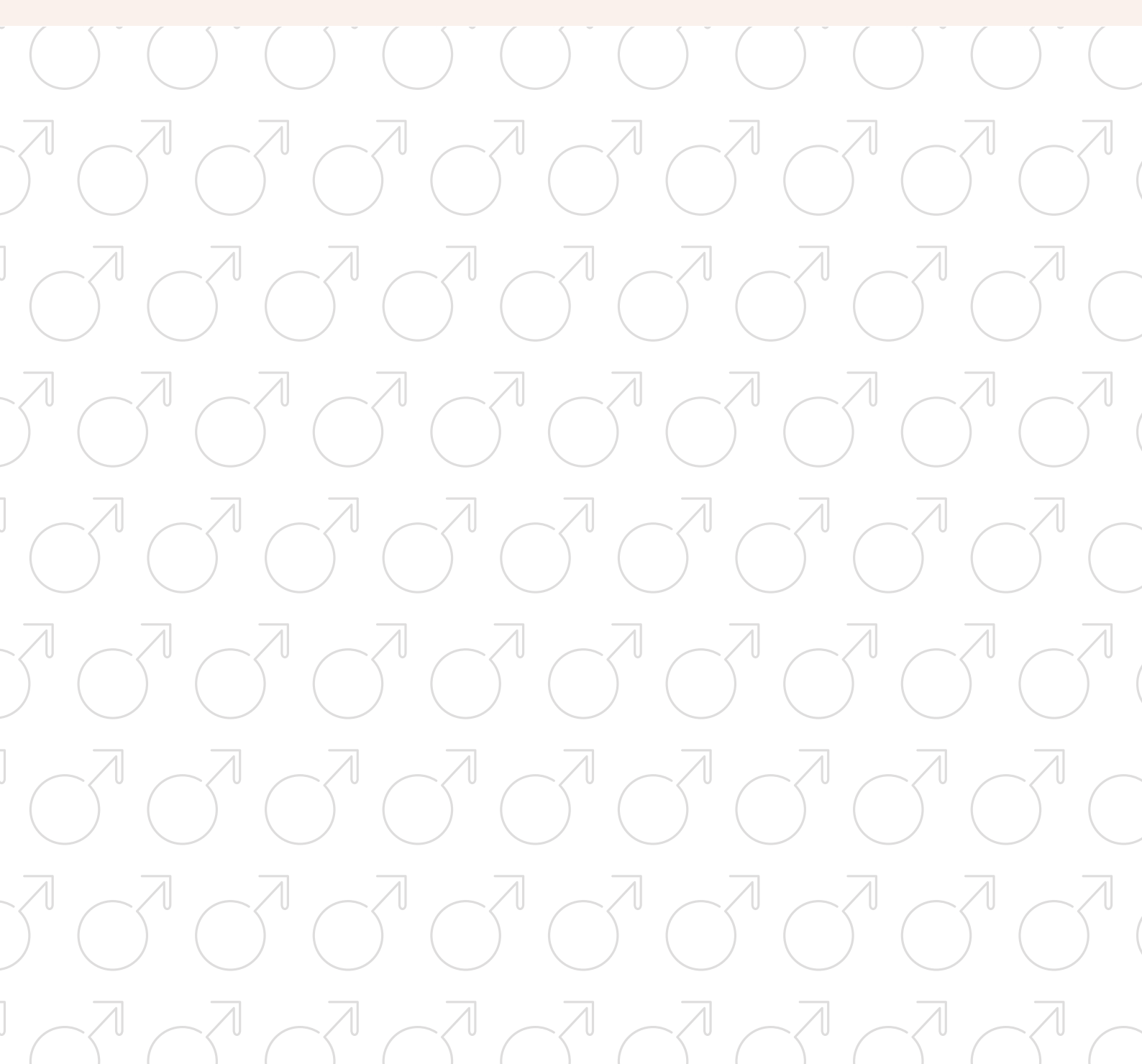
A avaliação do comportamento sexual é essencial quando se deseja selecionar animais de maior potencial reprodutivo. A classificação da libido tem que ser realizada com muito cuidado, pois a manifestação de interesse sexual envolve vários fatores que nem sempre são perfeitamente controláveis. É importante quando da avaliação da libido ou da capacidade de cópula fazê-lo em ambiente com menor interferência humana possível. Os testes de avaliação desenvolvidos até hoje são capazes de indicar com um bom grau de acuidade os animais de baixa libido, no entanto, o ranqueamento de animais de boa libido não tem alcançado a precisão desejada.

7. RESUMO

- O comportamento sexual está associado ao desejo de detectar uma fêmea receptiva (libido) e a capacidade de executar a cópula.
- A libido é caracterizada como o desejo do macho de realizar a cópula.
- A manifestação da libido é influenciada por fatores relacionados ao próprio animal

(fatores genéticos) e pelo ambiente em que ele vive (fatores ambientais).

- A libido começa a ser intensificada próximo à puberdade e continua até a maturidade sexual.
- As diferenças observadas no comportamento entre os touros de raças europeias e touros de raças zebuínas provavelmente são oriundas de fatores adaptativos a ambientes mais quentes (tropical a equatorial) onde os zebuínos são predominantemente criados.
- O reflexo de Flehmen tem a finalidade de transferir compostos de baixa volatilidade ou não voláteis da urina da fêmea para receptores do órgão vomeronasal, desencadeando uma variedade de respostas neuroendócrinas no macho e que vão permitir identificar o estado de receptividade da fêmea.
- Os pequenos ruminantes são conhecidos como animais estacionais de dias curtos ou noites longas, tornando-se sexualmente ativos quando ocorre a diminuição da duração do fotoperíodo.
- Os estímulos visuais e auditivos são de importância secundária na atração do macho canino, o principal estímulo é pelos odores dos feromônios lançados pelas fêmeas no período de proestro e estro.
- O gato é atraído tanto pelo chamado da fêmea (audição) e o comportamento geral da fêmea, quanto pelo odor (olfação) de sua urina.
- Foi mostrado que a libido e capacidade de cópula podem e devem ser avaliados, que os testes de avaliação não estão padronizados e que cada espécie animal apresenta um cortejo sexual próprio, que deve nortear a forma de avaliação.



12

Criopreservação Espermática

Aspectos críticos para a sobrevivência de espermatozoides preservados na forma líquida ou congelada

***Autores: Valéria Spyridion Moustacas
Marc Henry
Ana Maria Loaiza Echeverri***

META DO CAPÍTULO

Estudar a estrutura das membranas espermáticas e sua relação com os processos de preservação *in vitro*, assim como discutir os princípios básicos da criopreservação de espermatozoides.

OBJETIVOS

Esperamos que depois de estudar este módulo você seja capaz de:

- Entender as principais injúrias que a criopreservação pode causar às células espermáticas.
- Dominar as formas de minimizar as injúrias aos espermatozoides quando da preservação *in vitro* pelo frio.

1. INTRODUÇÃO

Desde o início do uso da inseminação artificial foi meta do homem aumentar a capacidade de preservar a célula espermática *in vitro*, com o intuito de maximizar o uso de reprodutores considerados superiores. Aumentar a longevidade do espermatozoide após a sua coleta permite o intercâmbio de material genético entre propriedades distantes, a fertilização de várias fêmeas com um único ejaculado, e o uso de espermatozoides de um doador por vários anos após a sua morte. Hoje em dia, o método mais utilizado para este fim é a criopreservação de células espermáticas por vários dias (sêmen resfriado) ou por tempo ilimitado (sêmen congelado). Com o resfriamento acima de zero grau Celsius, o objetivo é reduzir o metabolismo espermático e assim aumentar a longevidade da célula, e com o congelamento, a meta é estagnar o metabolismo por completo. Nas duas formas de abordagem, o desafio é minimizar as crioinjúrias às células.

Para melhor entender como o resfriamento pode aumentar a longevidade espermática e quais são os cuidados que devem ser tomados para termos sucesso na nossa proposta, vamos estudar com mais detalhes a composição das membranas celulares.

2. MEMBRANAS CELULARES

Por que estudarmos as membranas espermáticas? É que elas são as estruturas da célula mais sensíveis ao frio. Se conseguirmos protegê-las, com certeza estaremos dando um grande passo para manter íntegros os outros constituintes celulares.

Os espermatozoides, por serem células bastante especializadas, apresentam várias membranas. No capítulo da Anatomia do Espermatozoide e Fisiologia do Movimento apresentamos este assunto e, em caso de dúvida, revise a matéria abordada naquele capítulo.

