

MOACIR CARRETTA JÚNIOR

**AVALIAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO PROCESSO ESPERMATOGÊNICO
DE PACAS (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766) ADULTAS.**

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das exigências
do Programa de Pós-Graduação em Medicina
Veterinária, para obtenção do título de
Magister Scientiae.**

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008**

Dedico este trabalho a todos meus entes queridos por tornarem a sua realização possível, seja pelo apoio incondicional ou pela paciência infindável para comigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus.

Aos meus pais, Zélia e Moacir, por todo apoio e amor em mim depositados, tornando possível a realização de todos os meus sonhos. Eu amo vocês.

Ao professor Tarcízio. Exemplo a seguir pela paixão pelos animais, caráter e competência. Orientador e acima de tudo um amigo para toda a vida.

À minha tia Lourdes, pelo amor e por sempre confiar em mim! Obrigado pela torcida organizada!

Aos meus tios, Dório e Margareth, e minhas primas, Paola e Stefânia, por me acolherem em seu lar e me fazerem sentir como parte dele.

A toda minha família que me acompanhou e torceu por mim nesses 7 longos anos em Viçosa.

Aos meus amigos de Santa Teresa, Viçosa, Belo Horizonte, e de tantos outros lugares. “Amigos são os irmãos que nos foi permitido escolher”.

Aos amigos do RPG: Cris, Netto, Ulrick, Diego, Kich, Gimgim, Alice e Leo. Obrigado pelo apoio nessa campanha solo!

À Rebeca e Elisa, pela amizade que perdura desde o primeiro período da graduação e que ainda vai longe...

À minhas estimadas vizinhas: Ayisa, Luiza, Indira e Yasmin. Pelos os ótimos momentos que passamos juntos, me fazendo esquecer por um momento da loucura final de mestrado e pela inesquecível festa de aniversário.

Ao CETAS-UFV, por ter me permitido crescer profissionalmente e ver a medicina veterinária com novos olhos.

À Equipe-CETAS: Ayisa, Baiano, Alice, Rodrigo, Renan, Thais, Gê, Vinícius, Ana, Ingridi, Leticia, Carla, Rose, Fernanda, Bruno, Leanis, Zizo, Alexandre, Caio, Clarice, José Antônio, Seu Romão e a todos aqueles que deram sua contribuição pelo CETAS fica meu sincero agradecimento.

A aqueles que permitiram a realização desse e de muitos outros trabalhos: Bianca, Bruna, Carrrrrlão, Eduardo, Grazi, João, Juliano, Luiz, Marcos, Maytê, “Pámella” e Thyara. Muito obrigado pelo apoio na realização desse projeto, pela paciência e acima de tudo por não me estrangularem após anos de “nevascas” no CETAS.

Às antigas geladeiras sem tecnologia “FrostFree”, o que seria de “Weee” sem elas?.

À Simone, Natália, Tassia e todos os que acompanharam as atividades no Gatil-experimental da UFV.

À Regina e Tarcizinho, pela acolhida calorosa em sua casa, pela confiança depositada e pela amizade ao longo de todos esses anos.

Aos professores Cláudio, José Domingos, Eduardo Paulino e Marco Túlio (*in memorian*) do DVT, pelos valorosos conselhos.

Ao professor Sérgio pela grande ajuda no desenvolvimento desse trabalho. A todos os pós-graduandos, estagiários, funcionários e professores do Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

À todos da “Fazenda um sonho a mais” pela boa vontade e colaboração neste trabalho.

À todos os funcionários do DVT, em especial a Rose, o anjo da guarda de todo pós-graduando.

À Universidade Federal de Viçosa e a todos os professores do DVT por toda a ajuda prestada.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Às pacas deste experimento.

Meus sinceros agradecimentos a todos.

BIOGRAFIA

MOACIR CARRETTA JÚNIOR, filho de Moacir Carreta e Zélia Inêz Corteletti, nasceu em 18 de março de 1982, em Santa Teresa, estado do Espírito Santo, onde foi residente até 1999.

Cursou os quatro primeiros anos do ensino fundamental no Grupo Escolar Pessanha Pova, dando seqüência a seus estudos na Escola Estadual Santa Catarina. Cursou o ensino médio na Escola São Francisco de Assis, completando-o no ano de 1999.

Em março de 2001 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa - Minas Gerais, no qual se graduou em maio de 2006.

