

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

LETÍCIA DE ALMEIDA LEÃO VAZ JAKOBSEN

**MORFOLOGIA ESPERMÁTICA EM DIFERENTES PORÇÕES DO TRATO
REPRODUTIVO DE GATOS DOMÉSTICOS (*Felis silvestris catus*, Linnaeus, 1758)**

UBERLÂNDIA

2021

LETÍCIA DE ALMEIDA LEÃO VAZ JAKOBSEN

**MORFOLOGIA ESPERMÁTICA EM DIFERENTES PORÇÕES DO TRATO
REPRODUTIVO DE GATOS DOMÉSTICOS (*Felis silvestris catus*, Linnaeus, 1758)**

Monografia apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial da disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof. Dra. Teresinha Inês Assumpção

UBERLÂNDIA

2021

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 OBJETIVO	7
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
3.1 Aparelho reprodutor do gato	7
3.2 Espermatogênese	8
3.3 Maturação espermática	8
3.4 Técnicas de recuperação de espermatozoides do epidídimo	9
3.5 Análises do sêmen	10
3.6 Métodos de avaliação espermática	11
4 MATERIAL E MÉTODOS	11
4.1 Animais	11
4.2 Coleta do sêmen	12
4.3 Avaliação morfológica do sêmen	13
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
6 CONCLUSÕES	16
REFERÊNCIAS	17

RESUMO

O objetivo deste estudo foi caracterizar a morfologia das células espermáticas de gatos domésticos obtidos dos testículos, epidídimos e ductos deferentes, visando conhecer a maturação espermática na espécie. O conjunto testículo/epidídimo/ducto deferente de 10 animais foram obtidos através da orquiectomia eletiva no projeto de esterilização cirúrgica do HV/UFU. Os órgãos foram dissecados e separados em quatro porções – testículos, cabeça e corpo dos epidídimos, cauda dos epidídimos e ductos deferentes. Os testículos foram cortados longitudinalmente e lavados e as demais porções foram fatiadas e também lavadas para obtenção dos espermatozoides. A avaliação morfológica utilizou lâminas coradas com vermelho congo e rosa bengala, verificando a porcentagem de anormalidades individuais das células. A porcentagem média de alterações dos espermatozoides encontradas no testículo, cabeça/corpo do epidídimo, cauda do epidídimo e ducto deferente foram de 69,1%, 64,3%, 58,0 % e 67,4%, respectivamente. Os espermatozoides dos gatos apresentaram alta taxa de anormalidades morfológicas, com diferentes alterações para cada defeito ao longo do trato reprodutivo, especialmente após a passagem pelo epidídimo, mostrando a maturação espermática.

Palavras chaves: Reprodução, gatos, testículo, epidídimo, maturação espermática.

ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the morphology of sperm cells from domestic cats obtained from the testes, epididymis and vas deferens, in order to know the sperm maturation in the species. The testis/epididymis/vas deferens of 10 animals were obtained through elective orchiectomy in the surgical sterilization project of the HV/UFU. The organs were dissected and separated into four portions – testes, head and body of the epididymis, tail of the epididymis and vas deferens. The testicles were cut longitudinally and washed and the remaining portions were sliced and also washed to obtain sperm. The morphological evaluation used slides stained with Congo Red and Bengal Rose dyes, checking the percentage of individual cell abnormalities. The average percentage of sperm alterations found in the testis, head/body of the epididymis, tail of the epididymis and vas deferens were 69.1%, 64.3%, 58.0% and 67.4%, respectively. Sperm from cats showed a high rate of morphological abnormalities, with different alterations for each defect along the reproductive tract, especially after passing through the epididymis, showing sperm maturation.

Key words: Reproduction, cats, testis, epididymis, sperm maturation.

1 INTRODUÇÃO

Os gatos (*Felis silvestris catus*) convivem com os humanos há aproximadamente 10.000 anos. Ao longo do tempo ele foi amado e odiado em diferentes períodos da humanidade, e nos dias atuais, está prestes a se tornar o animal de estimação mais popular do século XXI. De acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET, 2018), em 2018 havia 23,9 milhões de gatos nas casas brasileiras e 54,2 milhões de cães, e foi demonstrado que, com a taxa de crescimento da população de gatos, esta deve ultrapassar a de cães em alguns anos.

Para suprir essa demanda crescente pela companhia de gatos domésticos, crescem o número de gatis especializados na reprodução das diferentes raças. Assim como acontece com a reprodução assistida de outras espécies de animais, as pesquisas sobre a reprodução de gatos devem ser aprofundadas para se evitar perdas econômicas, pois ainda são poucos os estudos nesta espécie. É de grande importância voltar à atenção para o estudo desde a origem, na espermatogênese e, a partir daí, ampliar o conhecimento para as tecnologias de ponta. As espécies de felinos selvagens ameaçadas de extinção podem se beneficiar do conhecimento obtido em estudos com gatos domésticos, pois estes são modelos experimentais para o estudo da reprodução de espécies selvagens (VIEIRA et al., 2009).

A espermatogênese, sequência de eventos que resulta na formação de espermatozoides, nos gatos dura em torno de 46 dias (FRANÇA e GODINHO, 2003). A qualidade dos ejaculados é muito variável, o que tem grande relação com sua fertilidade, pois qualquer fator capaz de alterar a espermatogênese resulta na produção de espermatozoides com alterações morfológicas. Após sua produção são transportados até o epidídimo onde ocorre o processo de maturação espermática que envolve intensas alterações morfológicas e bioquímicas (ROBAIRE et al., 2006). Durante essa maturação ao longo do epidídimo, os espermatozoides adquirem motilidade progressiva, ocorre a remoção de espermatozoides com anormalidades por fagocitose e adquirem o potencial para sobrevivência e sucesso na fertilização (ROBAIRE et al., 2006).