Todas as membranas celulares têm a mesma estrutura básica: duas camadas de fosfolipídios entremeados por moléculas de colesterol e proteínas; e ligadas em sua superfície, moléculas de carboidratos, glicolipídios, glicoproteínas, entre outras. Os fosfolipídios são os constituintes das membranas celulares que estão em maior quantidade. Estes se dispõem em forma de bicamada, ficando a fração hidrofílica das moléculas de fosfolipídios (glicerol, fosfato e um grupo polar) voltadas para os lados externos de cada camada, e a porção hidrofóbica (duas cadeias de carbono), voltada para a parte interna da membrana. Existem várias classes de fosfolipídios que compõem a membrana. A proporção de cada classe de fosfolipídios que compõe a membrana pode variar em função da espécie, do indivíduo e até mesmo do ejaculado.

Olhe detalhadamente a figura 1 para você entender melhor como é constituída a bicamada de fosfolipídios e como estão dispostos os constituintes restantes da membrana.

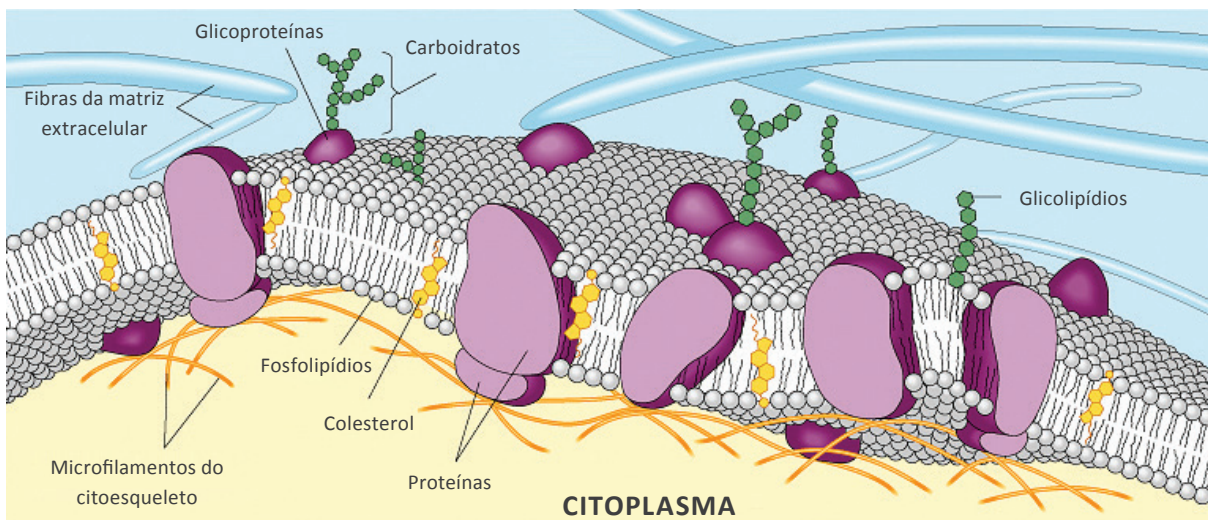


Figura 1. Membrana plasmática do espermatozoide. [Fonte: Modificado de - <http://keepinapbiologyreal.wikispaces.com/Cell+Membrane>]

É bom saber que a membrana plasmática dos espermatozoides de mamíferos, apesar de ter uma estrutura espacial similar em toda sua extensão, não apresenta uma composição molecular homogênea em todos os segmentos. Foi demonstrado que os tipos de fosfolipídios e a proporção de cada um, como a presença das demais moléculas, variam de uma região para outra. A região que apresenta a mesma composição foi denominada de domínio, por isto, é interessante você guardar o conceito de que a membrana plasmática

apresenta-se organizada em vários domínios regionais, bem delineados, cada qual tendo uma função. Na cabeça do espermatozoide, a membrana plasmática possui dois macros domínios: a região acrossomal e a região pós-acrossomal. Na região acrossomal, a membrana pode ser subdividida em segmento marginal (apical), segmento principal (acrossomal) e segmento equatorial, sendo que os segmentos marginal e principal, juntos, são denominados de capa acrossomal. No flagelo, observa-se o domínio da peça intermediária, que cobre a bainha mitocondrial e o domínio da cauda posterior que cobre as peças principal e terminal da cauda.

Além de delimitar as células, as membranas protegem o seu conteúdo e controlam o trânsito de substâncias que entram e saem. Mas ao contrário do que parece, essas estruturas na temperatura corporal são fluidas e dinâmicas, onde a maior parte de suas moléculas é capaz de se mover constantemente, sem perder sua disposição. Por exemplo, os fosfolipídios podem se mover lateralmente, rotacionar sobre seu próprio eixo e, raramente, passar da camada interna para a camada externa da membrana ou vice-versa.

Os lipídios correspondem a cerca de 50% da massa total de todas as membranas celulares, sendo 70% composta por fosfolipídios, 25% por lipídios neutros e 5% por glicolipídios. As proteínas chamadas “integrals” são aquelas que se estendem pelas duas camadas de fosfolipídios atravessando a membrana e são também chamadas de transmembranas. O outro grupo de proteínas são as periféricas e estão distribuídas por toda a membrana.

Faz parte da composição das membranas o colesterol, lipídio neutro encontrado em maior abundância. O colesterol atua restringindo a movimentação dos fosfolipídios, dando maior estabilidade às membranas e, dessa forma, auxiliando na resistência da célula espermática ao frio. No espermatozoide, o conteúdo total de colesterol, apresenta grande variação entre espécies, indivíduos e até entre ejaculados.

LEMBRE-SE...

Você está lembrando que falamos que a membrana de uma mesma célula é dividida em domínios e que cada domínio pode estar associado a uma função específica?

Pois é, o conceito de heterogeneidade de composição das membranas, isto é, os tipos de fosfolipídios que a compõem e a proporção de cada um, como a quantidade de colesterol presente na membrana, variam de espécie para espécie, e até mesmo, em menor intensidade, a variação pode se manifestar de um ejaculado para outro. Para ir mais longe ainda, hoje já se sabe que um espermatozoide de um ejaculado pode não ser totalmente igual ao outro do mesmo ejaculado...

Lembrar-se disso será essencial para entender porque ejaculados diferentes podem não ter o mesmo comportamento quando submetidos ao mesmo protocolo de criopreservação e que um mesmo protocolo de congelamento não se aplica a todas as espécies!

3. PRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES NA FORMA LÍQUIDA

Os espermatozoides podem ser mantidos viáveis durante dias, em meio líquido e sob refrigeração. Mas para que isso possa acontecer, é necessário que o processo de resfriamento ocorra de forma adequada e é necessário manter os espermatozoides com as seguintes características:

- Motilidade progressiva
- Metabolismo ativo
- Membranas intactas e funcionais
- Conteúdo enzimático do acrossoma protegido
- Material genético íntegro

LEMBRE-SE:

Na temperatura corporal, todas as membranas celulares, inclusive as espermáticas, se encontram em estado fluido.

3.1 O QUE ACONTECE COM AS MEMBRANAS DURANTE O RESFRIAMENTO?

Durante o resfriamento, ainda em temperaturas acima de zero grau Celsius, as membranas passam gradativamente do estado fluido para o estado gelificado, o que ocorre entre 20 e 5°C, com pequena variação entre espécies. Nem todos os fosfolipídios gelificam ao mesmo tempo e a uma mesma temperatura. A temperatura de gelificação de cada classe de fosfolipídios depende da relação entre o número de ligações simples e de ligações duplas (ou grau de saturação) entre os carbonos destas moléculas. Portanto, em uma dada temperatura, durante o resfriamento podem existir algumas classes de fosfolipídios na forma de gel, enquanto outras ainda estão na forma fluida. Este período é crítico, pois fosfolipídios ainda na forma fluida mantêm a capacidade de se movimentar enquanto os que estão na forma de gel perdem esta capacidade.

INTERESSANTE!

É interessante saber que existem fosfolipídios que, preferencialmente, se organizariam em bicamada enquanto outros preferem a organização espacial em forma de micela invertida. Na membrana normal todos são mantidos em bicamada pelo arranjo estrutural específico que, em parte, é mantido pelas moléculas de colesterol.

Se a taxa de resfriamento for rápida demais, fosfolipídios da mesma classe tendem a se agrupar, desarranjando a estrutura da membrana. O efeito deste desarranjo se expressará durante o reaquecimento, quando todos os fosfolipídios retornam à forma fluida. Como consequência, algumas dessas moléculas perdem a forma de bicamada e formam uma estrutura circular, em monocamada, chamada de “*hexagonal II ou micela invertida*”. Observe a figura 2 para compreender melhor esses eventos.