Ingressou, logo após o fim de sua graduação, no programa de pós-graduação em Medicina Veterinária com área de concentração em Morfologia, pelo Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, concluindo os requisitos necessários à obtenção do título de “Magister Scientiae”, em abril de 2008.

“Quando o homem aprender a respeitar até mesmo o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seu semelhante”.

Albert Schweitzer (1875 -1965)

RESUMO

CARRETTA JÚNIOR, Moacir, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, Abril de 2008.

Avaliação morfofuncional do processo espermatogênico de pacas (*Cuniculus paca*, Linneus 1766) adultas. Orientador: Tarcízio Antônio Rego de Paula. Co-orientadores: Sérgio Luís Pinto da Matta e Eduardo Paulino da Costa.

Objetivou-se com este estudo avaliar o processo espermatogênico de pacas sexualmente maduras. Utilizaram-se cinco animais criados em cativeiro, sendo um destes animais proveniente do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa e os demais da fazenda “Um Sonho a Mais”. As análises morfológicas foram realizadas a partir de fragmentos testiculares colhidos por hemicastração. Foram analisados dados referentes ao volume testicular, a proporção volumétrica dos diferentes componentes do parênquima testicular, morfometria qualitativa e quantitativa dos túbulos seminíferos e do espaço intertubular, com maior ênfase as células de Leydig. Observou-se que aproximadamente 0,28% do peso corporal está alocado em gônadas, o que representa seu índice gonadosomático (IGS). Quanto à proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular, este apresenta 90,87% de sua massa alocada em túbulos seminíferos, 2,62% alocado em células de Leydig e o restante do espaço intertubular representou 6,51%. O índice túbulossomático (ITS), ou seja, a porcentagem de massa corporal alocada em túbulos seminíferos, foi de 0,24%. A altura do epitélio seminífero e o diâmetro do túbulo seminífero foram respectivamente, 63,05 μm e 202,05 μm , e o comprimento dos túbulos seminíferos por grama de testículo foi 29,71m. Foi calculada a população relativa das células de Sertoli e de células germinativas de secções transversais de túbulos seminíferos no primeiro estágio do ciclo do epitélio seminífero (CES). O rendimento geral da espermatogênese foi de 19,80 células, sendo que cada célula de Sertoli suportou, em média 24,34 células germinativas. O índice leydigossomático (ILS) foi de 0,007%. O volume nuclear médio e volume total da célula de Leydig, na paca adulta foram, respectivamente, 222 μm^3 e 690 μm^3 . Sendo estimado uma média de 35,88 milhões de células de Leydig por grama de testículo, estando na média da amplitude observada em mamíferos de 20 a 40 milhões. Concluiu-se que a paca apresenta um dos maiores valores de comprimento de túbulo seminífero por grama de testículo já relatado para um mamífero e que a

eficiência funcional das células de Sertoli destes animais é superior ao relatado para a maioria das espécies estudadas até o momento.

ABSTRACT

CARRETTA JÚNIOR, Moacir, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April 2008.

Morphofunctional evaluation of the spermatogenic process of adult pacas (*Cuniculus paca*, Linneus 1766). Adviser: Tarcízio Antônio Rego de Paula. Co-Advisers: Sérgio Luís Pinto da Matta and Eduardo Paulino da Costa.

This research aims to evaluate the spermatogenic process of sexually mature pacas. Five animals bred in captivity were used, one of them from the *Centro de Triagem de Animais Silvestres* (“Wild animals selection center”) of *Universidade Federal de Viçosa* and the other ones from the “*Um sonho a mais*” farm. Morphometric analyses were performed from fragments of testicles collected by means of hemicastration. The analyzed data concern the volume of the testicles, the proportion of different components of the testicular parenchyma, qualitative and quantitative morphometry of the seminiferous tubules and of the intertubular space, with greater emphasis on Leydig cells. It was observed that approximately 0.28% of the body weight is placed in the gonads, which represents its gonadosomatic index (GSI). Regarding the volumetric proportion of the components of the testicular parenchyma, it shows 90.87% of its mass placed in seminiferous tubules: 2.62% in Leydig cells and the remaining of the intertubular space corresponded to 6.51%. The tubulosomatic index (TSI), i.e. the percentage of body mass placed in seminiferous tubules, was 0.24%. The height of the seminiferous epithelium and the diameter of the seminiferous tubule were, respectively, 63,05 μm and 202,05 μm , and the length of the seminiferous tubules per testicle gram was 29.71. The relative population of Sertoli cells and reproduction cells in transversal sections of the seminiferous tubules in the first stage of the seminiferous epithelium cycle (SEC) was calculated. These data were crossed so as to determine the general yield of the spermatogenesis of 19.80 cells. Each Sertoli cell endured an average of 24.34 reproduction cells. Regarding Leydig cells, a leydigosomatic index (LSI) of 0.007% was observed. The average nuclear volume and total volume of the adult paca’s Leydig cells are, respectively, 222 μm^3 and 690 μm^3 . It was possible, with this data, to calculate an average of 35.88 million Leydig cells per testicle gram; the quantity found in the amplitude average of the mammals observed ranges from 20 to 40 million. It is thus concluded that pacas show one of the greatest values of tubule length per testicle

gram ever reported for a mammal and that the functional yield of Sertoli cells in these animals is higher than what is reported for most studied species so far.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
1.0 – INTRODUÇÃO.....	1
2.0 – REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 . Família Cuniculidae – <i>Cuniculus paca</i>	2
2.2. Os testículos.....	4
2.3. Compartimento tubular	6
2.4. Compartimento intertubular.....	8
2.5. Referências bibliográficas.....	9
3.0 – MORFOMETRIA TESTICULAR E OS TÚBULOS SEMINÍFEROS DE PACAS (<i>Cuniculus paca</i> , Linnaeus 1766) ADULTAS.....	15
Resumo.....	15
Abstract.....	16
3.1 – Introdução.....	17
3.2 – Material e métodos.....	19
3.3 – Resultados e discussões.....	21
3.4 – Conclusões.....	26
3.5 – Referências bibliográficas.....	27
4.0 – QUANTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO ESPERMATOGÊNICA DE PACAS (<i>Cuniculus paca</i> , Linnaeus 1766) ADULTAS.....	31
Resumo.....	31
Abstract.....	32
4.1 – Introdução.....	33
4.2 – Material e métodos.....	35
4.3 – Resultados e discussões.....	37
4.4 – Conclusões.....	42
4.5 – Referências bibliográficas.....	42
5.0 – ORGANIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DO ESPAÇO INTERTUBULAR EM PACAS (<i>Cuniculus paca</i> , Linnaeus 1766) ADULTAS.....	47
Resumo.....	47
Abstract.....	48
4.1 – Introdução.....	49
4.2 – Material e métodos.....	50
4.3 – Resultados e discussões.....	52
4.4 – Conclusões.....	57
4.5 – Referências bibliográficas.....	57
6.0 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60

1.0 - INTRODUÇÃO

A paca (*Cuniculus paca*) é um roedor pertencente à subordem Hystricomorfa, superfamília Cavioidae, família Cuniculidae e ao gênero Cuniculus. Esta é a segunda maior espécie de roedor nativo das florestas da América Tropical, perdendo em tamanho apenas para a capivara (MATAMOROS, 1982). Esta espécie se distribui amplamente, desde o sul do México até o Paraguai, habitando regiões de florestas tropicais geralmente próximos a riachos ou outras fontes de água (MONDOLFI, 1972). Devido ao crescente desmatamento de seu habitat natural, é comum encontrar esses animais próximos a áreas de cultivo, onde se alimentam de milho, mandioca, manga e bananas (SMYTHE, 1987). A paca possui pelagem curta e de coloração que varia do castanho claro ao castanho escuro ou avermelhado, com faixas claras e irregulares na porção lateral do corpo. É um animal robusto e de corpo alongado, possui patas curtas e fortes, com unhas muito afiladas, apropriadas para cavar as tocas (OLIVEIRA, 2002).

Atualmente a paca se encontra em baixo risco de extinção de acordo com o Conservation on International Trade in Endangered Species (CITES, 2008). Mesmo assim esta é uma das espécies mais caçadas na América Latina por sua carne suave, clara e de excelente paladar (STRADIOTTI, 2006). Esse fator, juntamente com a crescente devastação de seu habitat natural, causam preocupação com as condições futuras de conservação dessa espécie. Existem poucos estudos descrevendo sua biologia reprodutiva, mesmo com um grande aumento do número de criatórios regulamentados pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), principalmente devido ao aumento na demanda de sua carne. Os poucos estudos realizados, em sua maioria, fazem apenas uma abordagem dos aspectos relacionados com a morfologia dos órgãos reprodutivos (MATAMOROS, 1981; PASHOV & MATAMOROS, 1984; URENA et al. 1988). Em relação ao estudo de características físicas e morfológicas do sêmen os resultados são ainda preliminares (MACHADO & OHASHI, 1996).