Espermatozoides epididimários são uma boa fonte de material genético, dada a sua qualidade e estágio de maturação. A técnica de recuperação de espermatozoides de epidídimos em gatos que passaram por esterilização cirúrgica ou que vieram a óbito é de suma importância para avanços nas pesquisas sobre a reprodução da espécie, assim como preservação de germoplasma nos felídeos selvagens (TSUTSUI et al., 2000; MACENTE et al., 2012).

A recuperação de espermatozoides do epidídimo de animais mortos é uma técnica importante, pois os gametas podem ser utilizados para estudos morfológicos, serem criopreservados, bem como serem usados em outras técnicas reprodutivas. Além disso, o estudo das

mudanças ocorridas no espermatozoide durante o trajeto pelo epidídimo permite o desenvolvimento e a melhoria de técnicas reprodutivas (TURRI et al., 2014).

Assim, é importante conhecer as características morfológicas dos espermatozoides nas diversas porções do trato reprodutivo, ou seja, conhecer a maturação espermática nos gatos, para que se tenha cada vez mais sucesso no manejo reprodutivo deste animal e para se ter sucesso em técnicas de reprodução assistida.

2 OBJETIVO

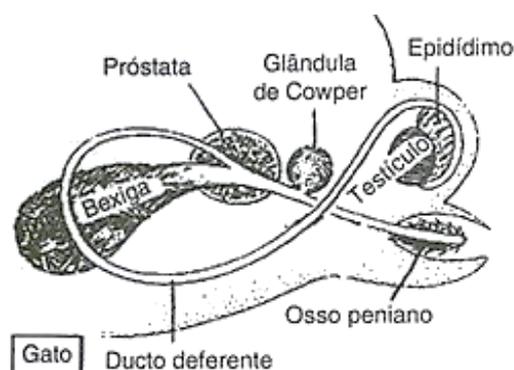
O objetivo desse estudo foi caracterizar os aspectos morfológicos de espermatozoides de gatos domésticos obtidos dos testículos, epidídimos e ductos deferentes, visando conhecer a maturação espermática na espécie.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Aparelho reprodutor do gato

O aparelho reprodutivo do macho felino consiste em testículos, epidídimos, ductos deferentes, próstata, glândulas bulbouretrais e pênis (figura 1). Os testículos estão localizados dentro do escroto na região perineal do gato e estão conectados ao organismo pelo cordão espermático formado pelo ducto deferente, artéria e veia testicular, vasos linfáticos e plexo nervoso (LITTLE, 2015). Nos gatos, o epidídimo é dividido em cabeça, corpo e cauda. Em relação ao testículo, a cabeça do epidídimo fica localizada dorso cranialmente, o corpo na porção dorso lateral e a cauda na região dorso caudal. A cauda do epidídimo passa medialmente sobre a superfície testicular e posteriormente dá início ao ducto deferente, que irá desembocar na uretra, permitindo assim a passagem das células espermáticas para o meio exterior na ejaculação (JOHNSTON et al., 2001; LIMA, 2015).

Figura 1 - Aparelho reprodutivo do gato macho. Fonte: Reece (2006).



Os espermatozoides são produzidos nos túbulos seminíferos e são transportados para dentro do epidídimo através dos ductos eferentes. A cabeça e o corpo e fornecem o ambiente para a maturação dos espermatozoides e a sua cauda proporciona o armazenamento temporário das células espermáticas antes da ejaculação (REECE, 2006).

3.2 Espermatogênese

A produção espermática ou espermatogênese ocorre dentro dos túbulos seminíferos no testículo durante toda a vida reprodutiva do animal. É um processo cíclico, altamente organizado e complexo, pelo qual as espermatogônias, células germinativas imaturas, desenvolvem-se, dando origem aos espermatozoides (MEYER, 2013). O epitélio que constitui as paredes dos túbulos seminíferos contém as espermatogônias que originam os espermatócitos primários e secundários, espermátides e espermatozóides (BANKS, 1992).

A espermatogênese envolve (1) a espermatocitogênese, que consiste na divisão mitótica seguida da (2) meiose, que resulta em células germinativas haplóides, e (3) espermiogênese que compreende a diferenciação das espermátides, células arredondadas haplóides, para formar os espermatozoides (REECE, 2006). No gato doméstico, oito estágios ou associações celulares são identificados no ciclo do epitélio germinativo, sendo a duração total da espermatogênese em média de 46,8 dias, tendo por base que a espermatogênese total é de 4,5 ciclos, com uma duração média de 10,4 dias para cada estágio (FRANÇA e GODINHO, 2003; MEYER, 2013).

3.3 Maturação espermática

A maturação espermática é avaliada pelo seu efeito final no gameta masculino que são a aquisição de motilidade, habilidade de reconhecer e ligar-se à zona pelúcida e de fundir-se ao oócito. Essas diferentes propriedades são adquiridas progressivamente e à medida que os espermatozoides atravessam o epidídimo (GATTI et al., 2004).

O epitélio epididimário possui funções secretoras e absorptivas que criam um ambiente luminal específico para o processo de maturação espermática. As alterações espermáticas relacionadas ao processo de maturação iniciam-se nas porções da cabeça e corpo do epidídimo e continuam ocorrendo conforme o trânsito dos espermatozoides através do trato reprodutor masculino e feminino até a interação e fertilização do oócito (ROBAIRE et al., 2006; MEYER, 2013).

No interior do epidídimo, que é um ducto longo e contorcido, o meio ao redor do esperma é completamente renovado e suas proteínas e outros componentes químicos são modificados pela atividade secretória do epitélio tubular (YANAGIMACHI, 1994; GATTI ET AL., 2004). A membrana plasmática da célula espermática é profundamente modificada, ocorre absorção e

integração de proteínas, e alguns eventos enzimáticos modificam a superfície como a glicosilação e desglicosilação de proteínas específicas (DACHEUX et al., 2003; TULSIANI, 2003; GATTI et al., 2004).

Ao longo do epidídimo há várias mudanças nas características morfológicas e funcionais. A cabeça e corpo do epidídimo são responsáveis pela aquisição da motilidade progressiva dos espermatozoides e a capacidade de fecundar, já a cauda é responsável pelo armazenamento de espermatozoides, sendo que a aquisição da capacidade de fecundação, quando em condições normais, finaliza-se somente quando os espermatozoides chegam na cauda do epidídimo (PINHO et al., 2015). Uma modificação morfológica importante dos espermatozoides é a migração da gota citoplasmática, um remanescente do citoplasma associado ao espermatozoide testicular. Ao longo do caminho da cabeça ao corpo, essa gota migra da base da cabeça do gameta até o final da peça intermediária do flagelo, podendo se soltar do espermatozoide no fluido da cauda do epidídimo ou durante a ejaculação (GATTI et al., 2004).

3.4 Técnicas de recuperação de espermatozoides do epidídimo

A técnica de recuperação de espermatozoides de epidídimos de gatos é de suma importância para avanços nas pesquisas de preservação de germoplasma, principalmente para felídeos selvagens (TSUTSUI et al., 2000; MACENTE et al., 2012). Os métodos mais comuns de colheita de espermatozoides epididimários em felídeos incluem a técnica de fatiamento e lavagem do epidídimo após a orquiectomia ou *post mortem*.

Várias técnicas de colheita de espermatozoides viáveis do epidídimo já foram descritas: lavagem retrograda (MARKS et al., 1994), por fatiamento da cauda do epidídimo (FERNÁNDEZ-SANTOS et al., 2009), por flutuação (YU e LEIBO, 2002) ou compressão por pinças hemostáticas (SAVI et al., 2015).

Segundo Martinez-Pastor et al. (2006), a colheita de espermatozoides da cauda do epidídimo através do fluxo retrógrado é a técnica mais indicada, pois as amostras obtidas tem maior número de células, apresentam um menor nível de contaminação e são de melhor qualidade, porém possui a limitação devido ao tamanho do epidídimo. Já Fernández-Santos et al. (2009) recomendam o fatiamento da cauda do epidídimo com sequencial pressão e lavagem da mesma, o que produzirá uma elevada concentração de células espermáticas. A técnica de flutuação consiste na dissecação do epidídimo onde são realizados cortes e os fragmentos do epidídimo misturados com um diluidor no intuito dos espermatozoides migrarem para o meio de diluição e facilitarem sua recuperação (EMERENCIANO et al. 2013; LIMA, 2015).

Yu e Leibo (2002) descreveram a técnica de fatiamento como método de preferência para animais de pequeno porte como os gatos, onde o epidídimo é cortado ou fatiado e lavado para que os espermatozoides sejam recuperados. Tamayo - Canul et al. (2011) descrevem também uma técnica similar a essa na qual se faz numerosos cortes na cauda do epidídimo e pressiona para o extravasamento do líquido epididimário.

3.5 Análises do Sêmen

A análise do sêmen é essencial para a avaliação de fertilidade de machos felídeos, mas devido ao pequeno volume do ejaculado do gato, a execução dos procedimentos de diagnósticos ficam limitados. No espermograma de rotina, o sêmen é avaliado pelos parâmetros macroscópicos como aparência e volume e pelos parâmetros microscópicos como motilidade, morfologia, concentração e viabilidade (ZAMBELLI e CUNTO, 2006). A aparência do sêmen deve ser homogênea e de coloração branco-leitoso, sendo que cores diferentes podem indicar alguma patologia ou contaminação por urina. A motilidade é avaliada em porcentual de 0 a 100% e o vigor em escala de 0 a 5 (ZAMBELLI e CUNTO, 2006).

A avaliação do sêmen pode ser usada em casos de suspeita de infertilidade, para a confirmação da puberdade em machos jovens, como parte da inseminação artificial e programa de congelamento do sêmen (VIEIRA et al., 2009). Para serem considerados potencialmente férteis os espermatozoides devem ter morfologia, atividade metabólica e membranas plasmáticas normais, sendo que a alta frequência de espermatozoides morfologicamente anormais ou a alta incidência de um único defeito podem reduzir a fertilidade, pois a alteração morfológica é uma das características que mais se correlaciona com fertilidade (ARRUDA et al., 2011).

As anormalidades morfológicas são classificadas de diversas formas, sendo que algumas classificações dividem as alterações de acordo com a região da célula onde a mesma ocorreu como: cabeça, peça intermediária ou cauda. Outras simplesmente dividem os defeitos em primários e secundários ou defeitos maiores e menores (HOWARD e PACE, 1988; ARRUDA et al., 2011). De acordo com a CBRA (2013) a classificação oficial de anormalidades de espermatozoides usada hoje é a de Blom (1972), que classifica as anormalidades em defeitos maiores e menores. Os defeitos maiores são anormalidades de cabeça, acrossoma, peça intermediária e cauda e provocam uma alta redução na fertilidade e podem ser causados por patologias nos testículos e/ou epidídimos, enquanto os defeitos menores que são os de cabeça isolada, gotas citoplasmáticas e cauda dobrada e causam uma baixa redução na fertilidade. De acordo com Zambelli e Cunto (2006) as anormalidades de espermatozoides mais comuns em gatos são cabeça piriforme, micro e macrocefalia, anormalidade de acrossoma, cabeça ou cauda dupla, abaxial, defeito de peça intermediária, gota citoplasmática proximal e distal, cabeça isolada normal, retroaxial.

Os gatos são frequentemente afetados pela teratospermia, condição esta que está associada com redução da variação genética e baixa concentração de testosterona circulante, sendo verificado mais de 60% dos espermatozoides com morfologias anormais (ideal é $< 30\%$) (HOWARD, 1993; ZAMBELLI e CUNTO, 2006; VILLAVERDE et al., 2008). Nos gatos domésticos, a morfologia espermática também tem sido relacionada à fertilidade *in vitro*, pois ejaculados com mais de 60% de alterações morfológicas resultam em taxas menores de penetração da zona pelúcida quando comparados com ejaculados de boa qualidade (HOWARD et al., 1991; VILLAVERDE et al., 2008).

