

TÉCNICAS DE RECUPERAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS EM MAMÍFEROS *POST-MORTEM* OU PÓS-ORQUIECTOMIA

Ighor Henrique Oliveira Santos^{1*}, Gabriel Augusto Carvalho Pinto¹ e Patrícia Alves Dutra².

¹Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil – *Contato: ighor.henrique.o.s@gmail.com

²Docente do Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

INTRODUÇÃO

O epidídimo é um órgão pertencente ao sistema reprodutor masculino, caracterizado como um ducto convoluto localizado na superfície dos testículos entre o ducto eferente e o ducto deferente⁶. Dentre suas principais funções destaca-se a maturação, o armazenamento e o transporte de espermatozoides^{6,10}. Divide-se morfológicamente em três regiões: a cabeça, local onde ocorre a reabsorção de fluidos vindos dos túbulos seminíferos e onde tem o início do desenvolvimento da capacidade de motilidade dos espermatozoides; o corpo, principal região de maturação dos espermatozoides; e a cauda, local de armazenamento dos espermatozoides antes da ejaculação^{6,8,10}.

A recuperação de espermatozoides epididimários é um método que preserva o material genético de animais silvestres em risco de extinção e domésticos de grande apreso ou de elevado valor genético e comercial, que foram a óbito ou serão submetidos a orquiectomia^{1,6,7}. As principais técnicas de recuperação desses gametas são colheita por fluxo retrogrado, fatiamento e flutuação, e perfuração da cauda do epidídimo^{6,8}.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo expor as principais técnicas de recuperação de espermatozoides do epidídimo em mamíferos que vão a óbito ou que serão submetidos a orquiectomia bilateral.

METODOLOGIA

Para a elaboração do presente trabalho, foi feita uma revisão de literatura técnico-científica, envolvendo pesquisas em artigos científicos publicados entre os anos de 2012 e 2022, localizados através das plataformas de busca ScienceDirect, Mendeley e PubMed. Foram utilizadas as palavras-chave: recuperação, espermatozoides, epidídimo, orquiectomia, mamíferos.

RESUMO DE TEMA

Os métodos de colheita de espermatozoides do epidídimo vêm sendo empregados em várias espécies de animais domésticos e silvestres, sendo acompanhadas por outras biotécnicas reprodutivas, como inseminação artificial, fertilização *in vitro*, injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ou para formação de bancos de germoplasma^{1,2,6}. Estudos demonstram que espermatozoides recuperados da cauda do epidídimo e no ducto deferente possuem capacidade fecundante, são morfológicamente aceitáveis e podem apresentar boa motilidade progressiva, embora seja encontrados números elevados de espermatozoides com defeitos menores^{1,2,6,8}. Esse fato é explicado pela presença da gota citoplasmática distal, perdida no momento da ejaculação^{5,9}.

Na literatura são descritos alguns métodos de recuperação de espermatozoides da cauda do epidídimo, sendo que os métodos variam de acordo com a espécie e a preferência do profissional^{6,8}. Em animais que foram a óbito ou que serão submetidos a orquiectomia tem sido descrito usualmente a colheita por fluxo retrogrado, fatiamento e flutuação, perfuração e a técnica de compressão do ducto epididimário^{6,8}.

Após a morte ou castração, o complexo testículo-epidídimo (CTE) é retirado, armazenado e enviado ao laboratório para realização das técnicas de recuperação de espermatozoides⁶. Protocolos tem sido desenvolvido para estabelecer o armazenamento e transporte do CTE até o local da colheita dos gametas². Tem sido utilizado recipiente estéreis para acondicionar o CTE, sendo imersos em solução salina dentro de caixas térmicas com temperaturas próximas de 30°C^{6,9}. O tempo da retirada do CTE até a realização das técnicas apresentam variações, pesquisas recomendam a colheita dos espermatozoides de epidídimos armazenados em temperatura ambiente em até 24 horas e até 48 horas em epidídimos armazenados a 5°C^{1,9}.

