

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n07a1169.1-5>

Defeitos na peça intermediária e baixa congelabilidade do espermatozoide bovino: Relato de caso

Neimar Correa Severo^{1,2*}, **João Pedro Brandão Zandonai^{2,3}**

¹Revivah Consultoria Técnica, Uberaba, MG

²Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

³Alta Genetics do Brasil Ltda.

*Autor para correspondência: ncsevero@gmail.com

Resumo. Relata-se o caso de um touro Aberdeen Angus, puro de origem importado, de 36 meses de idade que apresentava sêmen com boa motilidade inicial (média de 68%) e quando submetido a congelação tinha a motilidade reduzida a níveis muito baixos (média de 15%). No estudo morfológico em microscopia de contraste de fase e lâmina corada pelo método de *Cerowsky*, foram encontradas pequenas fendas ao longo da bainha mitocondrial e fraturas na peça intermediária do espermatozoide. No teste de exaustão não ocorreram alterações na motilidade e na morfologia espermática, sugerindo uma provável origem testicular para esses defeitos.

Palavras-chave: Morfologia espermática, sêmen, touro

Midpiece defects and low freezability in bovine sperm: Case report

Abstract. It is a case reports of a purebreed Aberdeen Angus bull, of imported origin, 36 months old which presented semen with good initial motility (average of 68%) and when submitted to freezing, had reduced motility to very low levels (average of 15%). In the morphological study in phase contrast microscopy and stained by the *Cerowsky* method, small cracks were found along the mitochondrial sheath and fractures in the midpiece of sperm. In the exhaustion test, there were not changes in sperm motility and morphology, suggesting a probable testicular origin for these defects.

Keywords: Bull, sperm morphology, semen

Defectos de la pieza intermedia y baja congelabilidad del semen bovino: Reporte de caso

Resumen. Se reporta el caso de un toro Aberdeen Angus, puro de origen importado, de 36 meses de edad, que presentó semen con buena motilidad inicial (promedio de 68%) y al ser sometido a congelamiento presentó motilidad reducida a niveles muy bajos (promedio de 15%). En el estudio morfológico en microscopía de contraste de fase y teñido por el método de *Cerowsky*, se encontraron pequeñas grietas a lo largo de la vaina mitocondrial y fracturas en la pieza intermedia del esperma. En la prueba de agotamiento no hubo cambios en la motilidad y morfología de los espermatozoides, lo que sugiere un probable origen testicular de estos defectos.

Palabras clave: Morfología espermática, semen, toro

Introdução

A peça intermediária é a porção do espermatozoide, onde ocorrem as principais funções metabólicas sendo formada por uma compacta e helicoidal bainha de mitocôndrias, que possui em seu centro um arranjo de fibras simétricas e perpendiculares a um par central, com uma formação característica comum a todas as partes da cauda chamada axonema. A bainha de mitocôndrias supre as estruturas de fibras com energia necessária para que o mecanismo da motilidade ocorra. Há uma marcada correlação entre as estruturas da peça intermediária e a função da cauda do espermatozoide ([Staub & Johnson, 2018](#)).

Diversos tipos de anormalidades de peça intermediária dos espermatozoides bovinos foram descritos na literatura. Casos de alterações da bainha mitocondrial foram descritos por Silva et al. ([1977](#)) e Vale Filho et al. ([1976](#)) na literatura brasileira. Wenkoff ([1978](#)) relatou dois casos de alta incidência de lesões na peça intermediária em touros Hereford com provável origem epididimal. Lorton et al. ([1983](#)) relataram anomalias estruturais de peça intermediária de um touro Holandês com baixa fertilidade. Barth & Oko ([1989](#)) descreveram casos de pequenas fendas ao longo da bainha mitocondrial associadas ou não a baixa fertilidade. Chenoweth et al. ([2000](#)) relataram casos de lesões da peça intermediária em touros causadas pela ação tóxica do gossipol na dieta. Rocha et al. ([2006](#)) descreveram um detalhado estudo morfológico de defeitos de peça intermediária de origem desconhecida, sem qualquer efeito deletério aparente sobre a capacidade de fertilização. Díaz-Miranda et al. ([2020](#)) relataram que touros com alta percentagem de defeitos na peça intermediária em seu sêmen são inadequados para reprodução. Além disso, sugerem que há uma suposta base genética para este defeito do espermatozoide.

É difícil definir a etiologia das anormalidades da peça intermediária dos espermatozoides, podendo ser causada por distúrbios nutricionais e metabólicos ([Chenoweth et al., 2000](#)), estados febris de origem viral ([Chenoweth & Burgess, 1972](#)), ações enzimáticas e fatores hereditários ([Chenoweth, 2005](#); [Vale Filho et al., 1976](#)) ou durante o trânsito epididimário ([Wenkoff, 1978](#)). Estes defeitos podem ser prejudiciais para a motilidade ([Lorton et al., 1983](#)), mas há relatos de casos onde tal fato não ocorreu ([Rocha et al., 2006](#)).