3.6 Métodos de avaliação espermática

Para a avaliação da morfologia espermática, as técnicas mais comumente utilizadas são a lâmina corada e a câmara úmida, em microscópio de contraste de fase ou interferência diferencial. Os métodos de coloração mais usados são esfregaços de sêmen corados com rosa bengala, vermelho congo e eosina-nigrosina (CBRA, 2013).

Para o esfregaço corado, faz-se o esfregaço do sêmen e coloração de acordo com o protocolo de cada corante. Para fazer o esfregaço utiliza-se uma lâmina inclinada no ângulo de 45 graus, a gota é puxada ao longo da lâmina-base, evitando assim lesões na célula espermática. Se o sêmen for fresco, a lâmina deve estar previamente aquecida em 37° C. A lâmina é avaliada a um aumento de 1000X sob imersão em microscópio de campo claro, devendo ser contadas um mínimo de 200 células e anotados os defeitos de forma e estrutura (CBRA, 2013).

Para a preparação em câmara úmida utiliza-se uma gota de sêmen colocada em uma lâmina limpa e seca cobrindo-a com uma lamínula que é pressionada suavemente para retirar excesso de líquido. A lâmina deve ser observada em um microscópio de contraste de fase ou de interferência de fase com aumento de 1000X. Deverá ser contado um mínimo de 200 células e anotados os defeitos de forma e estrutura (CBRA, 2013).

Para o gato doméstico, demonstrou-se que a preparação úmida permite uma melhor avaliação da morfologia espermática sem a presença dos artefatos induzidos pelo processo de coloração (ZAMBELLI e CUNTO, 2006; SCHÄFER e HOLZMANN, 2000; VILLAVERDE et al., 2008).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foi coletado o conjunto testículo/epidídimo/ducto deferente de 10 machos adultos de gatos domésticos, sem raça e idade definidas, provenientes do Projeto de Controle Populacional de

Animais de Estimação pelo método de esterilização cirúrgica, realizado nas dependências do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

4.2 Coleta do sêmen

Após a orquiectomia, os testículos/epidídimos/ductos deferentes dos gatos foram levados resfriados para o laboratório de Reprodução Animal da UFU. Em seguida foi feita uma lavagem dos órgãos com soro fisiológico, para remover qualquer resíduo de sangue. As estruturas do trato reprodutivo foram dissecadas e separadas em quatro porções: testículos (T), cabeça/corpo do epidídimo (CC), cauda do epidídimo (CAU) e ducto deferente (DD), como mostra a figura 2.

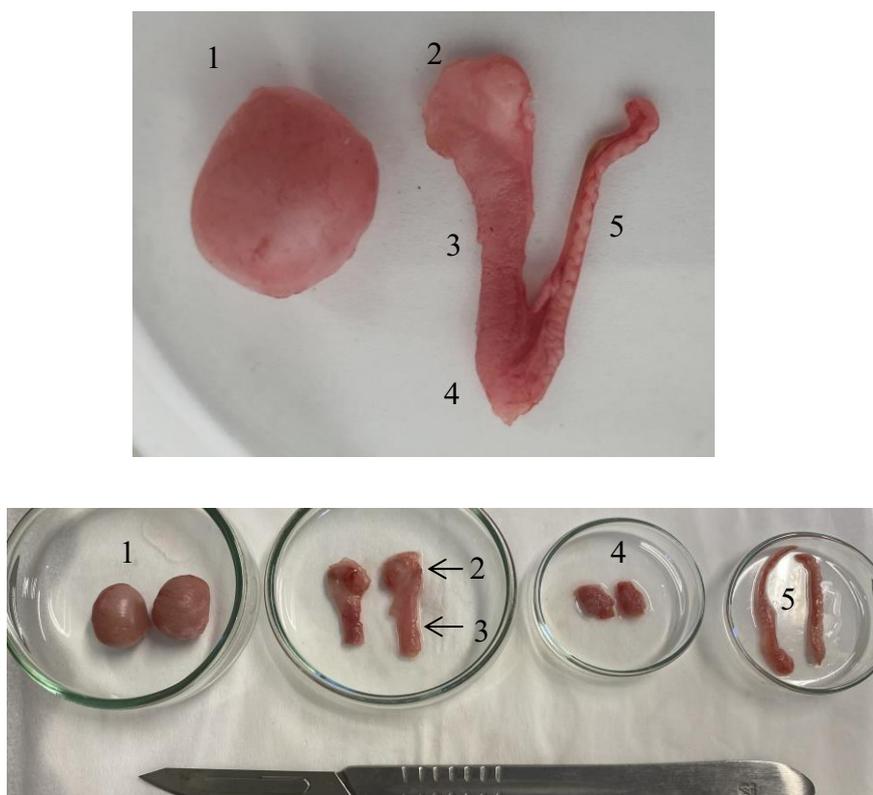


Figura 2. Dissecação dos testículos e epidídimos dos gatos. Testículo (1), cabeça do epidídimo (2), corpo do epidídimo (3), cauda do epidídimo (4) e ducto deferente (5). Fonte: Arquivo pessoal.

Os testículos receberam um corte longitudinal e foram lavados internamente com solução de formol salina tamponada. Separadamente a cabeça/corpo do epidídimo, a cauda do epidídimo e os ductos deferentes foram fatiados finamente e lavados com o objetivo de liberar os espermatozoides, também com a solução de formol salina tamponada (figura 3). Os material das lavagens foram recolhidos e identificados em tubos eppendorf de 2 ml.