O estudo de aspectos fisiológicos da reprodução, é importante para fornecer informações que auxiliem no desenvolvimento de tecnologias em reprodução assistida (WILDT, 1989). Uma das possíveis explicações para justificar a falta de pesquisas com essa espécie, e com diversas outras de animais silvêtres, é a grande dificuldade relatada pelos pesquisadores com as restrições de acesso aos espécimes de vida livre e cativo,

fazendo com que o número reduzido de indivíduos dificulte a obtenção de informações estatisticamente significativas.

Segundo CASTRO et al. (1997), a análise quantitativa da espermatogênese, pode ser utilizada no estabelecimento de padrões cinéticos, como a divisão e renovação de espermatogônias e permitem ainda estimar o coeficiente de eficiência do processo espermatogênico, a quantificação da população das células germinativas e suas relações com a população das células de Sertoli, em várias etapas do desenvolvimento ao longo do processo espermatogênico.

Apesar do processo espermatogênico já estar bem definido em algumas espécies, nenhuma informação foi encontrado sobre este evento fisiológico em pacas, o que motivou a realização desta pesquisa, que teve como objetivo avaliar, a partir de técnicas morfométricas, a espermatogênese de pacas sexualmente maduras.

2.0 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Cuniculidae – *Cuniculus paca*

A família Cuniculidae se enquadra dentro da subordem Hystricomorfa, superfamília Cavioidae. Essa família possui apenas duas espécies, sendo ambas conhecidas como pacas e estando no mesmo gênero: *Cuniculus taczanowskii* e *Cuniculus paca*. Alguns autores referem-se à família Cuniculidae como Agoutidae, e outros incluem as pacas dentro da família Dasyproctidae, devido às similaridades morfológicas entre pacas e cutias (CORBET & HILL 1991; WILSON & REEDER 1993). Porém, baseado ainda em evidências morfológicas outros autores sugerem uma família separada (MCKENNA E BELL 1997), Segundo ROWE E HONEYCUTT (2002) evidências moleculares, em duas seqüências nucleares e do gene mitocondrial do rRNA 12S, suportam fortemente a colocação das pacas em sua própria família, distinta do Dasyproctidae

Dentro de sua área de ocorrência a espécie *Cuniculus paca* é frequentemente conhecida como paca, mas também pode ser chamada de tepezcuinte no México e Guatemala, conejo pintado no Panamá, guanta no Equador, majás no Peru e boruga na Colômbia. Este roedor apresenta pelagem curta e castanha com faixas claras e irregulares na porção lateral do corpo, apresentando peso médio entre 7 e 10 kg para ambos os sexos. Animal robusto e de corpo alongado, possui patas curtas e fortes, com

unhas muito afiladas, apropriadas para cavar as tocas (Figura 1). Os dentes incisivos são grandes, muito afilados e de crescimento contínuo. Essa espécie se alimenta de folhagens, frutos, sementes, castanhas e raízes, sua longevidade varia de 10 a 15 anos na natureza e cerca de vinte anos em cativeiro (OLIVEIRA et al., 2007). Essa é a segunda maior espécie de roedor da América Latina (MATAMOROS, 1982) e se distribui desde o sul do México até o Paraguai (Figura 2), habitando regiões de florestas tropicais, geralmente próximo a cursos de água (MONDOLFI, 1972).



Figura 1 – Paca (*Cuniculus paca*)



Figura 2 – Países com relato de ocorrência de *Cuniculus paca* em verde (UNEP-WCMC, 2008)

Poucos são os dados a respeito da biologia reprodutiva da paca. Sabe-se que a paca atinge a maturidade sexual em torno de 10 meses de idade, seu período de gestação

é de cerca de 115 dias, ao término do qual nasce um filhote (raramente dois ou três filhotes são observados), porém, a fêmea possui dois pares de glândulas mamárias demonstrando que mais filhotes podem ser amamentados, existindo a possibilidade deste fator estar relacionado com a dieta (FAO, 1995).