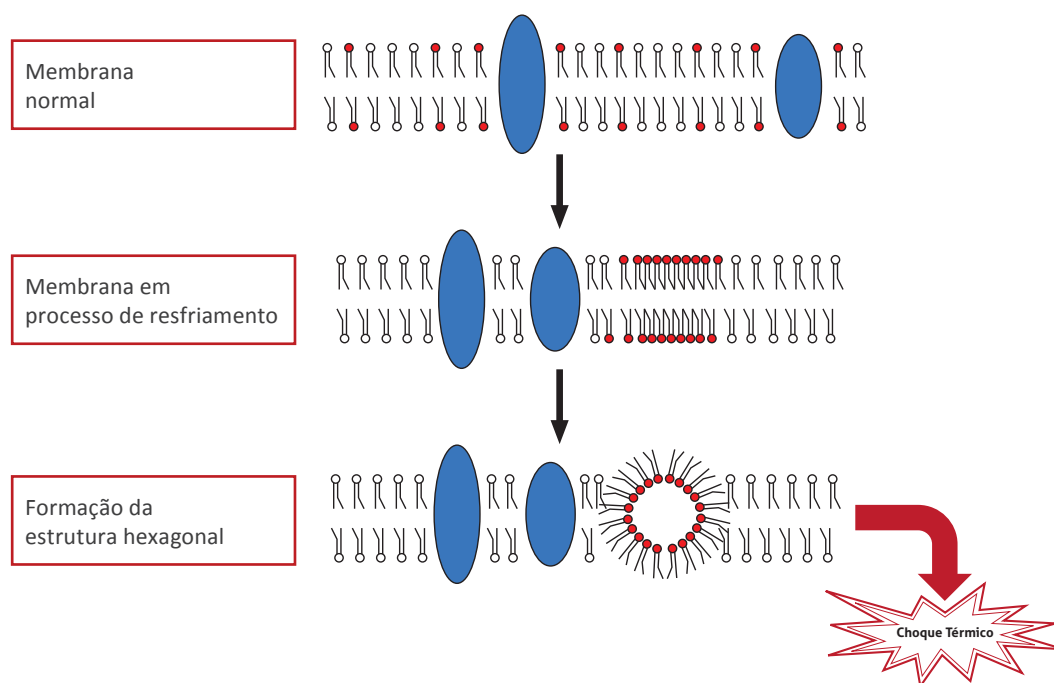


Figura 2. Choque térmico e formação da estrutura hexagonal na membrana plasmática.

Estas estruturas hexagonais funcionam como verdadeiros poros, aumentando a permeabilidade da membrana, o que leva à perda de conteúdo celular, ATP (adenosina trifosfato - principal forma de energia química das células), ácidos nucleicos, fosfolipídios, várias enzimas metabólicas, potássio, cátions e água. Essa alteração é conhecida como “choque térmico”. Uma das formas de evitar ou minimizar a ocorrência de choque térmico é diluir o sêmen em meio extensor apropriado. A outra, que deve ser utilizada em conjunto, é resfriar o sêmen lentamente (taxa de resfriamento $\leq 0,25^{\circ}\text{C}/\text{min}$) até atingir a temperatura de manutenção que pode ser de 15°C a 18°C para suínos ou de aproximadamente 5°C para a maioria das espécies de animais domésticos.

3.2 RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO

A resistência dos espermatozoides ao choque térmico depende de inúmeros fatores. A composição das membranas é um deles. Como já citamos, o colesterol presente na membrana pode auxiliar a célula a passar ilesa pelo processo de resfriamento. Assim, para a maioria das espécies domésticas, quanto maior a relação colesterol/fosfolipídios, mais resistente será a célula. Espermatozoides de suínos possuem uma relação de colesterol/fosfolipídios de 0,2 e são altamente sensíveis, enquanto espermatozoides de humanos possuem relação de 0,9-1,0 e apresentam, comparativamente a outras espécies de animais domésticos, alta resistência ao choque térmico. Veja na tabela 1 como cada espécie é classificada dentro deste contexto.

TABELA 1. RESISTÊNCIA AO CHOQUE TÉRMICO E RELAÇÃO COLESTEROL/ FOSFOLIPÍDIOS EM DIFERENTES ESPÉCIES

Sensibilidade	Espécie	Relação colesterol/fosfolipídios
Extremamente sensível	Varrão	0,2
Sensível	Touro, Carneiro, Garanhão	0,3 – 0,5
Altamente resistente	Homem, Coelho	0,9 – 1,0
Altamente resistente – Atípico	Galo	0,3

Entre outros fatores, foi demonstrado que quanto maior a presença de proteínas nas membranas, maior é a susceptibilidade ao frio. A classe predominante de fosfolipídios também influencia a resistência. A título de exemplo, quanto maior a proporção de fosfatidilcolina em relação aos demais fosfolipídios maior será a resistência, e quanto maior a proporção de fosfatidiletanolamina em relação aos demais, menor será a resistência da membrana ao resfriamento. Lembre-se que inúmeros fosfolipídios compõem a membrana, cada um com sua característica.

4. PRESERVAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES NA FORMA CONGELADA

O armazenamento de espermatozoides na forma congelada é feito dentro de botijões de nitrogênio líquido, onde a temperatura é de -196°C . Dessa forma, os espermatozoides, alcançando a temperatura de 5°C , são submetidos a um período adicional de resfriamento, na grande maioria das vezes, utilizando uma taxa de resfriamento muito maior do que aquela usada quando a temperatura ainda está acima de zero grau Celsius.

Semelhante ao que ocorre durante o resfriamento ainda acima de zero grau Celsius, durante o congelamento as membranas celulares sofrem diversas alterações, que podem levar instantaneamente à morte dos espermatozoides.

VOCÊ SABIA?

Que a primeira criopreservação de espermatozoides foi feita na neve? O cientista Lazzaro Spallanzani, em 1776, conseguiu recuperar espermatozoides vivos de um cavalo após serem congelados na neve.

4.1 O QUE ACONTECE COM AS MEMBRANAS DURANTE O CONGELAMENTO?

O congelamento ocorre de -5°C a -60°C e neste intervalo existem duas zonas de temperatura críticas: de -5°C a -15°C e de -15°C a -60°C .

Entre -5°C e -15°C inicia-se a formação de cristais de gelo no meio extracelular podendo o meio intracelular permanecer líquido. Se o início da cristalização extracelular e intracelular demorar demais pode haver um processo de desnaturação de proteínas resultando em efeito indesejável. Este processo foi denominado de “hiper-resfriamento”. Portanto, é indicado que o início de cristalização não demore muito tempo.

Com o início da cristalização extracelular, a água que vai cristalizando desloca os solutos nela contidos para a coluna líquida que ainda está por cristalizar. Com isto, vai ocorrendo o aumento gradativo da osmolaridade extracelular, que por sua vez, leva à desidratação dos espermatozoides que vão se alojando na coluna líquida remanescente. A retirada da água do compartimento intracelular é desejável para evitar a formação de cristais de gelo dentro da célula, por outro lado, a desidratação excessiva leva a mudanças estruturais dos constituintes das células, prejudicando a viabilidade espermática.

Você pode notar que ao congelarmos espermatozoides estamos frente a um desafio constante: temos que congelar lentamente, o suficiente para causarmos a desidratação necessária para evitar a formação excessiva de cristais de gelo intracelular, mas temos que congelar rápido o suficiente para evitar a desidratação excessiva e o hiper-resfriamento sem, no entanto, permitir a formação de cristais de gelo intracelular em excesso. Excesso de cristais no compartimento intracelular lesa as membranas espermáticas, levando, muitas vezes, à morte celular.

Tudo isto ocorre entre -15 e -60°C, conseqüentemente, a taxa de resfriamento nesta faixa de temperatura será crucial para a manutenção da viabilidade espermática.

Qual seria a taxa de resfriamento mais indicada abaixo de zero grau Celsius? Os estudos demonstram que existe uma taxa de resfriamento indicada para cada célula e essa taxa seria bem representada com um “U” invertido. O início do “U” invertido estaria representando o uso de uma taxa de resfriamento baixa, na qual a perda da viabilidade celular é grande. A outra ponta estaria representando o uso de uma taxa de resfriamento muito alta, na qual também há grande perda da viabilidade celular. Os valores intermediários corresponderiam às taxas de resfriamento mais adequadas quando há uma maior sobrevivência das células após o descongelamento. Esta mudança de sobrevivência seria gradativa quer seja na primeira metade da curva (aumento gradativo da sobrevivência) ou na segunda metade da curva (diminuição gradativa da sobrevivência). Portanto, para cada tipo celular teríamos uma faixa de taxa de resfriamento que poderia ser considerada melhor.

A perda maior em cada extremidade da curva é por uma causa diferente. Você agora deve saber quais são, mas se tiver dúvidas releia com atenção o segmento acima.