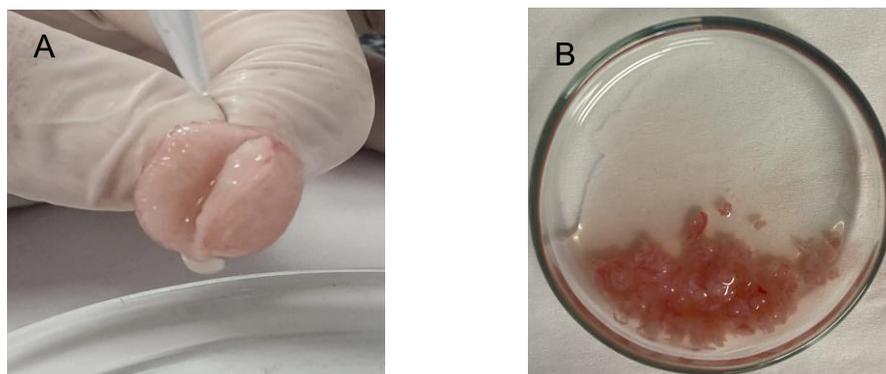


Figura 4: Técnicas de extração de células espermáticas. A) Testículo com incisão longitudinal medial sendo lavado com solução de formol salina. B) Técnica de fatiamento na cabeça/corpo, cauda do epidídimo e ducto deferente. Fonte: Arquivo pessoal.

4.3 Avaliação morfológica do sêmen

A avaliação morfológica do sêmen foi realizada utilizando o método de esfregaço corado sob microscopia óptica, verificando a porcentagem de anormalidades dos espermatozoides em sua cabeça, peça intermediária e cauda. A coloração utilizada foi a de vermelho congo. A técnica consiste em fazer o esfregaço usando apenas o sêmen diluído. Após secar, a lâmina é mergulhada por 90 segundos na solução saturada de vermelho congo, lavada cuidadosamente e seca. Depois, a lâmina é mergulhada em solução aquosa de violeta genciana por 30 segundos, lavada delicadamente e seca (figura 5). Outro método de coloração utilizado foi o de rosa bengala, no qual 5 μ L de sêmen foi misturado à mesma quantidade de corante na lâmina, feito o esfregaço e seco antes da análise microscópica (CBRA,2013).

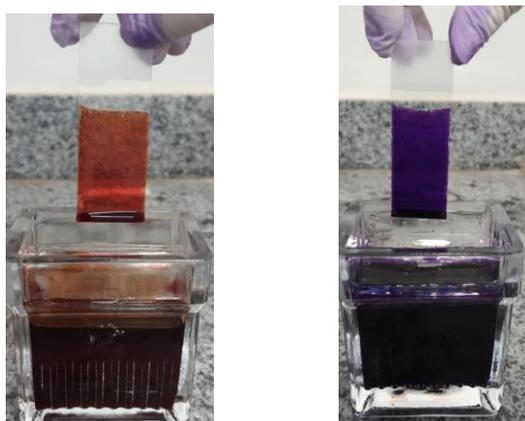


Figura 5 - Técnica de coloração Vermelho Congo. Fonte: Arquivo pessoal.

As lâminas foram examinadas em aumento de 1000 X ao microscópio. Em cada lâmina foram contadas 100 células espermáticas e foram classificadas de acordo com as recomendações do Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal (CBRA, 2013). Os espermatozoides foram classificados em defeitos maiores e defeitos menores.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de corte/lavagem do testículo e de fatiamento/lavagem do epidídimo e ducto deferente foram eficientes para recuperação de células espermáticas para as análises. Fernández-Santos et al. (2009) e Mota-Filho e Silva (2012) também relataram sucesso na colheita usando o mesmo método.

O sêmen dos gatos apresentaram alta taxa total de anormalidades, com média geral de 64,70% (tabela 1). De acordo com Pukazhenthil et al. (2006), a condição de teratospermia é prevalente entre as espécies de felídeos, sendo que eles apresentam em média uma produção maior de 60% de espermatozoides morfologicamente anormais.

A tabela 1 mostra as porcentagens de alterações morfológicas verificadas nas quatro porções analisadas nos animais estudados.

Tabela 1 - Médias (\pm DP) das alterações morfológicas dos espermatozoides no testículo, cabeça/corpo do epidídimo, cauda do epidídimo e ducto deferente de gatos (em porcentagem).

ANORMALIDADE (%)	CABEÇA E CORPO			
	TESTÍCULO	DO EPIDÍDIMO	CAUDA DO EPIDÍDIMO	DUCTO DEFERENTE
Acrossoma	4,1 \pm 4,95	1,8 \pm 2,57	2,6 \pm 3,3	2,3 \pm 3,8
Cabeça delgada	5,5 \pm 7,67	2,9 \pm 4,3	2,2 \pm 4,26	2,1 \pm 2,84
Cabeça isolada normal	4 \pm 2,82	8,5 \pm 10,2	9,7 \pm 9,48	14,4 \pm 16,87
Cabeça isolada patológica	1 \pm 2,2	0,7 \pm 1,63	0,7 \pm 1,56	2,2 \pm 2,93
Cauda dobrada	2,2 \pm 1,68	7,6 \pm 4,9	8 \pm 5,71	6,8 \pm 4,23
Cauda enrolada	3,2 \pm 2,34	3 \pm 5,05	3,5 \pm 4,64	6 \pm 9,07
Cauda fortemente enrolada	11 \pm 9,09	11,8 \pm 6,4	8,1 \pm 6,57	21,2 \pm 9,69
Contorno anormal	4,6 \pm 7,12	1,6 \pm 1,77	2,4 \pm 3,68	1,2 \pm 1,75
Forma teratológica	0,3 \pm 0,48	0,4 \pm 0,69	0,5 \pm 0,97	0,1 \pm 0,31
Defeito de peça intermediária	23,4 \pm 6,89	17,4 \pm 10,3	11,7 \pm 8,11	9,2 \pm 7,3
Gota citoplasmática distal	0,2 \pm 0,63	0,9 \pm 1,52	3,7 \pm 4,32	1 \pm 1,24
Gota citoplasmática proximal	7,4 \pm 4,97	6,1 \pm 4,72	2 \pm 2,66	0,4 \pm 0,69
Subdesenvolvido	2,1 \pm 2,5	0,8 \pm 1,03	0,4 \pm 0,51	--
Gigante	--	0,2 \pm 0,63	--	0,1 \pm 0,31
Abaxial	0,1 \pm 0,31	0,6 \pm 0,96	2,5 \pm 6,24	0,4 \pm 1,26
TOTAL	69,1	64,3	58,0	67,4

A figura 6 mostra as principais alterações morfológicas verificadas nos espermatozoides dos animais estudados.