Foi observado, em cativeiro, que a paca apresenta comportamento sociável sendo de fácil manejo, com a possibilidade de formação de grupos de qualquer tamanho e composição social, ao oposto do observado na natureza, onde essa espécie é normalmente agressiva e de natureza solitária (OLIVEIRA et al., 2007).

A paca tem sido utilizada durante várias décadas como fonte de proteína na alimentação de populações indígenas e rurais da região neotropical. Este animal é apreciado pelo sabor de sua carne e possui potencial relativamente alto para ser domesticado e explorado economicamente, fornecendo ainda couro de boa qualidade (SMYTHE, 1987). Tais características fazem da paca uma das espécies mais caçadas na América Latina (STRADIOTTI, 2006). Atualmente a paca se encontra em baixo risco de extinção, de acordo com o CITES (2008), porém, essa situação não é estável (NOWAK, 1999; IUCN, 2006).

2.2. Os testículos

O testículo dos mamíferos é um órgão de formato oval a arredondado, geralmente localizado fora da cavidade abdominal, em uma prega cutânea denominada escroto. Esta localização testicular é importante na maioria das espécies de mamíferos devido à necessidade de uma temperatura inferior à temperatura abdominal, para a manutenção das funções testiculares (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005). Este órgão está envolto pela túnica albugínea, uma cápsula constituída de tecido conjuntivo fibroso e, em algumas espécies, também por células contráteis (SETCHELL, 1991). Esta túnica é contínua com trabéculas de tecido conjuntivo, os septos testiculares, que convergem para o interior do testículo no sentido do mediastino testicular.

Com exceção das células germinativas, que se originam do epiblasto, a grande maioria das células somáticas constituintes dos testículos é procedente dos ductos mesonéfricos e do epitélio celomático (KARL & CAPEL, 1998; MERCHANT-LARIOS & MORENO-MENDOZA, 1998). No testículo são observados dois compartimentos principais: o compartimento dos túbulos seminíferos e o compartimento intertubular ou intersticial. No compartimento intertubular estão

localizadas as células de Leydig, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos, células e fibras do tecido conjuntivo, e uma população variável de outras células como macrófagos e mastócitos. Os testículos apresentam tanto função endócrina quanto exócrina, ambas governadas pelos hormônios gonadotróficos hipofisários. O hormônio folículo estimulante (FSH) está diretamente relacionado com o início e manutenção da atividade gametogênica dos túbulos seminíferos. O hormônio luteinizante (LH) controla a atividade endócrina das células de Leydig, as quais produzem a testosterona que, além de dar suporte à atividade gametogênica, é responsável pelos caracteres sexuais secundários no macho adulto (ASHDOWN & HANCOCK, 1988).

De acordo com alguns autores, há correlação positiva entre o peso testicular e a produção espermática (AMANN, 1970; OLAR et al., 1983; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Porém, o tamanho testicular não acompanha proporcionalmente o tamanho corporal, ou seja, o investimento somático em massa gonadal é maior em animais de pequeno porte em relação àqueles de maior porte corporal (KENAGY & TROMBULAK, 1986). A quantidade de espermatozoides produzidos é sempre muito maior que o número necessário para a fecundação, e o fato de o tamanho do testículo não necessariamente acompanhar o tamanho corporal é um contribuinte para a economia energética uma vez que animais de grande porte produziriam quantidades excessivamente grandes de espermatozoides (PAULA, 1999). A relação entre o tamanho dos testículos e o tamanho corporal é conhecida como índice gonadossomático. Este índice pode fornecer informações sobre a fisiologia reprodutiva e até mesmo sobre o sistema de acasalamento de uma espécie (KENAGY & TROMBULAK, 1986). O tamanho testicular está diretamente relacionado ao comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamento monogâmicos e poligínicos apresentam menor índice gonadossomático em relação às espécies com comportamentos promíscuos ou poliândricos. No primeiro caso, o pequeno investimento testicular é reflexo da formação de casais ou haréns onde um único macho é responsável pela cópula. Nos animais promíscuos ou poliândricos, vários machos têm acesso à mesma fêmea, sendo os mais aptos à paternidade aqueles com produção espermática mais destacada e conseqüentemente maior tamanho testicular (KENAGY & TROMBULAK, 1986).