Por que, então, não sugerimos uma taxa de resfriamento para o congelamento? Bom seria se pudéssemos fornecer isto... Já chamamos a atenção para o fato que cada tipo celular tem uma curva mais indicada. No entanto, aspectos como o meio extensor, cada um dos seus componentes, a sua osmolaridade, dentre outros fatores, podem modificar a taxa de resfriamento ideal. Portanto, procede a afirmação que a cada extensor utilizado há uma taxa de resfriamento mais indicada. Adicionalmente, você deve se lembrar que a susceptibilidade da célula espermática ao frio muda de uma espécie para outra, logo, o ajuste da curva por espécie é recomendado.

Os pequenos cristais de gelo formados durante o congelamento são termodinamicamente instáveis e durante o descongelamento tendem a se fundir uns aos outros, formando cristais de gelo maiores. Esse fenômeno é chamado “recristalização” e quando ocorre no meio intracelular, dependendo do tamanho e quantidade de cristais, pode levar a lesões de membrana plasmática e morte celular. Para entender melhor, veja a figura 3.

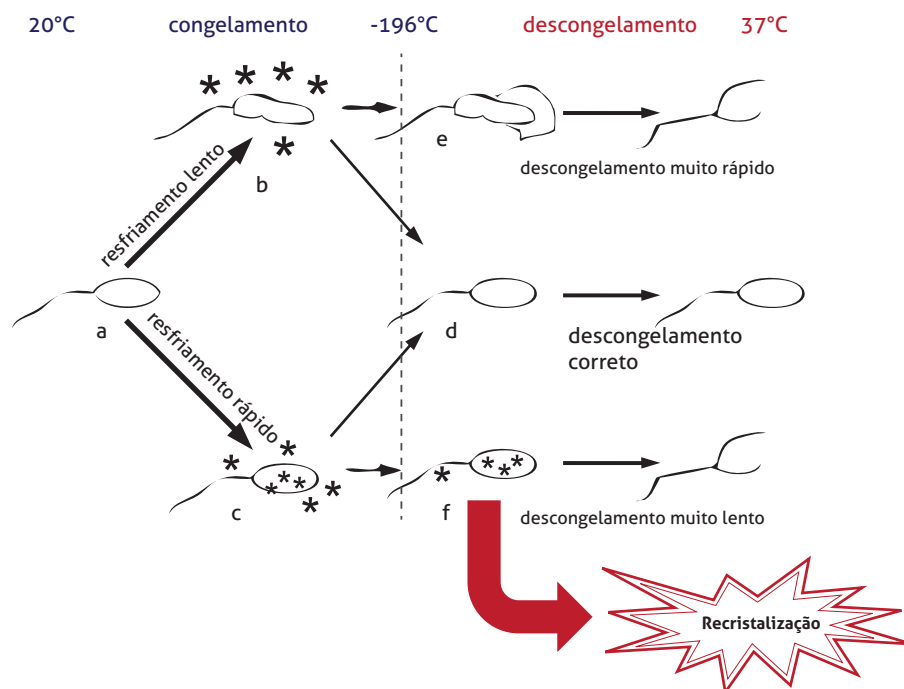


Figura 3. Formação de cristais de gelo.

Deu para você notar que o descongelamento é tão importante quanto o congelamento. Portanto, o método de descongelamento deve ser rápido o suficiente para impedir a recristalização e lento o suficiente para permitir a reidratação. Diversas técnicas de descongelamento podem ser adotadas: 35°C por 20 segundos, 37°C por 30 segundos, 50°C por 9 segundos, 70°C por 7 segundos, dentre outras. Todas estas elevam a temperatura a $\geq 600^\circ\text{C}/\text{min}$. Para demonstrar a vantagem desta ou daquela taxa de reaquecimento são necessárias muitas inseminações artificiais por tratamento. Este é um dos motivos pelo qual muitos estudos demonstraram não haver diferença significativa no índice de fertilidade entre os diferentes protocolos de descongelamento. Dessa forma, o protocolo mais preconizado é descongelar a 35°C – 37°C. Esta temperatura é fácil de ser atingida a campo e não gera o risco de matar os espermatozoides, se o tempo de exposição for excedido.

5. MEIOS DILUIDORES

Além de ajustarmos as curvas de congelamento e descongelamento para minimizar os efeitos deletérios da criopreservação, o que mais temos que fazer?

A preparação de um bom meio extensor é crucial para minimizar a perda de viabilidade espermática.

É necessário que diluamos os espermatozoides em meios que confirmam sustento e proteção durante a criopreservação. Esses meios, chamados de extensores ou diluidores, contêm basicamente: água pura, agentes crioprotetores, substâncias tampão (que evitam a variação de pH), fonte de substrato para o metabolismo e antibióticos. Dada a importância, vamos falar um pouco mais sobre eles.

5.1 CRIOPROTETORES

Os crioprotetores são substâncias inespecíficas, isto é, podem exercer sua função por múltiplos mecanismos e protegem os espermatozoides dos danos causados pelo resfriamento. Estes são classificados por seus grupamentos químicos ou como penetrantes ou não-penetrantes (Quadro 1).

Os crioprotetores penetrantes geralmente são solutos que atravessam facilmente as membranas celulares, atuando tanto no meio intracelular como no meio extracelular. Nessa categoria estão classificadas substâncias como o glicerol, etilenoglicol, propilenoglicol, amidas, etc.

Já os crioprotetores não-penetrantes são macromoléculas que não atravessam as membranas celulares e atuam apenas no meio extracelular. Incluem-se neste grupo os di ou trissacarídeos (lactose, trealose, rafinose, galactose, sacarose), proteínas do leite e gema de ovo, albumina, entre outros. Esses compostos são adicionados em quantidades que propiciem ao extensor a condição de isomolaridade em relação à célula a ser congelada. Por não penetrarem na célula, aumentam a osmolaridade do meio extensor durante a cristalização, facilitando a desidratação celular.

QUADRO 1. CARACTERÍSTICAS DOS CRIOPROTETORES

CRIOPROTETORES	
PENETRANTES	NÃO-PENETRANTES
Alta capacidade de penetrar na célula	Não penetram na célula
Regulam o balanço osmótico nos meios intra e extracelulares	Aumentam a osmolaridade do meio extracelular, facilitando a desidratação
Alta afinidade pela água evitando a formação de cristais de gelo	Formam filme protetor ao redor das células, protegendo contra os cristais de gelo
Têm efeitos tóxicos em altas concentrações	Repõem os fosfolipídios perdidos pelas membranas
	Ligam-se às proteínas do plasma seminal evitando o efluxo de colesterol

O leite é um meio isotônico que contém muitos compostos favoráveis à manutenção da viabilidade espermática, sendo utilizado para o congelamento de espermatozoides de diversas espécies.

A gema de ovo preserva a motilidade e a integridade das membranas espermáticas, além de atuar como tampão osmótico conferindo maior resistência às células tanto para meios hipotônicos quanto para hipertônicos. Mesmo quando parcialmente substituída por outras substâncias, a gema de ovo continua sendo um importante componente para criopreservação de sêmen de muitas espécies.

Apesar da crioproteção ser uma área da ciência bastante pesquisada, o glicerol, a gema de ovo e o leite, componentes descobertos nos primórdios da criopreservação espermática, continuam sendo frequentemente utilizados em meios extensores.

Assim daremos a eles uma atenção especial.

5.1.1 GLICEROL

Desde os primeiros relatos de sua utilização, o glicerol é o crioprotetor mais utilizado para a preservação de espermatozoides de diversas espécies. É classificado quimicamente como um álcool e tem alta capacidade de ligação com a água. Dessa forma, impede a formação e o crescimento de cristais de gelo no meio diluidor, além de possuir capacidade de penetrar na célula, regulando o balanço osmótico intra e extracelular. São necessários poucos minutos de contato do glicerol com o espermatozoide (0 a 5 minutos) para promover um efeito crioprotetor satisfatório. A sua entrada na célula, em substituição às moléculas de água que são retiradas para o meio extracelular, permite manter o citoesqueleto da célula de forma a suportar o congelamento.

Em média, a concentração de glicerol recomendada está entre 4% e 6%. O glicerol possui atividade direta na membrana plasmática, ao contrário dos outros crioprotetores permeantes. Há evidências de que este crioprotetor se ligue diretamente aos fosfolipídios da membrana plasmática, reduzindo sua fluidez e interferindo em sua permeabilidade. Existem outros crioprotetores permeáveis. Os mecanismos de ação da maioria não são bem conhecidos.

(*) Aprofunde seus conhecimentos... Veja “Literaturas Complementares”.