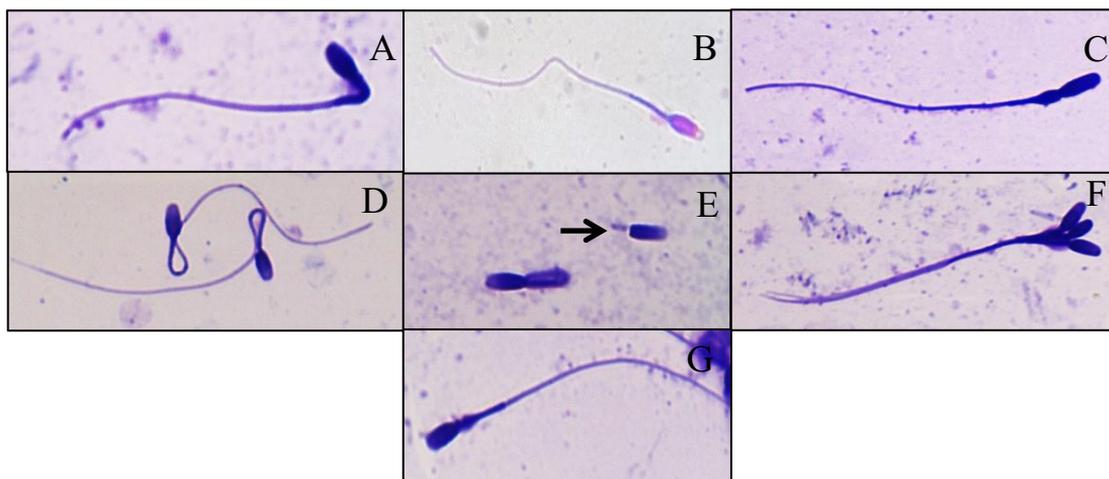


Figura 6 - Alterações morfológicas verificadas nos espermatozoides dos gatos. A - Defeito de peça intermediária, B - Defeito de acrossoma, C - Cabeça delgada com defeito de peça intermediária, D - Cauda enrolada e cauda dobrada, E - Cabeça isolada normal (seta) e Cauda fortemente dobrada ou enrolada, F - Teratológico, G - Gota citoplasmática proximal. Fonte: Arquivo pessoal.

As anormalidades mais comuns encontradas no sêmen do gato doméstico neste estudo foram: defeito de peça intermediária, cauda fortemente dobrada e enrolada, cabeça isolada normal e cauda dobrada (tabela 1). Os achados de Zambeli e Cunto (2006) são semelhantes aos desta pesquisa quanto ao defeito de peça intermediária, cauda dobrada e cabeça isolada normal. Também foram encontrados também uma quantidade significativa de cauda enrolada, defeito de acrossoma, cabeça delgada e contorno anormal, coincidindo também com os estudos de Vieira et al. (2009).

Foi observado que durante o trajeto do sêmen pelo trato reprodutivo do gato, desde sua origem nos testículos até o ducto deferente, as anormalidades de células espermáticas como defeito de peça intermediária, gota citoplasmática proximal, cabeça delgada e subdesenvolvido sofreram um decréscimo (tabela 1), corroborando com os estudos de Áxner (2006), que observou grande quantidade de defeitos de cabeça e de peça intermediária os quais reduzem durante sua passagem pelo epidídimo.

Também observamos que houve um aumento da quantidade de defeitos de cauda durante a passagem pelo epidídimo (tabela 1), o que é considerado comum de acordo com Moore et al. (1983) e Áxner et al. (1998) que afirmam que é no epidídimo que os espermatozoides adquirem motilidade e isso explica o aumento de anormalidades como cauda dobrada, enrolada e fortemente dobrada e enrolada. Nos gatos domésticos foi demonstrado um decréscimo na proporção dos espermatozoides com anormalidades de cabeça, acrossoma e peça intermediária durante o trânsito epididimário, em contraste, foi detectado um pequeno aumento na proporção de espermatozoides com anormalidades

de cauda, que pode ser causado pela influência osmótica do fluido seminal (TEBET et al., 2006; MARTINS, 2007).

A figura 7 mostra as porcentagens de defeitos morfológicos verificadas nas quatro porções analisadas nos animais estudados.