A colheita por fluxo retrógrado consiste na lavagem do ducto deferente e da cauda do epidídimo utilizando diluente inócua aos espermatozoides⁶. Inicialmente, o CTE é dissecado até o isolamento do ducto deferente e cauda do epidídimo (Fig.1a). Após, retira-se o tecido que reveste os ductos

epididimários (Fig.1b) e desfaz o aspecto convoluto do epidídimo (Fig.1c)^{6,8}. Em seguida secciona a junção do corpo do epidídimo com a cauda ou divide o ducto epididimário em três partes^{6,8}. Na sequência, é injetado o diluente no lúmen do ducto deferente com o auxílio de uma agulha acoplada a seringa, fazendo com que os espermatozoides saiam pela porção contrária do ducto deferente (Fig.2)^{8,10}. Para receber o material pode-se utilizar placa de Petri, béquer ou tubo cônico^{8,10}.



Figura 1: Dissecção do complexo testículo-epidídimo (CTE) de equino. (a) dissecção do CTE e isolamento do ducto deferente e cauda do epidídimo; (b) dissecção de tecidos que revestem o epidídimo; (c) remoção do aspecto convoluto do epidídimo. (Fonte: Monteiro, 2013)

Estudos demonstram que amostras obtidas por essa técnica apresentaram níveis reduzidos de contaminantes, principalmente sangue, em comparação ao método de fatiamento e flutuação⁵. Além disso, por meio dessa técnica são obtidos maior concentração de espermatozoides de boa qualidade se comparados a outras técnicas^{1,5}. Esse método é o mais indicado para animais de grande porte, como equinos e bovinos, podendo ser utilizado em ruminantes silvestre de médio porte, como veados e cervos^{3,5,6}. No entanto, devido ao tamanho do epidídimo a recuperação por fluxo retrogrado não é usualmente utilizada em cães, gatos e mamíferos de pequeno porte, nesses animais o método de fatiamento e flutuação são os mais adequados^{5,6,9}.



Figura 2: Realização do fluxo retrogrado em epidídimo de garanhão, introdução do diluente no ducto epididimário tendo extravasamento de sêmen na porção contrária. (Fonte: Santos, 2017)

No método de fatiamento e flutuação, após o CTE ser dissecado, são feitos cortes longitudinais ou em fatias na cauda do epidídimo e ducto deferente, expondo os gametas ao meio externo (Fig.3a)^{8,6}. Após as incisões, cada epidídimo é colocado em repouso em um meio diluente por 10 minutos, o que permite a migração dos espermatozoides para o meio (Fig.3b)^{8,6,10}. Em seguida, o material sobrenadante é coletado e filtrado para colheita dos espermatozoides^{8,6,10}. Essa técnica exige que os vasos sanguíneos do epidídimo sejam dissecados de forma minuciosa, pois há grande chance de contaminação com sangue e componentes celulares^{2,10}. Estudos demonstram que os espermatozoides recuperados por essa técnica são de boa qualidade e quantidade⁹. Amorim (2012) obteve bons resultados de motilidade total e progressiva de espermatozoides recuperados por essa técnica em cães pós-orquiectomia¹. Esse método tem sido utilizado comumente em pequenos animais, principalmente cães devido ao menor tamanho do epidídimo⁹.

A técnica de perfuração consiste na perfuração do ducto epididimário utilizando agulha⁸. Após o CTE ser dissecado, a cauda do epidídimo é posicionada em uma placa de Petri sendo realizada várias perfurações na estrutura utilizando uma agulha esteril⁸. Em seguida, o material é filtrado e centrifugado para reduzir a quantidade de componentes celulares^{6,10}.

IX Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



Estudos obtiveram boas taxas de recuperação de gametas por essa técnica, no entanto devido ao processo de centrifugação a qualidade dessas células podem ser afetadas⁸.

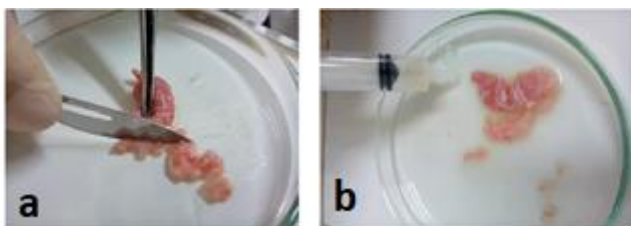


Figura 3: Método de fatiamento do epidídimo, realizado em um veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*). (a) realização de corte em fatias expondo o conteúdo intraluminal; (b) adição do diluidor permitindo a migração dos espermatozoides. (Fonte: Assumpção et al., 2016)