2.3. Compartimento tubular

O túbulo seminífero apresenta grande variação na densidade volumétrica no testículo entre as diferentes espécies, porém, este é o componente mais abundante do parênquima testicular em todas as espécies já estudadas (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Parâmetros quantitativos diretamente relacionados com o túbulo seminífero, como, diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e comprimento total de túbulos seminíferos, apresentam relação positiva com a atividade espermatogênica, fornecendo informações que permitem a descrição da mesma em uma dada espécie (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999). A espermatogênese é um processo sincrônico e regular de divisão celular e diferenciação, pelo qual uma espermatogônia-tronco gradativamente se diferencia numa célula haplóide altamente especializada, o espermatozóide (JOHNSON, 1991; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Esta diferenciação complexa e organizada envolve três fases, baseando-se em considerações morfológicas e funcionais: (1) fase proliferativa (espermatogonial) na qual as células sofrem rápidas e sucessivas divisões mitóticas; (2) fase meiótica (espermatócitos), na qual o material genético é duplicado e passa por recombinação genética e por duas divisões celulares sequenciais e (3) fase de diferenciação ou espermiogênica, na qual as espermatídes sofrem intensas modificações, transformando-se em espermatozoides.

A espermatogênese é um processo contínuo em que cada fase é caracterizada por mudanças morfológicas e bioquímicas dos componentes do citoplasma e do núcleo (COURROT et al., 1970). O epitélio seminífero compõe-se de quatro camadas de células germinativas de gerações distintas. Na camada basal do epitélio seminífero observam-se espermatogônias e espermatócitos primários iniciais; nas camadas intermediárias observam-se gerações de espermatócitos primários mais desenvolvidos e espermatócitos secundários; e na camada adluminal, espermatídes. Todas essas células estão organizadas numa série bem definida de associações celulares ou estádios. Estes estádios se sucedem numa determinada área do epitélio seminífero, com o decorrer do tempo. Esta seqüência, assim ordenada, constitui o processo denominado ciclo do epitélio seminífero (CES) (LEBLOND & CLERMONT, 1952; SWIERSTRA, 1968; ORTAVANT et al., 1977; RUSSELL et al., 1991).

A sustentação e organização das células germinativas ao longo do epitélio seminífero são feitas por uma célula somática denominada célula de Sertoli (RUSSELL et al., 1990). Esta desempenha papel fundamental na mediação da ação do FSH e da

testosterona no processo espermático, no suporte e nutrição das células germinativas em desenvolvimento, na compartimentalização do epitélio seminífero, na liberação de espermatozóides no lume tubular, na secreção de fluidos e na fagocitose de células germinativas em degeneração e do excesso de citoplasma das espermátides em espermição (RUSSELL & GRISWOLD, 1993; FRANÇA & RUSSELL, 1998).

As células de Sertoli têm sido utilizadas numericamente como ponto de referência para a quantificação e a correção de contagem de células germinativas (CLERMONT & MORGENTALER, 1955; BUSTOS-OBREGON, 1970; SKAKKEBAK & HELLER, 1973; FRANÇA, 1991). Essas células constituem ainda, base para o estudo de alterações no processo espermatogênico, em decorrência de fatores patológicos e terapêuticos (ROWLEY & HELLER, 1971; RUSSEL & CLERMONT, 1977; KUMI-DIAKA et al., 1983; SINHA-HIKIM et al., 1991).

Para quantificação da espermatogênese é fundamental o conhecimento do ciclo do epitélio seminífero, a caracterização dos estádios que o compõe e a determinação da frequência destes estádios. Entre os métodos utilizados para se estudar os estádios do ciclo do epitélio seminífero, o mais empregado nos animais domésticos é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas (ROOSEN-RUNGE & GIESEL Jr., 1950; COUROT et al., 1970; ORTOVANT et al., 1977; GUERRA, 1983; FRANÇA, 1991), método este designado como da morfologia tubular por BERNDTSON (1977).

O estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é essencial para o entendimento do processo espermatogênico possibilitando, ademais, valiosas correlações com achados fisiológicos e bioquímicos (ROOSEN-RUNGE & GIESEL Jr., 1950; WING & CHIRSTENSEN, 1982; RUSSEL et al., 1991 E 1993; FRANÇA et al., 1994; FRANÇA et al., 1995). Assim, além de permitir a determinação do rendimento intrínseco da espermatogênese (BERNDTSON & DESJARDINS, 1974; CARDOSO & GODINHO, 1985; FRANÇA et al., 1991), a avaliação histológica quantitativa dos testículos torna também possível a verificação de normalidade ou não da espermatogênese, a observação do tipo celular que está sofrendo degeneração, ou mesmo se ocorre degeneração (AMANN, 1981; FRANÇA, 1991; RUSSEL et al., 1991 e 1993; FRANÇA et al. 1994).

2.4. Compartimento intertubular

O compartimento intertubular consiste de diferentes componentes alocados entre os túbulos seminíferos, dentre estes estão tecido conjuntivo, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos, porém o principal componente deste compartimento é a célula de Leydig (HOOKER, 1970).

As células de Leydig iniciam a secreção de testosterona ainda na vida fetal, para a diferenciação embriológica dos órgãos genitais masculinos. Porém, é durante a puberdade que as células intersticiais de Leydig tornam-se mais evidentes e funcionais. A densidade populacional das células de Leydig pode variar entre indivíduos de espécies diferentes e mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Dentre os inúmeros fatores que podem influenciar na sua quantidade por animal, estão a quantidade de LH disponível, o número de receptores de LH por célula, a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por uma unidade de tempo, a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluidos seminais, o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996).

Estudos correlacionando a estrutura e a função das células de Leydig, em várias espécies de mamíferos, mostraram que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual desta célula em secretar este hormônio do que de diferenças do volume total das mesmas no testículo (EWING et al., 1979). Esta capacidade está altamente associada com a quantidade de retículo endoplasmático liso presente na célula de Leydig (ZIRKIN et al., 1980). Neste sentido, COSTA et al. 2006 observaram que os níveis séricos de testosterona em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), apresentaram correlação positiva e significativa com o volume individual de células de Leydig e não com a sua proporção total ou o número das mesmas por testículo.

Segundo FAWCETT et al. (1973), a drenagem linfática, aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular, nas diferentes espécies de mamíferos segue, em geral, três padrões distintos: 1) espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular, contrastando com extensos sinusóides ou espaços linfáticos interpostos aos túbulos seminíferos; 2) espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é

drenado por um vaso linfático localizado central ou excentricamente no espaço intertubular; 3) espécies nas quais abundantes grupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos. Apesar do pouco conhecimento a respeito das implicações fisiológicas destas variações, FAWCETT et al. (1973) especularam que as mesmas provavelmente estariam relacionadas com a habilidade dos vasos linfáticos de mover para fora dos testículos substâncias vascularmente secretadas, além de manter as concentrações adequadas de andrógenos no testículo e nos vasos sanguíneos. Sabe-se que a concentração de testosterona, principal produto da célula de Leydig, é de duas a três vezes maior no fluido intersticial do que nos vasos sanguíneos testiculares e de 40 a 250 vezes maior nestes em relação ao sangue periférico em diferente espécies de mamíferos (SHARPE, 1994).

2.5. Referências bibliográficas

- AMANN, R.P. 1970. Sperm production rates. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R. VANDERMARK, N.L. (ed.). **The testis**. New York: Academic Press, v.1, Cap. 7, p.433-482.
- AMANN, R.P. 1981. A critical review of methods o evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. **Journal of Andrology**, v.2, p.37-58.
- ASHDOWN, R. R., HANCOCK, J. L. 1988. Anatomia funcional da reprodução masculina, **Reprodução Animal**, 4. ed. São Paulo: Manole, cap. 2, p. 7 - 31.
- BERNDTSON, W.E., DESJARDINS, C. 1974. The cycle of seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. **American Journal of Anatomy**, v.140, p. 167-180.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal Animal Science**, v.4, n.5, p.818-83.
- BUSTOS-OBREGON, E. 1970. On Sertoli cell number and distribution in rat testis. **Archive of Biology**, v.81, p.99-180.
- CARDOSO, F.M., GODINHO, H.P. 1985. Daily sperm production of zebus (*Bos indicus*) estimated bu quantitative histology of the testis. **Theriogenology**. v.23, n.6, p.841-847.
- CASTRO, A. C. S., BERNDTSON, W. E., CARDOSO, F. M. 1997. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em

estudo de reprodução de mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, n. 1, p . 25 – 34.