Este estudo de caso descreve anomalias da peça intermediária dos espermatozoides de um touro Aberdeen Angus com três anos de idade, associadas a baixa congelação do sêmen, de origem desconhecida.

Relato do caso

As informações deste estudo de caso envolveram os dados de produção de sêmen de um touro Aberdeen Angus, puro de origem importado, de 36 meses de idade que após ser aprovado nos exames sanitários de rotina foi alojado no grupo de touros residentes de um centro de coleta e processamento de sêmen. O exame andrológico foi realizado de acordo com as normas recomendadas pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal ([CBRA, 2013](#)) e por Barth ([2013](#)). Um rigoroso exame clínico andrológico foi realizado para determinar a normalidade e a função dos testículos e epidídimos, bem como dos órgãos genitais internos.

Ao exame andrológico apresentava-se clinicamente normal e com boa biometria testicular e genitais internos normais. As colheitas de sêmen foram feitas com vagina artificial e imediatamente após, procedeu-se a avaliação das seguintes características do ejaculado: pesagem do volume em balança semi-analítica, concentração de espermatozoides por espectrofotometria (AccuCell™ IMV), motilidade e vigor por microscopia óptica com contraste de fase em 200 vezes e morfologia espermática em preparação úmida examinada em contraste de fase e em lâmina corada pelo método de *Cerowky*, com aumento de 1000 vezes (Zeiss Axioscop™). Os ejaculados com motilidade mínima de 60% foram congelados em citrato-gema-glicerol ([Love, 1992](#)) e a avaliação da motilidade, após congelação, foi avaliada pela técnica fotográfica ([Van Dellen & Elliot, 1978](#)). O touro foi submetido a um teste de exaustão para avaliação do quadro espermático e verificação da possível origem das anomalias espermáticas, que constou de sete colheitas de sêmen e 24 horas após de mais cinco colheitas, todas com vagina artificial. As análises de sêmen foram feitas pelo período de nove meses em que o touro permaneceu sob observação no centro de coleta e processamento de sêmen.

Resultados

Os valores médios apresentados pelas características físicas e morfológicas dos primeiros 27 ejaculados colhidos após o período de quarentena estão expressos na [Tabela 1](#). Na avaliação morfológica realizada no sêmen puro em contraste de fase com 1000 aumentos, foram encontradas lesões na peça intermediária, conforme [Figura 1C](#) e [1D](#); porém, dentro de padrões aceitáveis ([Barth & Oko, 1989](#)). A média do total de defeitos espermáticos não ultrapassou 19%, bem abaixo do limite máximo recomendado pelo ([CBRA, 2013](#)).

Tabela 1. Médias das características físicas e morfológicas iniciais de 27 ejaculados*

Características físicas	27 amostras	Características morfológicas	11 amostras
Volume do ejaculado, mL	5,10	Defeitos de cabeça, %	6,00
Motilidade inicial, %	55,0	Defeitos de peça intermediária, %	9,00
Vigor, 1-5	3,00	Defeitos de cauda, %	4,00
Concentração spz, X10 ⁹ /ml	1,33	Defeitos totais, %	19,0

*Fonte: Dados dos registros de produção, Pecplan Bradescvo I.A. Ltda.

