

Anais da

Reunião Anual da

VABRAA

Associação Brasileira de Andrologia Animal



VIRTUAL

ABRIL
2021

ABRAA

Associação Brasileira de Andrologia Animal



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MATO GROSSO DO SUL**

REITOR

Marcelo Augusto Santos Turine

VICE-REITORA

Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo

Obra aprovada pelo
CONSELHO EDITORIAL DA UFMS
Resolução nº 23 - COED/AGECOM/UFMS,
de 19 de abril de 2021.

CONSELHO EDITORIAL

Rose Mara Pinheiro (presidente)
Além-Mar Bernardes Gonçalves
Alessandra Borgo
Ana Rita Coimbra Motta de Castro
Antonio Conceição Paranhos Filho
Antonio Hilario Aguilera Urquiza
Cristiano Costa Argemon Vieira
Delasnieve Miranda Daspert de Souza
Elisângela de Souza Loureiro
Elizabeth Aparecida Marques
Geraldo Alves Damasceno Junior
Marcelo Fernandes Pereira
Maria Lígia Rodrigues Macedo
Rosana Cristina Zanelatto Santos
Vladimir Oliveira da Silveira

Projeto Gráfico, Editoração Eletrônica
Secretaria da Editora UFMS

A revisão linguística e ortográfica
é de responsabilidade dos autores

Direitos exclusivos
para esta edição



Secretaria da Editora UFMS
Av. Costa e Silva, s/nº | Bairro Universitário
Campo Grande - MS, 79070-900
Fone: (67) 3345-7203
e-mail: sedit.agecom@ufms.br

Editora associada à



Associação Brasileira das
Editoras Universitárias
ISBN: 978-65-86943-44-3
1ª edição
Formato digital (2021)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Diretoria de Bibliotecas – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal (5. : 2021 : Campo Grande, MS).

Anais da V Reunião Anual da ABRAA[recurso eletrônico] : Associação Brasileira de Andrologia Animal : abril 2021 : virtual / organizadores Alexandre Rossetto Garcia, José Roberto Potiens, Maurício Antonio Silva Peixer. -- Campo Grande, MS : Ed. UFMS, 2021.

Modo de acesso: <https://abraa.org.br/index.php/publicacoes/>
Textos em português e inglês.
Inclui bibliografias.
ISBN 978-65-86943-44-3

I. Andrologia animal - Congressos. I. Garcia, Alexandre Rossetto. II. Potiens, José Roberto. III. Peixer, Maurício Antonio Silva. IV. Associação Brasileira de Andrologia Animal.

CDD (23) 636.0824

Bibliotecária responsável: Wanderlice da Silva Assis – CRB 1/1279

Cronologia da incidência de anomalias morfológicas espermáticas em touros búfalos (*Bubalus bubalis*) sob estresse térmico de curta duração

Arnaldo Algaranhar Gonçalves¹
algaranhar.vet@gmail.com

Alexandre Rossetto Garcia²

Gabriela Santos da Cruz¹

Simone do Socorro Damasceno Santos¹

Otávio Mitio Ohashi¹

Abstract: The study aimed to evaluate the effect of short-term heat stress on sperm morphology, relating them to the stages of spermatogenesis. Adult buffalo bulls underwent scrotal insulation (day 0; 48 hours). Semen samples were collected every 7 days (day -7 to day 49) and analyzed. Heat stress destabilized scrotal thermoregulation (36.1 ± 0.3 °C and 35.5 ± 2.3 °C, after 24 and 48 hours of insulation) and returned to baseline five days after removal of the stressor stimulus (33.2 ± 0.6 °C). The sequential expression of the morphological defects showed tail defects (days 7 to 14), cytoplasmic droplets (days 14 to 28) and sperm head defects (day 28). Hyperthermia more severely damaged sperm in epididymal transit, elongated sperm and secondary spermatocytes. Thus, buffalo bulls presented a peculiar manifestation of sperm morphological defects after short-term stress, indicating an important difference regarding the bovine species. Therefore, during the andrological evaluation, allometric extrapolation between these species should be avoided.

Keywords: scrotal insulation, spermiogram; sperm defects.

Palavras-chave: espermograma, defeitos espermáticos, insulação escrotal.

Introdução - A espermatogênese é um processo altamente coordenado por sucessivas divisões celulares e diferenciação das células germinativas [1]. Nos bubalinos, a espermatogênese dura aproximadamente 38 dias e é constituída por 4,5 ciclos do epitélio seminífero, os quais são divididos em: espermatogônias tipo A, espermatogônias intermediárias tipo B, espermatogônias tipo B, espermatócitos jovens, espermatócitos primários velhos, espermatócitos secundários, espermátides com núcleo redondo e espermátides com núcleo alongado. O tempo aproximado para formação e diferenciação das espermatogônias é de 13,9 dias, dos espermatócitos primários e secundários é de 13,5 dias, enquanto as espermátides requerem 10,6 dias [2]. Em condição de hipertermia, os espermatócitos em paquíteno e em diplóteno, e as espermátides mais jovens são os estágios celulares mais afetados em humanos [3], ratos [4] e bovinos [5]. Sabe-se que existem diferenças nos animais de produção quanto à resposta

¹ Universidade Federal do Pará.

² Embrapa Pecuária Sudeste.

ao estresse térmico [6], contudo há carência de informações científicas específicas para búfalos domésticos. Por isso, o objetivo do estudo foi avaliar como o estresse térmico de curta duração induzido por insulação escrotal em touros bubalinos afeta a morfologia espermática observadas no sêmen *in natura* relacionando os achados morfológicos aos diferentes estágios do processo espermatogênico e maturação das células espermáticas.

Material e Métodos – Foram utilizados cinco touros bubalinos adultos (*Bubalus bubalis*) Murrah. As coletas de sêmen foram realizadas a cada sete dias, em duas etapas, sendo uma etapa anterior (dia -7 ao dia 0) e outra posterior (dia 2 ao dia 49) ao procedimento de insulação escrotal [7]. Os touros receberam a bolsa insuladora no dia 0, concomitantemente, a qual foi retirada após 48 horas de insulação escrotal e o estresse calórico desestabilizou a termorregulação escrotal. A temperatura da superfície escrotal foi controlada por termometria digital durante todo o período de insulação, sendo registrado valores médios de $32,1 \pm 0,2$ °C (imediatamente antes da insulação), e de $36,1 \pm 0,3$ °C e $35,5 \pm 2,3$ °C, 24 horas e 48 horas após a manutenção da bolsa insuladora, respectivamente. As células espermáticas foram avaliadas individualmente em microscopia de contraste de fase (1000X) quanto à morfologia. Cada defeito foi avaliado, e as células categorizadas como portadoras de: defeito de cabeça, peça intermediária e cauda [8]. As gotas citoplasmáticas foram classificadas em proximal e distal, dependendo de sua posição na célula [9]. As variáveis de resposta foram analisadas por ANOVA, adotando uma análise longitudinal com medidas repetidas no tempo. A comparação das médias foi realizada pelo Teste de Duncan, com nível de significância $P \leq 0,05$.

Resultados e Discussão - O estresse térmico teve efeito negativo sobre a morfologia espermática (Figura 1). Houve aumento significativo na incidência dos defeitos de cauda ($P < 0,05$) logo após sete dias do desafio térmico, comprovando que a hipertermia escrotal causa efeitos deletérios nos espermatozoides que se encontravam em processo de maturação epididimária [10]. Essa manifestação se manteve prevalente até o 14º dia após o estresse térmico escrotal ($P < 0,05$), demonstrando que o incremento térmico não fisiológico pode causar desalinhamento da bainha mitocondrial ou fraturas axonemais nos espermatozoides [11].

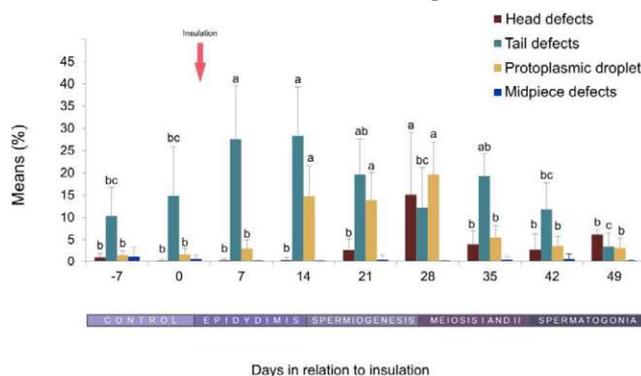


Figura 1. Média (\pm desvio padrão) dos defeitos morfológicos espermáticos de cabeça, peça intermediária, cauda e gotas citoplasmáticas em sêmen de búfalos, após estresse térmico escrotal induzido (seta vermelha).

lha). Indicação nos dias de coleta de sêmen correspondentes às etapas espermatogênicas antes (controle) e após a insulação escrotal (epidídimo, espermiogênese, meiose I e II e espermatogônia). Valores dentro da mesma categoria de defeito com sobrescritos distintos diferem significativamente ($P < 0,05$).

A segunda mudança expressiva na manifestação de defeitos morfológicos espermáticos foi a ocorrência de gotas citoplasmáticas aderidas à peça intermediária. Esse tipo de defeito indica que houve dano às espermatídes e aos espermátócitos secundários, uma vez que sua manifestação ocorreu entre 14 e 28 dias após o estresse calórico, respectivamente. A migração das gotas citoplasmáticas também está relacionada ao ambiente epididimário e, quando há falhas durante a espermatogênese, os espermatozoides tornam-se menos responsivos à maturação que deveria ocorrer no epidídimo [12]. A última categoria de anormalidades a se manifestar de maneira relevante foram os defeitos de cabeça. Essas anormalidades foram derivadas da ação da hipertermia no momento em que os espermátócitos se encontravam em fase de meiose II ou quando as espermatogônias estavam em processo de divisão mitótica, ainda na camada basal dos túbulos seminíferos. Dentre as anomalias detectadas na cabeça do espermatozoide, prevaleceram os defeitos de acrossoma. Isso se deu possivelmente devido à interrupção na biogênese acrossomal durante a meiose dos espermátócitos e que pode estar relacionados a prejuízos às enzimas modificantes das histonas, como as histonas metiltransferases, que participam na atividade de transcrição para formação do acrossoma [13].