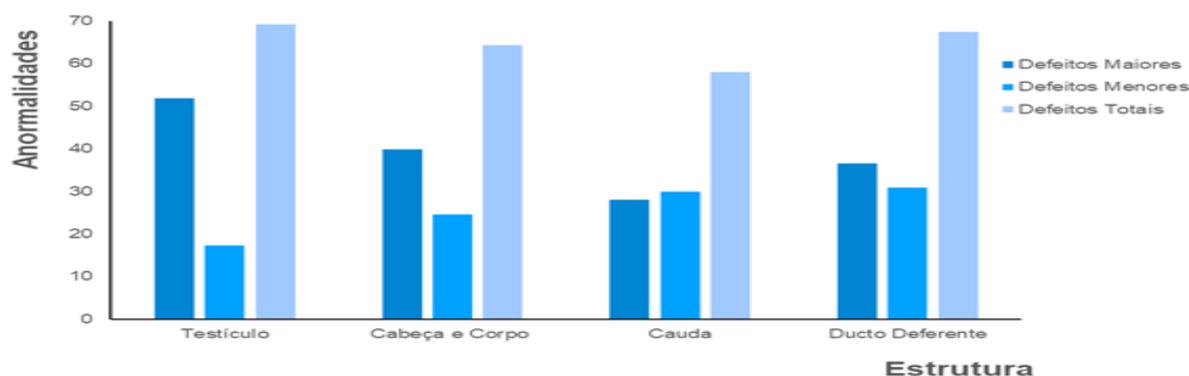


Figura 7 – Gráfico com as porcentagens dos defeitos maiores, defeitos menores e total de defeitos no testículo, cabeça/ corpo do epidídimo, cauda do epidídimo e ducto deferente em gatos.

Conforme mostra a figura 7, a porcentagem média de defeitos totais encontrados foi de 69,1% no testículo, 64,3% na cabeça corpo/ cauda do epidídimo, 58% na cauda do epidídimo e 67,4% no ducto deferente. Houve uma redução no total de defeitos na cauda do epidídimo, porém verificamos uma pequena elevação no ducto deferente. Silva et al (2003), Moore et al. (1983) e Áxner (2006) também verificaram que os espermatozoides reduzem seus defeitos conforme vão percorrendo o trato reprodutivo, demonstrando a maturação espermática que ocorre nesse percurso e a fagocitose de células anormais feitas pelo epidídimo. A pequena elevação no ducto deferente foi verificada principalmente devido defeitos de cauda e cabeça isolada, o que é semelhante ao verificado por Tebet et al. (2006) e Martins (2007) que afirmam que esta característica é comum em gatos.

6 CONCLUSÕES

As técnicas de corte com lavagem do testículo e de fatiamento com lavagem do epidídimo e ducto deferente mostraram-se eficientes na obtenção de amostras de boa quantidade de sêmen para análise morfológica.

Os espermatozoides dos gatos domésticos apresentaram alta taxa de anormalidades morfológicas e foi possível observar a maturação espermática através da variação dos defeitos ao longo do trato reprodutivo, especialmente após a passagem pelo epidídimo.

Os resultados desse estudo podem complementar o conhecimento sobre avaliação andrológica, métodos de recuperação de espermatozoides e características morfológicas dos espermatozoides de gatos, podendo contribuir na reprodução assistida de espécies domésticas e selvagens.

REFERÊNCIAS

ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. 2018. Disponível em: http://abinpet.org.br/infos_gerais/. Acesso em 28 de setembro de 2021.

ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E.C.C.; ALONSO, M.A.; CARVALHO, H.F.; OLIVEIRA, L.Z.; NASCIMENTO, J.; SILVA, D.F.; AFFONSO, F.J.; LEMES, K.M.; JAIMES, J.D. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.145-151, 2011.

AXNÉR, E. Sperm maturation in the domestic cat. **Theriogenology**, v. 66, p. 14–24, 2006.

AXNÉR, E.; STROM-HOLST, B.; LINDE-FORSBERG, C. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymidis before and after electro- ejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. **Theriogenology**, v. 50, p. 973–979, 1998.

BANKS, W. J. Sistema reprodutor masculino. In: **Histologia Veterinária Aplicada**, São Paulo: Manole, p. 546-556. 1992.

CBRA - COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

DACHEUX, J.L., GATTI, J.L., DACHEUX, F., Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. **Microsc. Res. Tech.** v. 61, p. 7–17, 2003.

EMERENCIANO, K.D.M.; LIMA, G.L.; PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, M.A.; OLIVEIRA, M.G.C.; DE PAULA, V.V.; SILVA, A.R. Recuperação de espermatozoides epididimários de gatos domésticos (*Felis catus*) utilizando soluções à base de Tris ou água de coco em pó. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.7, n.2, p.148-153, 2013.

FRANÇA, L.R.; GODINHO, C.L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biology of Reproduction**, v. 68, n.5, p. 1554-61, 2003.

FERNÁNDEZ-SANTOS, M.R.; MARTINEZ-PASTOR, F.; MATIAS, D.; DOMÍNGUEZ-REBOLLEDO, A.E.; ESTESO, M.C.; MONTORO, V.; GARDE, J.J. Effects of long-term chilled storage of red deer epididymides on DNA integrity and motility of thawed spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v.111, p.93-104, 2009.

GATTI, J.L.; CASTELLA, S.; DACHEUX, F.; ECROYD, H.; MÉTAYER, S.; THIMON, V.; DACHEUX, J.L. Post-testicular sperm environment and fertility. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.321–339, 2004.

HOWARD, T.W.; PACE, M.M. Seminal evaluations and artificial examination. In: **Fertility and infertility in veterinary practice**. 4.ed. London: Bailliere Tindall. p.39-51. 1988.

HOWARD, J.G.; BUSH, M.; WILDT, D.E. Teratospermia in domestic cats compromises penetration of zona-free hamster ova and cat zonae pellucidae. *Journal of Andrology*, v.12, p.36-45, 1991.

HOWARD, J.G. Semen collection and analysis in carnivores. In: FOWLER, M.E. **Zoo and wild animal medicine: current therapy**. Philadelphia: W.B. Saunders. p. 390-399. 1993.

LIMA, D.B.C. **Espermatozoides epididimários de gatos domésticos: avaliação após refrigeração e diluição em água de coco em pó (acp-117c)**, 68p., 2015. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

LITTLE, S.E. **O gato: Medicina Interna**. 1ed., Rio de Janeiro: Roca, 1332p. 2015.