Outra técnica de recuperação de espermatozoides epididimários descrita na literatura é a compressão com lâmina de vidro em epidídimos de cães^{3,11}. Savi et al. (2015) descreveram a utilização dessa técnica modificada do método de compressão utilizando pinça hemostática originalmente¹¹. A modificação consiste em comprimir a cauda do epidídimo e ducto deferente com uma lâmina de vidro de modo que o sêmen saia pelo lúmen do ducto que está sendo comprimido (Fig.4)¹¹. Os espermatozoides recuperados por esse método mostraram-se morfológicamente viáveis¹¹. Além disso, pelo método de compressão com lâmina de vidro em epidídimos de cães se obteve maior motilidade espermática em comparação a motilidade encontrada em outros estudos que utilizaram os métodos de fluxo retrogrado, fatiamento e flutuação¹¹.



Figura 4: Método de compressão modificada: Compressão do ducto epididimário utilizando placa de vidro (Fonte: Savi et al., 2015)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A recuperação dos espermatozoides da cauda do epidídimo e ducto deferente é um método viável que garante a continuidade da genética do animal em casos de morte ou castração. Dentre as técnicas de recuperação destaca-se a colheita por fluxo retrogrado em mamíferos de grande porte e o método de fatiamento e flutuação em mamíferos de pequeno porte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMORIM, E.O. Avaliação de espermatozoides recuperados do epidídimo de cães adultos em diferentes tempos após orquiectomia. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Vila Velha, Vila Velha, 2012.
2. ANGRIMANI, D.S.R. et al. Biotécnicas reprodutivas com o emprego de espermatozoides epididimários em cães. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.37, n.4, p.323-327, out./dez. 2013. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n4/p323-327%20\(RB447\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v37n4/p323-327%20(RB447).pdf). Acesso em: 01 março 2022.
3. ASSUMPCÃO, T.L. et al. Coleta e avaliação morfológica dos espermatozoides epididimários de veado-catingueiro *Mazama gouazoubira*. In: Encontro sobre Animais Selvagens, 8; Simpósio sobre Medicina e Conservação da Fauna do Cerrado, 3., 2016, Uberlândia. Livro de Resumos: VIII ENANSE. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2016. p.49-54.
4. AUER, M. et al. Epididymis incision as a method to collect epididymal sperm cells in alpacas. Veterinary Medicine and Science, v.8, n.1, p.157-163, jan. 2022. DOI: 10.1002/vms3.681. Disponível

em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vms3.681>. Acesso em: 01 março 2022.

5. BARBOSA, L.M. et al. Viabilidade do sêmen congelado obtido do epidídimo de touros post-mortem. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v.19, n.3, p.1-5, set./dez. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.097>. Disponível em: <https://periodicos.uff.br/rbcv/article/view/6909>. Acesso em: 01 março de 2022.
6. FILHO, A.C.M.; SILVA, L.D.M. Recuperação e conservação de espermatozoides epididimários de mamíferos. Acta Veterinária Brasileira, v.6, n.1, p. 1-8, 2012. Disponível em: <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/2880/5074>. Acesso em: 01 março 2022.
7. LOPES, S.T.P. et al. Eficiência de duas técnicas de recuperação de espermatozoides epididimários de cães e avaliação seminal pós-criopreservação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.72, n.5, p.1758-1766, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/PQZpnpFvfXfkvVgdRspLzkt/?lang=pt>. Acesso em: 01 março de 2022.
8. MONTEIRO, G.A. Criopreservação e fertilidade de espermatozoides do ejaculado e recuperados da cauda do epidídimo de garanhões subfêrteis. 2013. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.
9. MOURA, A.N. Congelamento de espermatozoides epididimários em cães. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.
10. SANTOS, F.C.C. Sêmen da cauda do epidídimo de garanhões submetido à centrifugação com coloide. 2017. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
11. SAVI, P. A. P. et al. Técnica modificada de compressão do ducto deferente e cauda do epidídimo para obtenção de espermatozoides caninos. Revista Investigação Medicina Veterinária, v.14, n.1, p.18-22, jun. 2015. Disponível em: <https://publicacoes.unifran.br/index.php/investigacao/article/view/835>. Acesso em: 01 março de 2022.

APOIO:

