

Análise histométrica do desenvolvimento testicular de cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros

Histometric analysis of testis development in agoutis (*Dasyprocta aguti*) raised in captivity

Antônio Chaves de ASSIS-NETO^{1,5};
Maria Isabel Vaz de MELO⁴;
Maria Acelina Martins de CARVALHO²;
Maria Angélica MIGLINO³;
Moacir Franco de OLIVEIRA³

1 Unidade Diferenciada de Dracena, UNESP, Dracena - SP
2 Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI
3 Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró - RN
4 Pontifícia Universidade Católica, Betim - MG
5 Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo - SP

Resumo

Foi estudado, por meio da histometria, o desenvolvimento testicular em 31 cutias da espécie *Dasyprocta aguti* desde o nascimento até 14 meses de idade. O diâmetro e a área, médios, foram obtidos a partir de 30 seções transversais de cordões e/ou túbulos seminíferos, em cada testículo, utilizando-se sistema de computadorizado de análises de imagem e uma ocular micrométrica Zeiss CPL 10X, acoplada a uma objetiva de 40X. As proporções volumétricas do testículo foram obtidas com o método estereométrico, segundo Elias, Henning e Schwartz¹. O diâmetro tubular médio apresentou crescimento lento desde o nascimento até os oito meses de idade, nas duas metodologias empregadas. Quando foi usada a ocular micrométrica observou-se que, a partir de nove meses, o diâmetro tubular teve um crescimento acelerado, chegando a duplicar o seu valor, se comparado com grupo etário que o antecedia. A proporção volumétrica dos cordões testiculares e túbulos seminíferos cresceu gradualmente, atingindo, aos nove meses, seu valor máximo (86,50%). As células de Leydig apresentaram proporção volumétrica decrescente, e seus maiores valores foram expressivos do nascimento até quatro meses de idade ($7,00 \pm 1,77\%$ a $9,55 \pm 0,64\%$) e mínimos a partir de nove meses, tendendo ainda a uma estabilização. O estroma diminuiu com a evolução da idade caindo bruscamente a partir da puberdade. Conclui-se que o diâmetro dos cordões testiculares e túbulos seminíferos apresentou maior crescimento, coincidindo com o início da puberdade e a proporção volumétrica das células de Leydig encontrou-se, respectivamente, mais alta e mais baixa no mesmo período.

Palavras-chave

Cutia.
Desenvolvimento pós-natal.
Histometria.
Testículo.
Túbulo seminífero.

Correspondência para:

ANTONIO CHAVES DE ASSIS NETO
Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP
Avenida Prof. Orlando Marques de Paiva, 87
Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira
05508-270 - São Paulo - SP
e-mail: miglino@usp.br

Recebido para publicação: 12/09/2002
Aprovado para publicação: 06/05/2003

Introdução

Atualmente muitos estudos com animais silvestres vêm sendo desenvolvidos, no entanto, poucos tratam dos aspectos relativos à biologia reprodutiva do macho. A biometria e a histometria do testículo podem auxiliar na caracterização da puberdade e maturidade sexual, além de dar suporte aos estudos comparativos com animais de outras espécies. A medida do diâmetro tubular é um parâmetro que pode ser abordado como indicador da atividade espermatogênica em estudos sobre o desenvolvimento testicular, influência sazonal na espermatogênese, efeitos da idade avançada e estudos experimentais e toxicológicos. A proporção volumétrica do parênquima testicular de mamíferos é bastante variável, sendo um dos principais fatores responsáveis pela diferença observada para a eficiência na produção espermática nas diversas espécies^{2,3}.

O objetivo do presente estudo foi de avaliar histometricamente o desenvolvimento testicular de cutias por meio das análises das proporções volumétricas entre os compartimentos do parênquima testicular e o diâmetro dos cordões testiculares e túbulos seminíferos.

Material e Método

Foram utilizadas 9 cutias machos da espécie *Dasyprocta aguti*, oriundas do Núcleo de Estudos e Preservação de Animais Silvestres do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí e 22 cutias machos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Escola Superior de Agricultura de Mossoró (ESAM), Mossoró, Rio Grande do Norte. Totalizaram-se 31 animais divididos em

13 grupos etários, cada um com 2 a 3 animais. As datas das coletas foram previamente programadas e realizadas entre o período de 06/01/2000 a 31/10/2001.

Após as orquiectomias o testículo esquerdo de cada animal foi seccionado em três regiões (extremidade capitata, porção média e extremidade caudata), e, posteriormente, estes fragmentos do parênquima testicular colocados em solução de Bouin por um período de 24 horas. Depois de desidratados pela passagem em álcoois de concentração crescente e diafanizados em xilol, foram incluídos em parafina, de acordo com técnica de rotina⁴. Utilizaram-se cortes de 5 mm de espessura, os quais foram corados por hematoxilina-eosina (HE).

O diâmetro e a área médios foram obtidos a partir de 30 secções transversais de cordões e/ou túbulos seminíferos, em cada testículo, utilizando-se um sistema de analisador de imagem da Kotron Bildanalyse (mini-mop), ampliadas 1476X (25x e 1,0x). As secções transversais foram escolhidas ao acaso mediante varredura horizontal, sendo utilizadas aquelas que apresentaram o contorno o mais circular possível. Foram também medidos o diâmetro cordonal e tubular do testículo utilizando-se ocular micrométrica Zeiss CPL 10 x, acoplada a uma objetiva de 40x. A comparação dos diâmetros cordonais e tubulares médios, realizados pelo analisador de imagem e pela ocular micrométrica, foram feitos aplicando o teste “t” de Student.

As proporções volumétricas do testículo foram obtidas por meio do método estereométrico, segundo Elias, Henning e Schwartz¹, utilizando-se ocular integradora Zeiss, com cinco linhas horizontais e 25 pontos equidistantes, acoplada a objetiva de 100 x. Foram examinados em cada

testículo 40 campos, escolhidos ao acaso por meio de varredura horizontal. As proporções volumétricas, descritas em percentagem, foram calculadas sobre um total de 1000 pontos por testículos. Os componentes testiculares registrados foram: túbulo seminífero (túnica própria + epitélio tubular + lume tubular), células intersticiais de Leydig e estroma (incluindo células e fibras do tecido conjuntivo, vasos sanguíneos e linfáticos e nervos) e espaçamentos (espaços linfáticos e possíveis presença de artefatos).

Resultados e Discussão

Diâmetros cordonais e tubulares

As informações referentes ao diâmetro e a área dos cordões testiculares e túbulos seminíferos estão dispostas na Tabela 1 e Figura 1. O diâmetro tubular médio apresentou crescimento lento desde o nascimento até os 8 meses de idade, nas duas metodologias empregadas. A partir de 9 meses o diâmetro tubular acelerou seu crescimento, chegando a duplicar o seu valor, se comparado com grupo etário que o antecedia, quando utilizado a ocular micrométrica. Essas modificações acompanharam não somente o peso e o volume testicular, mas também os demais parâmetros testiculares (comprimento, diâmetro e perímetro), por ocasião do estabelecimento da puberdade. De acordo com Gier e Marion⁵ o rápido aumento no diâmetro dos cordões testiculares coincide com o aumento de espermatócitos primários, o que foi observado no presente trabalho. A curva de crescimento tubular, na cutia assemelha-se às observações em outras espécies de mamíferos^{6,7,8,9,10}. Esses achados contrapõem o crescimento

tubular encontrado em cobaias por Tse¹¹ pois, de acordo com o autor, o crescimento do túbulo seminífero, com base na análise do diâmetro tubular, diminui na fase puberal.

Os diâmetros tubulares médios, à puberdade, apresentaram $132,90 \pm 8,04$ e $149,71 \pm 6,23$ mm de diâmetro, respectivamente medido pelo analisador de imagem e ocular micrométrica. O diâmetro tubular médio feito pelo último método apresentou-se maior ($p < 0,05$). Ferreira e Ohashi¹² encontrou para cutia *Dasyprocta sp* com idade a puberdade entre 8 a 9 meses, diâmetro médio de $130,6 \pm 6,0$ mm, utilizando ocular micrométrica. Estes resultados aproximaram dos encontrados nesta pesquisa usando o analisador de imagem. Foram aplicados os testes para averiguar o melhor método empregado. Verificou-se que os diâmetros medidos pela ocular micrométrica ($88,78\mu\text{m} \pm 41,18\mu\text{m}$) e os avaliados pelo analisador de imagem ($112,36\mu\text{m} \pm 31,48\mu\text{m}$) foram diferentes, sendo este último o método mais adequado, por apresentar maior estabilidade em relação à média do grupo.

A área dos cordões testiculares e túbulos seminíferos, até os 8 meses de idade, mostrou-se crescente, aumentou de forma acentuada aos 9 meses de idade e daí em diante apresentou sinais de estabilização.