5.1.2 GEMA DE OVO

Desde a descoberta do efeito crioprotetor da gema de ovo, ela se tornou um aditivo indispensável para a manutenção do sêmen resfriado e congelado. Dentre os principais efeitos da gema de ovo estão a proteção contra o choque térmico, a preservação da motilidade espermática, a diminuição da saída de enzimas acrossomais (hialuronidase) e a manutenção da integridade de membranas mitocondriais.

Porém, a gema de ovo também possui grânulos e outras substâncias (lipoproteínas de alta densidade e minerais) que previnem trocas metabólicas dos espermatozoides ou diminuem sua motilidade.

O efeito crioprotetor da gema de ovo é atribuído principalmente à presença das lipoproteínas de baixa densidade. Estas se aderem às membranas celulares, protegendo-as contra o choque térmico. Além disso, foi demonstrado em bovinos que as lipoproteínas de baixa densidade da gema se ligam a proteínas do plasma seminal oriundos das glândulas vesiculares. Essas proteínas em particular, geram o efluxo de colesterol da membrana plasmática, causando desestabilização de membranas e induzindo à capacitação espermática. Dessa forma, as lipoproteínas de baixa densidade evitam o efluxo de colesterol, aumentando a estabilidade da membrana e a resistência a baixas temperaturas (Figura 4).

5.1.3 LEITE

Os fosfolipídios presentes no leite podem agir promovendo modificações estruturais na membrana plasmática do espermatozoide permitindo, com isso, sua adaptação a baixas temperaturas. No leite, os agentes crioprotetores principais seriam as micelas de caseínas que interagiriam com as proteínas do plasma seminal, impedindo o efluxo de fosfolipídios e colesterol da membrana plasmática do espermatozoide.

Outro mecanismo de ação pode estar relacionado com a ligação de várias substâncias

presentes no leite ao cálcio, tais como lecitina e caseína. O cálcio em excesso ou penetrando prematuramente dentro da célula, em caso de fragilidade da membrana, pode levar à desorganização do citoplasma ou inibir certos sistemas enzimáticos. Quando houver uso de leite como componente de meio diluidor de espermatozoides é necessário inativar a enzima lactenina pelo calor (92-95°C por 10 minutos), pois esta pode ser tóxica para os espermatozoides. Dependendo do processo usado para preservação do leite, a inativação desta enzima já foi realizada (leite em pó, leite UHT).

5.1.4 AÇÚCARES

Os açúcares que são adicionados ao diluidor podem atuar como substratos energéticos para os espermatozoides durante a incubação (glicose ou frutose) e como osmólitos para manterem a pressão osmótica do meio e, ainda, podem ter ação crioprotetora (particularmente di e trissacarídeos – a lactose é muito utilizada). A ação crioprotetora é exercida pelo aumento da osmolaridade que estas moléculas propiciam uma vez iniciada a cristalização. Por serem moléculas grandes, não vão penetrar o interior da célula e se acumularão na coluna líquida remanescente no meio extracelular. O aumento da osmolaridade provocará a desidratação da célula, o que é bom desde que não seja em excesso, lembre-se disto. E ainda: estes açúcares no meio extracelular vão ajudar reduzindo o teor de sais nestas soluções aquosas.

A glicose (monossacarídeo) é o açúcar mais utilizado nos extensores como fonte de energia, pois é preferencialmente metabolizada devido à maior afinidade da enzima hexoquinase (enzima responsável pela primeira etapa da glicólise) por esta molécula.

5.2 SUBSTÂNCIAS TAMPÃO

O metabolismo espermático resulta na produção de grande quantidade de metabólitos tóxicos, acarretando o aumento da concentração de íon de hidrogênio e ácido láctico no meio extracelular. Este acúmulo pode causar a morte das células espermáticas devido à drástica diminuição do pH no meio. Assim, os tampões devem ser utilizados para manter o balanço iônico e o pH do diluidor.

Diversas substâncias com poder tampão, dentre elas o citrato de sódio, TRIS (trishidroximetilaminometano) e TES (N-tris(hidroximetil)metil2-aminoetanosulfônico) têm sido utilizadas com sucesso na criopreservação de sêmen.

O citrato de sódio aumenta a diluição da gema de ovo no meio líquido, favorecendo sua ação sobre os espermatozoides e atua ainda, como quelante de cálcio, diminuindo a quantidade deste íon que atravessa a membrana espermática.

5.3 ANTIBIÓTICOS

Apesar dos espermatozoides e secreções das glândulas anexas serem estéreis, estas se contaminam durante o processo de colheita na sua passagem pela uretra, pênis e prepúcio. Outras potenciais fontes de contaminação do sêmen são a gema de ovo de galinha, utilizada nos diluidores, o próprio diluidor, as palhetas, o álcool polivinílico, bem como o nitrogênio líquido em sua fase de vapor.

Desta forma, o controle do crescimento bacteriano no sêmen através da incorporação de antimicrobianos nos diluidores é de grande importância. A associação de penicilina e estreptomicina é a mais utilizada na elaboração de diluidores seminais.

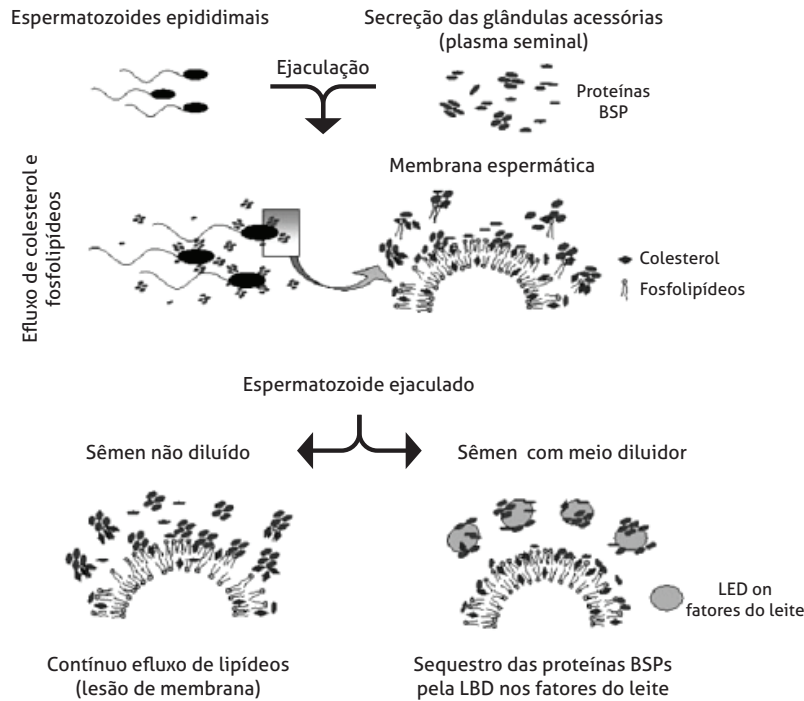


Figura 4. Mecanismo de ação das lipoproteínas de baixa densidade. [Fonte: Adaptado de Manjunath, P. e Thérien, I. Role of seminal plasma phospholipid-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. J Reprod Immunol. Vol 53, p.109-119, 2002]