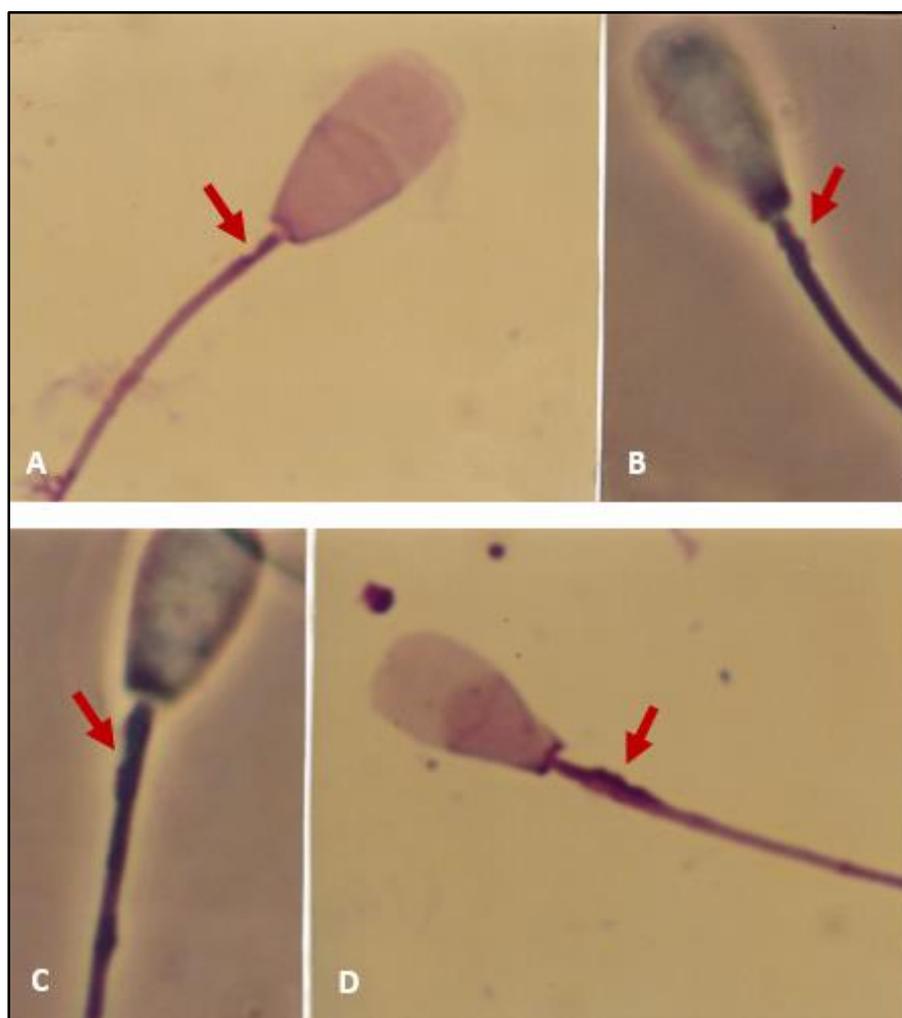


Figura 1. A e B mostram fendas na bainha mitocondrial próximas ao colo, sendo o defeito mais observado nesse caso. C e D mostram a distribuição irregular das mitocôndrias ao longo da peça intermediária, sendo observado em menor incidência no espermiograma. A e D, lâmina corada pelo método de *Cerowsky* e B e C em preparação úmida sob contraste de fase. Todas as fotos em 1500 aumentos.

Em 21 amostras submetidas a congelamento, a motilidade inicial do sêmen recém colhido foi de 68% e após a congelamento a percentagem média de motilidade caiu para 15%, avaliados pela técnica fotográfica ([Tabela 2](#)). Na avaliação morfológica, após congelamento, ocorreu um aumento no número de espermatozoides com pequenas fendas ao longo da bainha mitocondrial (30%), próximo a região do colo e em menor proporção fraturas na peça intermediária, conforme mostra a [Figura 1A, B, C e D](#). No teste de exaustão não apresentou diferenças significativas na motilidade e na morfologia espermática entre os ejaculados.

Tabela 2. Médias das características físicas e morfológicas iniciais de 21 ejaculados*

Características físicas	21 amostras	Características morfológicas	12 amostras
Volume do ejaculado, mL	5,70	Defeitos de cabeça, %	5,00
Motilidade inicial, %	68,0	Defeitos de peça intermediária, %	30,0
Vigor, 1-5	4,00	Peça intermediária fraturada, %	4,00
Concentração spz, X10 ⁹ /ml	1,47	Defeitos de cauda, %	3,00
Motilidade pós-congelamento, %	15,0	Defeitos totais, %	42,0

*Fonte: Dados dos registros de produção, Pecplan Bradescvo I.A. Ltda.

Discussão

No presente estudo de caso, a motilidade espermática foi marcadamente afetada pelo processo de congelamento demonstrando a fragilidade das estruturas da peça intermediária, devido ao aumento de lesões ao longo da bainha mitocondrial após a congelamento. Com a persistência da baixa congelamento e dos defeitos de peça intermediária ao longo de nove meses de observação foi afastada a hipótese de fatores nutricionais e metabólicos ([Chenoweth et al., 2000](#)), bem como estados febris provocados por agentes causadores do problema ([Chenoweth & Burgess, 1972](#)). Os resultados do teste de exaustão não apresentaram diferenças na morfologia espermática, sugerindo uma provável origem testicular de fundo congênito para estes defeitos ([Chenoweth, 2005](#); [Silva et al., 1977](#); [Vale Filho et al., 1976](#)).

As anormalidades da bainha mitocondrial não têm recebido a devida atenção nos estudos morfológicos do sêmen bovino ([Moretti et al., 2016](#)). Todavia, as mitocôndrias exercem um importante papel na função metabólica das células, com o objetivo de proporcionar energia para a motilidade celular ([Silva & Gadella, 2006](#)). Além disso, possíveis alterações na estrutura da bainha mitocondrial como aplasia, inchaço e lacunas podem causar danos estruturais maiores ([Díaz-Miranda et al., 2020](#)). As alterações na camada das mitocôndrias podem levar a disfunção na produção de ATP gerando maior estresse oxidativo celular ([Amaral et al., 2013](#)).