Proporção volumétrica dos compartimentos do parênquima testicular

A proporção volumétrica dos compartimentos intertubular e tubular do parênquima testicular de cutia, do nascimento aos 14 meses de idade, estão representadas na Tabela 2 e nas Figuras 2 e 3.

A proporção volumétrica dos cordões testiculares e túbulos seminíferos cresceu gradualmente,

Figura 1

Diâmetro¹ (mm) e área médio (mm²) do túbulo seminífero de cutia (*D. aguti*), de 0 a 14 meses de idade - São Paulo - 2002

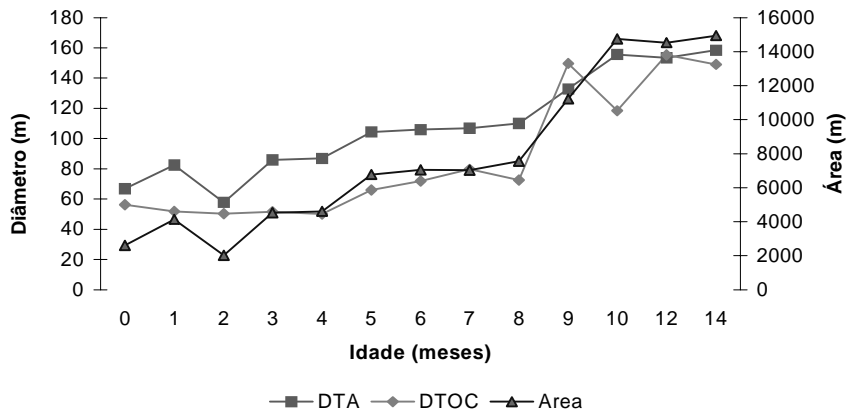


Figura 2

Proporções volumétricas (%) do compartimento tubular do testículo de cutia (*D. aguti*), de 0 a 14 meses de idade - São Paulo - 2002

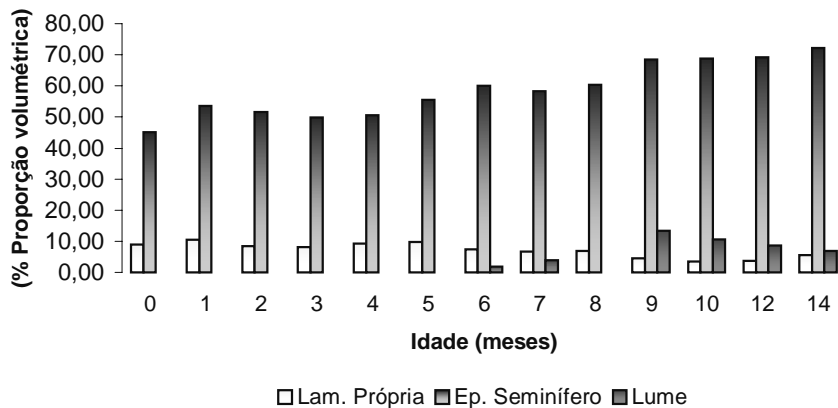
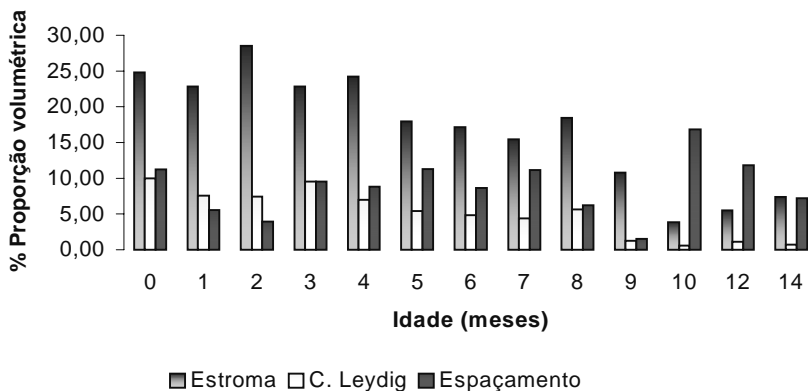


Figura 3

Proporções volumétricas (%) do compartimento intertubular do testículo de cutia (*D. aguti*), de 0 a 14 meses de idade - São Paulo - 2002.



atingindo aos 9 meses seu valor máximo (86,50%). Este comportamento foi observado, nas mesmas fases do desenvolvimento testicular aqui estudado, em outras espécies de mamífero⁶, no entanto, não foi evidenciado estabilização. O compartimento tubular da cutia representou mais de 54,00% do parênquima testicular em todos os grupos etários, não divergindo dos valores encontrados em capivaras^{13,14}, cateto e queixada¹⁵.

Analisando as células de leydig observou-se que a proporção volumétrica apresentou decrescente, sendo que seus maiores valores foram expressivos do nascimento até 4 meses de idade ($7,00 \pm 1,77$ a $9,55 \pm 0,64$ %) e mínimos a partir de 9 meses, tendendo ainda a uma estabilização. Os animais de 4 meses ainda se encontravam na fase impúbere do desenvolvimento sexual. França e Cardoso⁸ e Setchell¹⁶ concordam que nos meses mais próximos do nascimento (fase impúbere) há uma etapa de maior proporção de células de Leydig no parênquima testicular e que segue uma regressão contínua até a puberdade, fato de ocorrência generalizada em mamíferos. Em capivaras adultas as células de Leydig ocupam 1/3 do parênquima testicular¹⁴. O estroma diminuiu com o evoluir da idade, caindo bruscamente a partir da puberdade, fato também observado em suíno⁸. Ainda, de acordo com os autores, a diminuição progressiva do estroma a partir do nascimento está correlacionada com a grande proliferação das células de Leydig no período impúbere, seguida pelo aumento do volume dos túbulos seminíferos à época da puberdade. O padrão de organização do tecido intersticial da cutia enquadra-se na primeira categoria proposta por Fawcett, Neaves e Flores¹⁷. Nesta categoria estão as espécies que têm um volume relativamente pequeno de

células de Leydig (1,00-5,00% do volume testicular), pouco tecido conjuntivo intersticial e extensos sinusóides linfáticos peritubulares ou espaços linfáticos a qual estão incluídos os roedores de um modo geral, assim como a capivara¹⁴. Na presente pesquisa, apesar de não termos individualizados estes espaços linfáticos com exatidão, os mesmos foram contados juntamente com os artefatos que por ventura apareciam nos cortes histológicos em função do uso do fixador (Bouin) utilizado.

Os animais pré-púberes (6 a 8 meses de idade) apresentaram 40,00 a 90,00% dos cordões testiculares em processo de luminação, mostrando uma assincronia no parênquima testicular da cutia. Os animais de 8 meses de idade mostravam-se mais atrasados no desenvolvimento testicular, quando comparado ao grupo etário de 7 meses, no entanto prevaleceu uma certa uniformidade no parênquima testicular. A assincronia da espermatogênese é relatada em mamíferos domésticos, assim descreve França e Cardoso⁸ em suínos e Melo¹⁸ em búfalos.

Conclusões

Considerando os resultados encontrados pode-se concluir que:

O diâmetro dos túbulos seminíferos apresentou maior crescimento coincidindo com o estabelecimento da puberdade.

As medidas dos cordões testiculares e túbulos seminíferos feitas pelo um sistema de análise de imagem é um bom parâmetro para avaliar a atividade espermatogênica em estudos do desenvolvimento testicular.

Na puberdade, 09 meses de idade, a proporção volumétrica dos túbulos seminíferos foi mais alta e a de células de Leydig mais baixa.

Agradecimentos

À Capes pela concessão de bolsas de estudo;

Ao Núcleo de Preservação de Animais Silvestres da Universidade Federal do Piauí e ao Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da

Escola Superior de Agricultura de Mossoró por terem cedido os animais para esta pesquisa; e

À Professora Doutora Isabel Cristina Bolleli da Universidade Estadual Paulista de Jaboticabal/SP pela cessão de laboratórios.

Summary

The testicular development in 31 Agoutis, of the *Dasyprocta aguti* species, from the birth up to 14 months of age was studied through the histometric analysis. Mid diameter and the mean area, in each testicle, were obtained through 30 crosscuts of the funiculus and/or the seminiferous tubule, by means of a computerized system for image analysis and a Zeiss CPL 10X ocular micrometric device, coupled to an objective lens of 40X. Testicles volume proportions were obtained through the stereometric method, according to Elias, Henning and Schwartz¹. Tubule medium diameter presented a slow growth from the birth to the eight months of age, for both used methodologies. When the ocular micrometric device was used it was observed that, beginning in the ninth month, the tubule diameter had an accelerated growth getting to duplicate its value if compared with the preceded age group. The volume proportion of the testicle cord and the seminiferous tubule grew gradually, reaching its maximum value (86,50%) on the ninth month. The Leydig cells presented a decreasing volume proportion, and their largest values were expressive from the birth up to four months of age ($7,00 \pm 1,77\%$ to $9,55 \pm 0,64\%$) and a minimum value, starting from nine months, still tending to stabilize. The stroma decreased with the development of age and fall abruptly when the puberty starts. It is concluded that the diameter of the testicles cords and seminiferous tubule presented a larger growth coinciding with the start of puberty and the volume proportion of the Leydig cells was lower in the same period.

Key-words

Agouti.
Postnatal development.
Histometry.
Testis.
Seminiferous tubule.

Referências

- 1 - ELIAS, H.; HENNIG, A.; SCHWARTZ, D. E. Stereology: applications to biomedical research. *Physiol. Rev.*, v. 51, n. 1, p. 158-199, 1971.
- 2 - RUSSELL, L. D., REN, H. P., SINHA - HIKIM, I., SCHULZE, W., SINHA-HIKIM, A. P. A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *The American Journal of Anatomy*, v. 188, n. 1, p. 21-30, 1990b.
- 3 - FRANÇA, L. R.; RUSSELL, L. D. The testis of domestic animals. In: REGADERA, J.; MARTINEZ-GARCIA. Ed. **Male reproduction**. Madrid: Churchill Livingstone, 1998. p. 197-219.
- 4 - LUNA, L. G. **Manual of histology staining methods of the Armed Forces Intitute of Pathology**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.
- 5 - GIER, H. T.; MARION, G. B. Development of the mammalian testis. In: JOHNSON, A. D.; GOMES, W. R.; VANDEMARK, N. L. **The testis**. New York: Academic Press, 1970. v. 1, p. 2-43.
- 6 - GODINHO, H. P.; CARDOSO, F. M.

- Desenvolvimento sexual de porcos yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. **Arquivo Escola de Veterinária UFMG**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351 – 361, 1979.
- 7 - CURTIS, S. K.; AMANN, R. P. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein Bull. **Journal of Animal Scienc.**, v. 53, n. 6, p. 1645–1657, 1981.
- 8 - FRANÇA, L. R.; CARDOSO, F. M. Desenvolvimento testicular de suíno. II. Análise histométrica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 3, p. 181–192, 1988b.
- 9 - MARTINS, M. R. F. B. **Estudo morfológico do desenvolvimento pós-natal do testículo do hamster champanha (*Mesocricetus auratus*) observações de microscopia óptica**. 1988. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 1988.
- 10 - SILVA, S. C. B. **Caracterização histológica e seminal do desenvolvimento sexual de caprinos saanem, criados em sistema intensivo**. 2000. 117 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2000.
- 11 - TSE, M. C. P. Morfologia do desenvolvimento pós-natal do testículo e epidídimo da cobaia (*Cavia porcellus*, L.). 1991. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 1991.
- 12 - FERREIRA, A. C. S.; OHASHI, O. M. Determinação das fases do desenvolvimento reprodutivo de cutias (*Dasyprocta spp*) criadas em cativeiros através da quantificação espermatogênica. In: CONGRESSO DE INTEGRAÇÃO DA BIOLOGIA DA REPRODUÇÃO, 2001, Ribeirão Preto. São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 2001. p. 184.
- 13 - MOREIRA, J. R.; CLARCKE, J. R.; MACDONALD, D. W. The testis of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **J. Mamm.**, v. 78, n. 4, p. 1096-1100, 1997.
- 14 - PAULA, T. A. R. **Análise histométrica e funcional do testículo de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) adulta**. 1999. 84 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) - Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1999.
- 15 - PAULA, T. A. R.; NAVARRO, R. D. Componentes testiculares de queixada (*Tayassu pecari*) e cateto (*Tayassu tajacu*). **Ver. Brás. Reprod. Anim.**, v. 25, n. 2, p. 206-207, 2001.
- 16 - SETCHELL, B. P. **The mammalian testis**. London, Paul Elek, 1978, 450 p.
- 17 - FAWCETT, D. W.; NEAVES, W. B., FLORES, M. N. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biol. Reprod.**, v. 9, n. 5, p. 500-532, 1973.
- 18- MELO, M. I. V. **Desenvolvimento testicular e dinâmica da espermatogênese de búfalos mestiços de 10 a 24 meses de idade**. 1991. 66 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 1991.