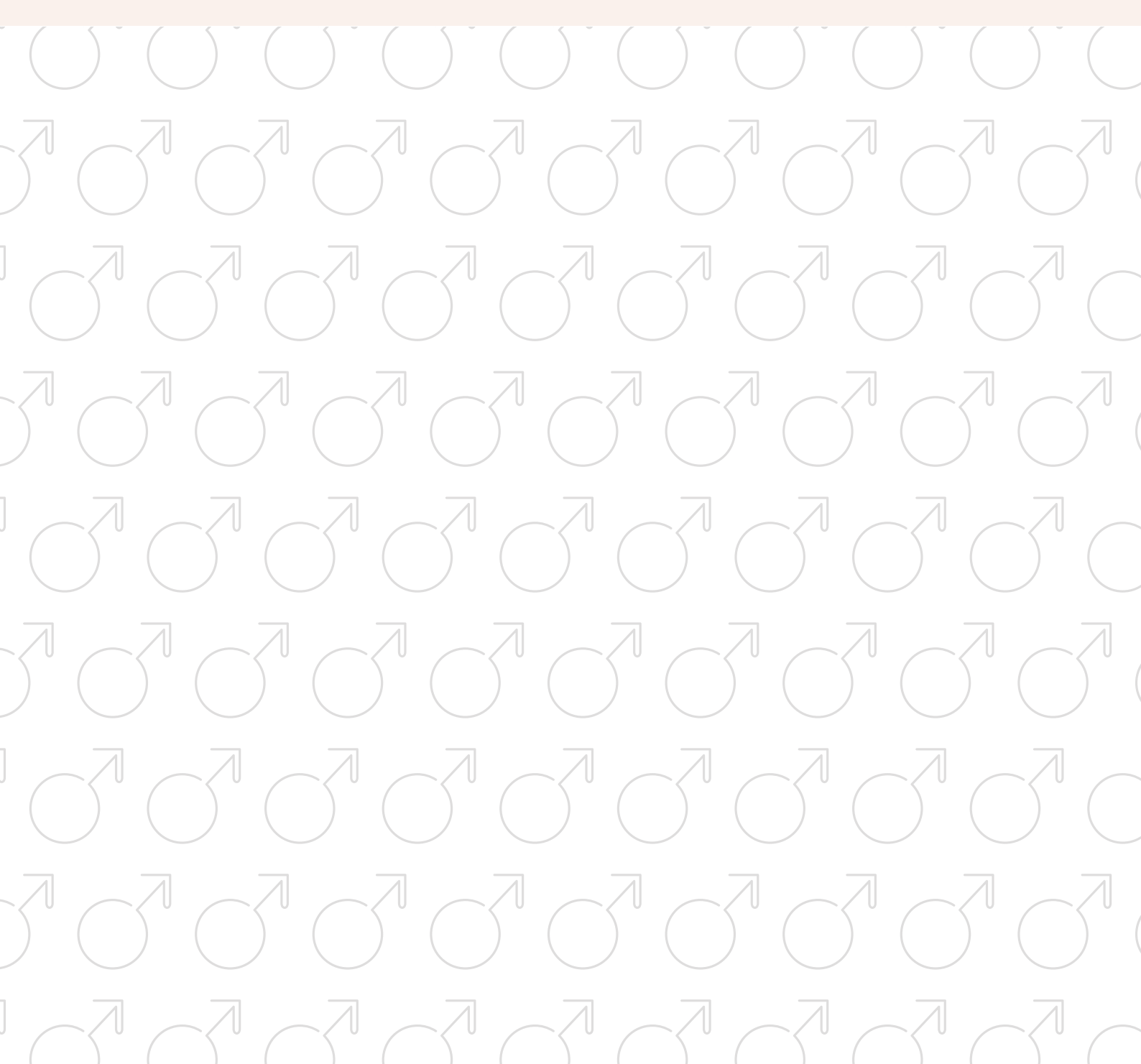
6. CONCLUSÃO

A criopreservação tem como principal objetivo manter a integridade estrutural e a viabilidade celular, após submeter as células à baixa temperatura por período indeterminado. A criopreservação é um processo complexo que depende de várias etapas e do cumprimento de cada uma delas depende a viabilidade da célula ao final do processo.

7. RESUMO

- Todas as membranas celulares têm a mesma estrutura básica: duas camadas de fosfolípidos entremeados por moléculas de colesterol e proteínas estando ligadas em sua superfície moléculas de carboidratos, proteínas, entre outros.
- A membrana plasmática dos espermatozoides de mamíferos apresenta-se organizada em domínios regionais bem delineados que diferem em composição e função. Na cabeça: região acrossomal e região pós-acrossomal. No flagelo: na peça intermediária que cobre a bainha mitocondrial, e na cauda posterior, que cobre as peças principal e terminal da cauda.

- Quando a taxa de resfriamento for rápida demais, fosfolipídios da mesma classe tendem a se agrupar, desarranjando a estrutura da membrana e durante o aquecimento, algumas moléculas perdem a forma de bicamada e formam uma estrutura circular em monocamada, chamada de “hexagonal II ou micela invertida”.
- É necessário congelar a célula espermática de forma lenta o suficiente para causarmos a desidratação necessária, para evitar a formação excessiva de cristais de gelo intracelular, e rápida o suficiente para evitar a desidratação excessiva e o hiper-resfriamento sem, no entanto, permitir a formação de cristais de gelo intracelular em excesso.
- Os extensores ou diluidores contêm basicamente água pura, agentes crioprotetores, substâncias tampão, fonte de substrato para o metabolismo dos espermatozoides e antibióticos.



Referências por capítulo

REFERÊNCIAS

CAPÍTULO 01: DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

- BARSKE, L. A.; CAPEL, B. An avian sexual revolution. **Nature**. v.464, 11, 2010.
- BARSKE, L. A.; CAPEL, B. Estrogen represses SOX9 during sex determination in the red-eared slider turtle *Trachemys scripta*. **Developmental Biology**. v.341, p.305-314, 2010.
- DINAPOLI, L.; BLANCHE, C. SRY and the Standorff in Sex Determination. **Molecular Endocrinology**. v.22, p.1-9, 2008.
- DEWING, P., SHI, T., HORVATH, S., VILAIN, E. Sexually dimorphic gene expression in mouse brain precedes gonadal differentiation. **Mol. Brain. Res.** v.118, p.82-90, 2003.
- DAMIANI, D., Ribeiro, T. M., SETIAN, N. **Sexo Cerebral** – um caminho que começa a ser percorrido. Disponível em: <<http://www.sistemanervoso.com>> Acesso em: 18 de outubro de 2010.
- HRABOVSKY, Z., HUTSON, J. M. Androgen imprinting of the brain in animal models and humans with intersex disorders: review and recommendations. **J. Urol.** v. 168, p.2142-8, 2002.
- JOST, A. Recherches sur La différenciation sexuelle de l'embryon de lapin. **Arch. Anat. Microsc. Morph. Exp.** v.36, p.271-315, 1947.
- KOOPMAN, P. ET AL. Sex Determination and Gonadal Development in Mammals. **Physiol. Rev.** v.87, p.1-26, 2007.
- SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. Current Conceptions, Inc., 2003.
- ZHAO, D.; McBRIDE, D.; McQUEEN, H.A. ET AL. Somatic sex identity is cell autonomous in the chicken. **Nature**. v.468, p.237-242, 2010.

CAPÍTULO 02: ANATOMIA SISTEMA GENITAL

- ARAÚJO, A. C. P.; TEIXEIRA, F. A.; VALENTE, A. L. **Anatomia dos animais de produção**. Universidade Federal de Pelotas, Instituto de biologia, Departamento de Morfologia. Pelotas, 2010.
- CUPPS, P. T. **Reproduction in domestic animal**. Fourth edition, 1991. 670p.
- FRANDSON, R. D. **Anatomia e fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara Koogan, 2ª. edição, 1979. 429p.
- REECE, W. O. **Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals**. Fourth Edition, Wiley-BlackWell, Iowa, USA, 2009. 577p.

CAPÍTULO 03: CONTROLE ENDÓCRINO

BAGU, E. T.; COOK, S.; GRATTON, C. L.; RAWLINGS, N. C. Postnatal changes in testicular gonadotropin receptors, serum gonadotropin, and testosterone concentrations and functional development of the testes in bulls. **Reproduction**. v.132, p.403–411, 2006.

CUNNINGHAM, J. G.; **Tratado de fisiologia veterinária**. 2.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 528, 1999.

FRANÇA, L. R.; CARDOSO, F. M. Duration of spermatogenesis and sperm transit time through the epididymis in the Piau boar. **Tissue and Cell**. v.30, p.573–582, 1998.

HAFEZ, E. S. E. **Reproduction in domestic animals**. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993.

HOLDCRAFT, R. W.; BRAUN, R. E. Hormonal regulation of spermatogenesis. International. **Journal of Andrology**. v.27, p.335–342, 2004.

MCLACHLAN, R. I.; WREFORD, N. G.; O'DONNELL, L.; KRETZER, D. M.; ROBERTSON, D. M. The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. **Journal of Endocrinology**. v.148, p.1–9, 1996.

Senger, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. Current Conceptions edition, Washington, 1997.

SILVEIRA, S. H. F. **Endocrinologia da reprodução do macho bovino**. Universidade Castelo Branco. Monografia de conclusão do curso de Pós-graduação em Produção e Reprodução de Bovinos, Piracicaba, 2006.

SQUIRES, E. J. **Applied animal endocrinology**. CABI Publishing, USA, Massachusetts, 2003.

WAGNER, M. S.; WAJNER, S. M.; MAIA, A. L. The role of thyroid hormone in testicular development and function. **Journal of Endocrinology**. v.199, p.351–365, 2008.

CAPÍTULO 04: ESPERMATOGÊNESE

COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T.; ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHNSON, A.D.; GOMES, W.R.; VANDEMARK, N.L. (Eds.). **The testis**. New York: Academic Press, 1970. v.1, cap.6, p.339–432.

GRISWOLD, M. D. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. **Cell & Developmental Biology**. v.9, p.411–416, 1998.

JOHNSON, L.; THOMPSON, D. L.; VARNER, D. D. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. **Anim. Reprod. Scien**. v.105, p.23–51, 2008.

KRETZER, D. M. Male Reproductive System In: NEILL, J.D.; PLANT, T. M.; PFAFF, D. W.; CHALLIS, J. R. G.; KRETZER, D. M.; RICHARDS, J. S.; WASSARMAN, P. M. **Physiology of Reproduction**. Third Edition. Academic Press is an imprint of Elsevier. United States of America, 2006.

ORTAVANT, R.; COUROT, M.; HOCHEREAU-DE-REVIERS, M. T. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H. H.; CUPPS, P. T. (Eds.). **Reproduction in domestic animals**. 3.ed. New York: Academic Press, Cap.8, p.203-227, 1977.

SHARPE, R. M.; MCKINNELL, C.; KIVLIN, C.; FISHER, J. S. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**. v.125, p.769-784, 2003.

FRANÇA, L. R.; AVELAR, G. F.; ALMEIDA, F. F. L. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. **Theriogenology**. v.63, p.300-318, 2005.

CAPÍTULO 05: ANATOMIA DO ESPERMATOZOIDE

FLESCH, F. M.; GADELLA, B. M. Dynamics of mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. **Biochimica e Biophysica ACTA**. v.1469, p.197-235, 2000.

HOLT, W. V.; VAN LOOK, K. J. W. Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory tests of semen quality. **Reproduction**. v.127, p.527-535, 2004.

MORTIMER, S. T. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. **Humam Reproduction**. v.3, p.403-439, 1997.

SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. Current Conceptions, Inc. 2003.

TURNER, R. M. Moving to the beat: a review of mammalian sperm motility regulation. **Reproduction, Fertlity and Development**. v.18, p.25-38, 2006.

CAPÍTULO 06: MATURAÇÃO E CAPACITAÇÃO

CANOVAS, S.; COY, P. Aspectos moleculares de la fecundación: unión y fusión de gametos. **Revista de investigación clínica**, v.60, p.403-413, 2008.

CHAFFAUX, S. Reproduction of the cat and the dog. In: THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M.; HUNTER, R. (Editors). **Reproduction in Mammals and Man**. Paris: Ellipses, 1993.

FLESCH, M. F.; GADELLA, B. M. Dynamic of the mammalian sperm plasma membrane in the processo of fertilization. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1469, p.197-235, 2000.

McGEADY, T. A.; QUINN, P. J.; FITZPATRICK, E. S.; RYAN, M. T. **Veterinary Embryology**. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2006.

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. Washington: Current Conceptions edition, 1997.

WASSARMAN, P. M.; JOVINE, L.; LITSCHER, E. S. A profile of fertilization in mammals. **Nature Cell Biology**. v.3, p.59-64, 2001.

WASSARMAN, P. M. Gametes, Fertilization, and Embryogenesis In: WASSARMANN, P. M.; NEILL, Jimmy D. **KNOBIL and Neill's Physiology of Reproduction**. Edited by Neill JD. San Diego, CA: Academic, 2006, p. 1415–1482.

CAPÍTULO 07: PUBERDADE

AMANN, R. P. Endocrine Changes Associated with Onset of Spermatogenesis in Holstein Bulls. **J. Dairy Sci.** v.66, p.2606-2622, 1983.

APONTE, P. M; DIRK, G.; ROO; Pedro Bastidas. Testicular development in Brahman bulls. **Theriogenology**. v.64, p.1440-1455, 2005.

BROWN-DOUGLAS, C. G.; FIRTH, E. C.; PARKINSON, T. J.; FENNESSY, P. F. Onset of puberty in pasture-raised Thoroughbreds born in southern hemisphere spring and autumn. **Equine Vet. J.** v.36, p. 499-504, 2004.

FRENEAU, G. E; VALE FILHO, V. R.; MARQUES, A. P. J. R.; MARIA W. S. Puberdade em touros Nelore criados em pasto no Brasil: características corporais, testiculares e seminais e de índice de capacidade andrológica por pontos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.58, p.1107-1115, 2006.

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. Current Conceptions, Impresso XIII, 1997. 281 p.

TATMAN, S. R.; NEUDENDORFF, D. A.; WILSON, T. W.; RANDEL, R. D. Influence of season of birth on growth and reproductive development of Brahman bulls. **Theriogenology**. v.62, p.93-102, 2004.

CAPÍTULO 08: PRINCIPAIS DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM MACHOS

BICUDO, S. D.; SIQUEIRA, J. B.; MEIRA, C. Patologias do sistema reprodutor de touros. **Biológico**. v.69, p.43-48, 2007.

FOLEY, George L. Overview of Male Reproductive Pathology. **Toxicologic Pathology**. v.29, p.49-63, 2001.

KLATT, E. C.; KUMAR, V. **Robbins Review of Pathology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 2000.

MAXIE, M. G. **Pathology of Domestic Animals**. Vol.3. Fifth Edition. Saunders Elsevier Publisher, Chapter 5, 2007.

McGAVIN, M.; ZACHARY, J. **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4a. Ed. Mosby Press, 2006.

MEUTEN, D. J. **Tumors in Domestic Animals**. 4ª ed. Iowa State Press, 2002.

NASCIMENTO, E. & SANTOS, R. L. A. **Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos**. 2ª. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2003. 137p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Veterinary Medicine**. A textbook of the diseases of cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9ª Ed. London: Edit. W. B. Saunders, 2000.

CAPÍTULO 09: SELEÇÃO DE REPRODUTORES

AGUIAR, C. S.; SANTANA, A. F.; SOUZA, E. C. A. et al. Correlação entre circunferência escrotal e medidas corporais de ovinos da raça Santa Inês de 4 a 5 meses de idade. **PUBVET**. v.2, N.8, Ed.19, Art. 208, 2008.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; CARNEIRO, M. A.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Circular Técnica 41**, EMBRAPA, São Carlos, SP, 2005.

BOLIGON, A. A.; SILVA, J. A. V.; SESANA, R. C.; SESANA, J. C.; JUNQUEIRA, J. B.; ALBUQUERQUE, L. G. Estimation of genetic parameters for body weights, scrotal circumference, and testicular volume measured at different ages in Nellore cattle. **J. Anim. Sci.** v.88, p.1215-1219, 2010.

CUNHA, I. C. N. Exame andrológico do cão. **J. Bras. Ciên. Anim.** v.1, p.49-65, 2008.

FAGUNDES, A. K. F.; MOURA, M. R. P.; OLIVEIRA, E. C. S.; SILVA, V. A. Colheita de sêmen de gatos domésticos por meio de eletroejaculação... peculiaridades e desafios. Disponível em: <<http://www.sigeventos.com.br/jeplex/inscricao/resumos/0001/R1743-1.PDF>>. Acesso em 10 de fevereiro de 2012.

FRENEAU, G.E. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.35, p.160-170, 2011.

GAGGINI, T. S.; MURGAS, L. D. S.; ZANGERONIMO, M. G. **Seleção de reprodutores suínos**. Lavras: Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras), MG. Boletim Técnico, nº8, p.1-14, 2008.

GRANADOS, L. B. C.; DIAS, A. J. B.; SALES, M. P. **Aspectos gerais da reprodução de caprinos e ovinos**. Campos dos Goytacazes: Ed. PROEX, UENF (Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro), 2006.

KOURY FILHO, W. et al. Parâmetros genéticos para escore de umbigo e características de produção em bovinos da raça Nelore. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.55, p. 594-598, 2003.

LOAIZA-ECHEVERRI, A. M.; BERGMANN, J. A. G.; TORAL, F. L. B.; OSORIO, J. P.; CARMO, A. S.; MENDONÇA, L. F.; MOUSTACAS, V. S.; HENRY, M. Use of nonlinear models for describing scrotal circumference growth in Guzerat bulls raised under grazing conditions. **Theriogenology**. v.79, p.751-759, 2013.

Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3.ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

MATOS, C. A.; THOMAS, D. L.; NASH, T. G.; WALDRON, D. F.; STOOKEY, J. M. Genetic analyses of scrotal circumference size and growth in Rambouillet lambs. **J. Anim. Sci.** v.70, p.43-50, 1992.

PAULA, N. R. O.; ANDRIOLI, A.; CARDOSO, J. F. S.; SANTOS, D. O.; ELOY, A. M. L. X. Reprodução no Macho Caprino: Análise Básica e Aplicada. **Documento 79**, EMBRAPA, Sobral, CE, 2008.

PEÑA-ALFARO, C. E. Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.35, p.152-153, 2011.

SILVA, M. R.; PEDROSA, V. B.; SILVA, J. C. B.; ELER, J. P.; GUIMARÃES, J. D.; ALBUQUERQUE, L. G. Testicular traits as selection criteria for young Nellore bulls. **J. Anim. Sci.** v.89, p.2061-2067, 2011.

SILVA FILHO, J. M. et al. Utilização de manequim para coleta de sêmen equino e sua influência sobre características reprodutivas do garanhão. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.51, p.499-504, 1999.