Os achados no sêmen deste touro Aberdeen Angus sugerem a hipótese de que as lesões na peça intermediária dos espermatozoides tenham origem testicular, pois ocorreu um aumento nas fraturas e na distribuição irregular das mitocôndrias ao longo da estrutura, ocasionando a perda da motilidade no processo de congelamento ([Díaz-Miranda et al., 2020](#)).

Uma precisa relação causa/efeito destas anormalidades de estrutura da peça intermediária sobre a fertilidade ainda não pode ser determinada ([Barth & Oko, 1989](#)). Não foram encontradas citações na literatura associando claramente estes defeitos com a baixa congelamento do sêmen ([Lorton et al., 1983](#)). Investigações adicionais em casos semelhantes usando estudos em microscopia eletrônica, biopsia testicular e testes bioquímicos do sêmen poderão resultar num melhor entendimento da etiologia destes defeitos.

Referências bibliográficas

- Amaral, A., Lourenço, B., Marques, M., & Ramalho-Santos, J. (2013). Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction*, 146(5), R163–R174. <https://doi.org/10.1530/REP-13-0178>.
- Barth, A. D.(2013). Bull breeding Soundness.Third edition, Western Canadian Association of Bovine Practitioner, 162 p.
- Barth, A., & Oko, R. J. (1989). *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press.

- CBRA. (2013). *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal* (Issue 1, p. 127). Colégio Brasileiro de Reprodução.
- Chenoweth, P J, & Burgess, G. W. (1972). Mid-piece abnormalities in bovine semen following ephemeral fever. *Australian Veterinary Journal*, 48(1), 37–38. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1972.tb02214.x>.
- Chenoweth, P J, Chase Jr, C. C., Risco, C. A., & Larsen, R. E. (2000). Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls. *Theriogenology*, 53(5), 1193–1203. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00264-8](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00264-8).
- Chenoweth, Peter J. (2005). Genetic sperm defects. *Theriogenology*, 64(3), 457–468. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.005>.
- Díaz-Miranda, E. A., Maitan, P. P., Machado, T. P., Camilo, B. S., Lima, D. A., Okano, D. S., Penitente-Filho, J. M., Machado-Neves, M., Oliveira, L. L., & Guimarães, S. E. F. (2020). Disruption of bovine sperm functions in the presence of aplastic midpiece defect. *Andrology*, 8(1), 201–210. <https://doi.org/10.1111/andr.12618>.
- Lorton, S. P., Wu, A. S. H., Pace, M. M., Parker, W. G., & Sullivan, J. J. (1983). Fine structural abnormalities of spermatozoa from a subfertile bull: a case report. *Theriogenology*, 20(5), 585–599. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(83\)90083-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(83)90083-3).
- Love, C. C. (1992). Semen collection techniques. *Veterinary Clinics of North America*, 8(1), 111–128. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30470-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30470-4).
- Moretti, E., Sutura, G., & Collodel, G. (2016). The importance of transmission electron microscopy analysis of spermatozoa: Diagnostic applications and basic research. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 62(3), 171–183. <https://doi.org/10.3109/19396368.2016.1155242>.
- Rocha, A., Oliveira, E., Vilhena, M. J., Diaz, J., & Sousa, M. (2006). A novel apical midpiece defect in the spermatozoa of a bull without an apparent decrease in motility and fertility: a case study. *Theriogenology*, 66(4), 913–922. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.02.032>.
- Silva, J. F., Moraes, J. C. F., & Schuch, L. H. (1977). Agenesia da peça intermediária do espermatozoide: um defeito de espermiogênese. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 12, 247–250.
- Silva, P. F. N., & Gadella, B. M. (2006). Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology*, 65(5), 958–978. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.010>.
- Staub, C., & Johnson, L. (2018). Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal*, 12, 27–35.
- Vale Filho, V. R., Megale, F., & Garcia, O. S. (1976). Incidência elevada de defeitos da bainha mitocondrial do espermatozoide e baixa eficiência reprodutiva. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 1(2), 31–39.
- Van Dellen, G. A., & Elliot, F. I. (1978). Procedure for time-exposure darkfield photomicrography to measure percentage progressively motile spermatozoa. *Proceedings 7th Technical Conference of Artificial Insemination and Reproduction*, 14–15.
- Wenkoff, M. S. (1978). A sperm mid-piece defect of epididymal origin in two Hereford bulls. *Theriogenology*, 10(4), 275–281.

Histórico do artigo**Recebido:** 29 de maio de 2022**Aprovado:** 11 de junho de 2022**Disponível online:** 5 de julho de 2022**Licenciamento:** Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.