MACENTE, B.I.; MANSANO, C.F.M.; PEREIRA, M.M.; MARTINS, M.I.M.; GIOSO, M.M.; SAVI, P.A.P.; GUTIERREZ, R.R. Congelação de espermatozoides epididimários de gatos utilizando o diluidor Botu-Crio® após refrigeração por 24 h em contêiner de transporte de Sêmen Botu-Tainer . **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.2, p.112-117, 2012.

MARKS, S.L.; DUPUIS, J.; MICKELSEN, W.D.; MEMON, M.A.; PLATZ, C.C. Jr. Conception by use of postmortem epididymal semen extraction in a dog. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.15, p.1639-1640, 1994.

MARTINEZ-PASTOR, F.; GARCIA-MACIAS, V.; ALVAREZ, M.; CHAMORRO, C.; HERRAEZ, P.; PAZ, P.; ANEL, L. Comparison of two methods for obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. **Theriogenology**, v.65, p.471-485, 2006.

MARTINS, M.I.M. Perspectivas da aplicação comercial de biotecnologias envolvendo espermatozoides obtidos de epidídimo de cães e gatos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.115-118, 2007.

MEYER, K.B. **Função testicular em gatos domésticos (*Felis catus*): atividade da enzima aromatase e aspectos sazonais da esteroidogênese e espermatogênese.** 88p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Do Paraná, Curitiba, 2013.

MOORE, H.D.M.; HARTMAN, T.D.; PRYOR, J.P. Development of the oocyte penetrating capacity of spermatozoa in the human epididymis. **International Journal Andrology**, v.6, p.310-318, 1983.

MOTA FILHO, A.C.; SILVA, L.D.M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.6, n.1, p.1-8, 2012.

PINHO, R.O.; NEVES, J.G.S.; MONTES, J.C.; FREITAS, B.W.; MARTINS, L.F.; CASTILHO, E.F.; CAMILO, B.S.; GUIMARÃES, J.D. Maturação espermática durante o trânsito epididimário em um garanhão. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v.13, n.25, p. 1-9, 2015.

PUKAZHENTHI, B.S.; NEUBAUER, K.; JEWGENOW, K.; HOWARD, J.G.; WILDT, D.E. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. **Theriogenology**, v. 66, p. 112–121, 2006.

REECE, W.O. **Duke's, Fisiologia dos Animais Domésticos.** 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 740p.

ROBAIRE, B.; HINTON, B.T.; ORGEBIN-CRIST, M.C. The Epididymis. In: NEILL, J.D. **The Physiology of Reproduction.** 3ed. São Paulo: Elsevier, p.1072 - 1120, 2006.

SAVI, P.A.P.; MOTHEO, T.F.; PADILHA-NAKAGI, L.C.; PIRES-BUTTLER, E.A.; VICENTE, W.R.R. Técnica modificada de compressão do ducto deferente e cauda do epidídimo para obtenção de espermatozoides caninos. **Investigação**, v.14, n.1, p.18-22, 2015.

SCHÄFER, S.; HOLZMANN, A. The use of transmigration and Spermactm stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. **Animal Reproduction Science**, v. 59, p. 201- 211, 2000.

SILVA, A.E.D.F.; DIAS, A.L.; UNANIAN, M.M.; FREITAS, A.R.; BLOCH JUNIOR, C. Conteúdo de peptídeos e avaliação morfofisiológica dos espermatozoides do epidídimo e ejaculado de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1890-1900, 2003.

TAMAYO-CANUL, J.; ALVAREZ, M.; LÓPEZ-URUEÑA, E.; NICOLAS, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; ANEL, E., ANEL, L.; Paz, P. Undiluted or extended storage of ram epididymal

spermatozoa as alternatives to refrigerating the whole epididymes. **Animal Reproduction Science**, v.126, p.76-82, 2011.

TEBET, J.M.; MARTINS, M.I.M.; CHIRINÉA, V.H.; SOUZA, F.F.; CAMPAGNOL, D.; LOPES, M.D. Cryopreservation effects on domestic cat epididymal versus electroejaculated spermatozoa. **Theriogenology**, v.66, p.1629-32, 2006.

TURRI, F.; MADEDDU, M.; GLIOZZI, T.M.; GANDINI, G.; PIZZI, F. Effect of testicle *postmortem* storage on goat frozen-thawed epididymal sperm quality as a tool to improve genebanking in local breeds. **Animal**, v.8, n.3, p.440-447, 2014.

TSUTSUI, T.; TANAKA, A.; TAKAGI, Y.; NAKAGAWA, K.; FUJIMOTO, Y.; MURAI, M. Unilateral intrauterine horn insemination of fresh semen in cats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 62, p.1241-1245, 2000.

TULSIANI, D.R. Glycan modifying enzymes in luminal fluid of rat epididymis: are they involved in altering sperm surface glycoproteins during maturation? **Microsc. Res. Tech.** v. 61, p. 18–27, 2003.

VIEIRA, D.K.; SUZANO, S.M.C.; PIRES, M.V.M.; ALVARENGA, A. R.; SILVEIRA, A.M.M.; ABRAMI, B.R.; FERREIRA, A.M.R. Andrological examination in domestic cats (*Felis catus*) by use of the electroejaculation method. World Small Animal Veterinary Association World Congress. **Proceedings**. Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brazil, 2009.

VILLAVERDE, A.I.S.B.; MELO, C.M.M.; CORRENTE, J.E.; PAPA, F.O.; LOPES, M.D. Comparação entre dois métodos de coloração para análise morfológica e acrossomal de espermatozoides de gato doméstico (*Felis catus*). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.3, p. 686-692, 2008.

YANAGIMACHI, R. **Mammals Fertilization**, 2nd ed. Raven Press, New York, NY, USA. 1994.

YU, I.; LEIBO, S. Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4 °C. **Theriogenology**, v.57, p.1179-1190, 2002.

ZAMBELLI, D.; CUNTO, M. Review: Semen collection in cats: Techniques and analysis. **Theriogenology**, v.66, p.159–165, 2006.