CAPÍTULO 10: COLETA E AVALIAÇÃO SEMINAL

BATISTA, A. M.; GUERRA, M. M. P. Novas técnicas para avaliação da qualidade do sêmen caprino. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.34, p.125-132, 2010.

BERNARDI, M. L. Tecnologias aplicadas no exame do ejaculado suíno para a produção de doses de sêmen de alta qualidade. **Acta Scientiae Veterinariae.** v.36, p.5-16, 2008.

FAGUNDES, A. K. F.; MOURA, M. R. P.; OLIVEIRA, E. C. S.; SILVA, V. A. Coleta de sêmen de gatos domésticos por meio de eletroejaculação... peculiaridades e desafios. Disponível em <<http://www.sigeventos.com.br/jepex/inscricao/resumos/0001/R1743-1.PDF>>

FRENEAU, G. E. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.35, p.160-170, 2011.

Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3.ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

MAZIERO, R. R. D.; CRESPILO, A. M.; FREITAS-DELL'AQUA, C. P.; DELL'AQUA JUNIOR, J. A.; PAPA, F. O. Análise de sêmen bovino e sua relação com a fertilidade. **Rev. Bras. Reprod. Anim. Supl.** n.6, p.5-10, 2009.

SILVA FILHO, J. M. et al. Utilização de manequim para coleta de sêmen equino e sua influência sobre características reprodutivas do garanhão. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.51, p.499-504, 1999.

SOUZA, A. F. Avaliação microbiológica do sêmen fresco e congelado de reprodutores caprinos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v.43, p.329-336, 2006.

STORNELLI, M. A. Evaluación de semen en el gato doméstico: análisis de rutina y metodologías especiales felino. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.31, p.135-140, 2007.

CAPÍTULO 11: COMPORTAMENTO SEXUAL

- AZEVEDO, D. M. M. R.; FILHO, R. M.; ALVES, A. A.; ARAÚJO, A. A.; LÔBO, R. N. B. Comportamento sexual de ovinos e caprinos machos: uma revisão. **Pubvet**. v.2, n.6, 2008.
- BLOCKEY, M. A. B. Sexual behaviour of bulls at pasture: a review. **Theriogenology**. v.6, p.387-392, 1976.
- BLOCKEY, M. A. B. Development of a serving capacity test for beef bulls. **Appl. Anim. Ethol**. v.7, p.307-319, 1981.
- CHENOWETH, P.J. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams: A review. **Theriogenology**. v.16, p.155-177, 1981.
- CHEMINEAU, P.; BARIL, G.; LEBOEUF, B.; MAUREL, M. C.; ROY, F.; PELLICER-RUBIO, M.; MALPAUX, B.; COGNIÉ, Y. Implications of recent advances in reproductive physiology for reproductive management of goats. **J. Reprod. Fertil**. v.54, p.129-142, 1999.
- COSTA, M. J. R. P.; SILVA, E. V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim**. v.31, p.172-176, 2007.
- ELLENDORFF, F.; ROTH, E.; SMIDT, D. The influence of FSH, LH and testosterone on the sexual behavior and testicular function of the boar. **J. Reprod. Fertil**. v.21, p.347-352, 1970.
- FORD, J. J.; D'OCCHIO, M.D. Differentiation of sexual behavior in cattle, sheep and swine. **J. Anim. Sci**. v.67, p.1816-1823, 1989.
- HOUPT, D. A. Sexual behavior problem in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.27, p.601-615, 1997.
- LEVIS, D. G.; CHRISTENSON, R. K. An evaluation of three methods assessing sexual behavior in boars. **J. Anim. Sci**. v.75, p.348-355, 1997.
- NETO, J. G.; TEIXEIRA, F. A.; NASCIMENTO, P. V. N.; MARQUES J. A. Comportamento social dos ruminantes. **Revista Eletrônica Nutritime**. v.6, p.1039-1055, 2009.
- OLIVEIRA, C. B.; GUIMARÃES, J. D.; COSTA, E. P.; SIQUEIRA, J. B.; TORRES, C. A. A.; CARVALHO, G. R.; GUIMARÃES, S. E. F. Avaliação do comportamento sexual de touros nelore: comparação entre os testes de libido em curral e do comportamento sexual a campo. **Rev. Bras. Zootec**. v.36, p.32-42, 2007.
- OLIVEIRA, E. C. S.; MARQUES JR, A. P. Endocrinologia reprodutiva e fertilidade da cadela. **Rev. Bras. Reprod. Anim**. v.30, p.11-18, 2006.
- OSBORNE, H.G.; WILLIAMS, L.G.; GALLOWAY, D.B. A test for libido and serving ability in beef bulls. **Aust. Vet. J**. v.47, p.465-467, 1971.
- PACHECO, A.; QUIRINO, C. R. Comportamento sexual dos ovinos. **Rev. Bras. Reprod. Anim**. v.34, p.87-97, 2010.

PACHECO, A.; QUIRINO, C. R.; OLIVEIRA, A. F. M. Avaliação do comportamento sexual de ovinos jovens da Raça Santa Inês, com e sem experiência prévia com fêmeas. **Arch. Latinoam. Prod. Anim.** v.17, p.15-24, 2010.

PINEDA, N., LEMOS, P. F., FONSECA, V. O. Comparação entre dois testes de avaliação do comportamento sexual (libido) de touros Nelore (*Bos taurus indicus*). **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.21, p.29-34, 1997.

PRINCE, E. O. Sexual behavior of large domestic farm animals: an overview. **J. Anim. Sci.** v.61, p.62-74, 1985.

SILVA, E. V. C. Comportamento e eficiência reprodutiva. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.31, p.177-182, 2007.

SIMITZIS, P. E.; DELIGEORGIS, S. G.; BIZELIS, J. A. Effect of breed and age on sexual behavior of rams. **Theriogenology**. v.65, p.1480-1491, 2006.

VALE FILHO, V. R. **Andrologia do touro**. 14 ed. Belo Horizonte: Ed UFMG, 352p, 2007.

VALE FILHO, V. R.; BERGMANN, J. A. G.; ANDRADE, V. J. et al. Classificação andrológica por pontos (CAP), versus libido, na eficiência na fecundação de touros Nelore de 2 e 3 anos de idade, usados em estação de monta bem definida. In: Encontro de Pesquisa da Escola de Veterinária da UFMG, 14., v.1, 1994, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 1994. p.88.

VIU, M. A. O.; FILHO, B. D. O.; LOPES, D. T.; VIU, A. F. M.; SANTOS, K. J. G. Fisiologia e manejo reprodutivo de ovinos: Revisão. **Revista Eletrônica Faculdade de Montes Belos**. v.1, p.79-98, 2006.

CAPÍTULO 12: CRIOPRESERVAÇÃO ESPERMÁTICA

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J. *et al.* **Molecular Biology of the Cell**. 4. ed. 2002. 3786p.

DARIN-BENNETT, A.; WHITE, I. G. Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. **Cryobiology**. v.14, p.466-470, 1977.

FLESCH, F. M.; GADELLA, B. M. Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization. **Biochimica and Biophysica Acta**. v.1469, p.197-235, 2000.

GRAHAM, J. K.; FOOTE, R. H. Effect of several lipids fatty acyl chain length and degree of insaturation on the motility of bull spermatozoa after cold chock and freezing. **Cryobiology**. v.24, p.42-52, 1987.

GONZÁLES, C. I. M.; OBA, E.; BICUDO, S. D. Avaliação do sêmen ovino (*ovis aries*) congelado em palhetas e “pellets” com diferentes meios diluidores. **Rev. Bras. Reprod. Anim.** v.23, p.280-281, 1999.

MANN, T. **The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract**. 1. ed. Londres: Methuen and CO Ltd., 1964. 493p.

NEVES, M. M. Extração das lipoproteínas de baixa densidade da gema do ovo de *Gallus domesticus* e sua aplicação na criopreservação do sêmen canino. – Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2008. 117 f. (Tese de doutorado em Ciência Animal).

PARKS, J. E.; GRAHAM, J. K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. **Theriogenology**. v.38, p.209-222, 1992.

SILVA, M. C.; SNOECK, P. P. N.; SILVAS, S. C. B. *et al.* Efeito da lipoproteína de baixa densidade sobre a viabilidade dos espermatozoides ovinos resfriados. In: 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2008, Gramado. **Anais...** Gramado: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 2008. CD-ROM.

WATSON, P. F. Artificial insemination and the preservation of semen. In: LAMMING, G. E. (Ed). **Marshall's physiology of reproduction**. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, v.2, p.747-869, 1990.

ISBN 978-85-64724-38-9



9 788564 724389