Considerações Finais – O estresse térmico escrotal de curta duração teve efeitos deletérios na morfologia espermática, e a hipertermia prejudicou as células da linhagem germinativa, em diferentes estágios de divisão e diferenciação celular. As células germinativas mais sensíveis à hipertermia de curta duração foram os espermatozoides em maturação epididimária, as espermatídes alongadas e os espermátócitos primários. Essa característica fez com que a cronologia de expressão das anomalias morfológicas espermáticas fosse peculiar nos touros bubalinos, com manifestações de defeitos morfológicos de cauda, gota citoplasmática e de cabeça espermática, nesta sequência. Em função da diferença relativa à espécie bovina, sugere-se que atenção seja dada durante a avaliação andrológica dos touros bubalinos, de modo a evitar extrapolação alométrica ou comparações diretas entre essas espécies.

Referências bibliográficas

- [1] NISHIMURA, H; HERNALTA, S. W. L. Spermatogenesis. *Curr. Biol.*, v. 27, p. 979-1001, 2017.
- [2] SHARMA, A. K; GRUPTA, R. C. Duration of seminiferous epithelial cycle in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). *Anim. Reprod. Sci.*, v. 3, p. 217-224, 1980.
- [3] CARLSEN, E; ANDERSSON, A. M; PETERSEN, J. H; SKAKKEBAEK, N. E. History of febrile illness and variation in semen quality. *Hum. Reprod.*, v.18, p.2089-2092, 2003.
- [4] LUE, Y. H; HIKIM, A. P; SWERDLOFF, R. S; IM, P; *et al.* Single exposure to heat induces stages-specific germ cell apoptosis in rats: role of intratesticular testosterone on stage specificity. *Endocrinology.*, v. 140, p. 1709-1717, 1999.
- [5] RAHMAN, M. B.; VANDAELE, L.; RIJSSELAERE, T.; MAES, D. *et al.* Scrotal insulation and its relationship to abnormal morphology, chromatin protamination and nuclear shape of spermatozoa in Holstein-Friesian and Belgian Blue Bulls. *Theriogenology.*, v. 76, p. 1246-1257, 2011.

- [6] KAHWAGE, P. R.; ESTEVES, S. N.; JACINTO, M. A. C; BARIONI JUNIOR, W. *et al.* High systemic and testicular thermolytic efficiency during heat tolerance test reflects better semen quality in rams of tropical breeds. *Int. J. Biometeorol.*, v. 61, n. 10, p. 1819-1829, 2017.
- [7] GONÇALVES, A. A; GARCIA, A. R; ROLIM FILHO, S. T; DA SILVA, J. A. R; *et al.* Scrotal thermoregulation and sequential sperm abnormalities in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) under short-term heat stress. *J. Thermal. Biol.*, v. 96, 2021.
- [8] BARTH, A. D.; OKO, R. J. *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. 1.ed. Ames: Iowa State University Press; 1989.
- [9] GARCÍA-VÁZQUEZ, F. A; HERNÁNDEZ-CARAVACA, I; MATÁS, C; SORIANO-ÚBEDA, C; ABRIL-SÁNCHEZ, S. *et al.* Morphological study of boar sperm during their passage through the female genital tract. *J. Reprod. Develop.*, v. 61, p. 407-413, 2015.
- [10] HAMILTON, T. R; MENDES, C. M; DE CASTRO, L. S; DE ASSIS, P. M. *et al.* Evaluation of lasting effects of heat stress on sperm profile and oxidative status of ram semen and epididymal sperm. *Oxid Med Cell Longev.*, 2016:1687657.
- [11] LUÑO, V; MARTÍNEZ, F; BOROBIA, M; H'ORNDLER, C; GIL, L. Sperm tail defects and abnormal testicular blood flow in a Beagle dog: a case report. *Top. Companion Anim. Med.*, v. 38, p. 1-4, 2020.
- [12] COOPER, T. G. The epididymis, cytoplasmic droplets and male fertility. *Asian. J. Androl.*, v. 13, p. 130-138, 2011.
- [13] ZUO, X.; RONG, B.; LI, L.; LV, R. The histone methyltransferase SETD2 is required for expression of acrosin-binding protein 1 and protamines and essential for spermiogenesis in mice. *J. Biol. Chem.*, v. 293, n. 24, p. 9188-9197, 2018.

Agradecimentos: À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão de bolsa de estudos a AAG. ARG é bolsista de produtividade do CNPq.