CITES (**Conservation on International Trade in Endangered Species**). Disponível em: [http:// www.cites.org/eng/resources/species.html](http://www.cites.org/eng/resources/species.html). Acesso em 20 de março de 2008.

CLERMONT, Y., MORGENTALER, H. 1955. Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rat. **Endocrinology**, v.57, p.369-382.

CORBET, G., HILL, J. 1991. **A World List of Mammalian Species**. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press.

COSTA, D. S., PAULA, T. A. R., MATTA., S. L. P. 2006. The intertubular compartment morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Animal Reproduction Science**, 91, p. 173 – 179.

COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T., ORTAVANT, R. 1970. Spermatogenesis. In: Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. (ed). **The testis**. New York: Academic Press. v.1, cap. 6 : 339-432.

EWING, L. L., ZIRKIN, B. B., COCHRAN, R. C., KROMANN, N. 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v. 105, p. 1135 - 1142,

FAO (*Food and agriculture organization of the United Nations*). 1985. La domesticacion y cria de la paca (*Agouti paca*). **Guia FAO Conservacion**, n. 26, 82p.

FAWCETT, D. W., NEAVES, W. B., FLORES, M. N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v. 9, p. 500- 532.

FRANÇA, L.R. 1991. Análise **morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Belo Horizonte: UFMG, 180p. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

FRANÇA, L.R., JACKSON, A., RUSSELL, L.D. 1994. Hormone sensitivity of germ cells in stage XIV and in stage I of the rat spermatogenic cycle. **Tissue & Cell**, v.26, n.3, p. 375-383.

FRANÇA, L.R., YE, S-J., YING, L., SANDBERG, M., RUSSELL, L.D. 1995. Morphometry of rat germs cells during spermatogenesis. **Anatomy Record**, v.241, p. 181-204.

- FRANÇA, LR., RUSSELL, LD. 1998. The testis of domestic animals In: Regadera, J. & M.G. (eds.). **Male reproduction: A multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, p. 197-219.
- GUERRA, M.O., 1983. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. **Revista Brasileira de Biologia**, v.43, n.4, p.385-394.
- HOOKER, C. W. 1970. The intertubular tissue of the testis. In: **The testis Development: anatomy and physiology** . Nova Iorque : Academic Press, v . 1, cap. 8, p. 483 – 550.
- IUCN (**International Union for Conservation of Nature**). "2006 IUCN Red List of Threatened Species" (On-line). Disponível em: [http:// www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Acesso em 20 de março de 2008.
- JOHNSON , L . 1991. Spermatogenesis . In : **Reproduction in domestic animals** . 4 . ed . New York : Academic Press. p. 173 - 219.
- JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO, J. 2008. Aparelho Reprodutor Masculino. In: JUNQUEIRA, L. C., CARNEIRO. J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 11 ed., cap. 21, p. 323-334.
- KARL, J., CAPEL, B. 1998. Sertoli cells of the mouse testis originate from the coelomic epithelium. **Developmental Biology**, v. 203, p. 323–333.
- KENAGY, G. J., TROMBULAK, S. C. 1986. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**, v.67, p.1-22.
- KUMI-DIAKA, J., OSORI, D.I.K., NJOKU, C.O., OGWLI, D. 1983. Quantitative estimation of spermatogenesis in bulls (*Bos indicus*) in a tropical environment of Nigeria. **Veterinary research communications**, v.6, p.215-222.
- LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y. 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annual New York Academic Science**, v.55, p.548-584.
- MACHADO, A.A.C., OHASHI, O. M. 1996. Estudo das características físicas e morfológicas do sêmen de *Agouti paca* (Linnaeus, 1766) (Agoutidae). In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA. Resumos... Porto Alegre, p.228,
- MATAMOROS, Y. 1981. Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). **Revista de Biología Tropical**, 29(1): 155-164.

- MATAMOROS, Y. 1982. Notas sobre la biología del tepezcuintle, *Cuniculus* [Agouti] paca Brisson (Rodentia: *Dasyproctidae*) en cautiverio. **Revista Biología Tropical**, 19-20: 71-82.
- MCKENNA, M., BELL, S. 1997. **Classification of Mammals Above the Species Level**. New York: University Press, 631 p..
- MERCHANT-LARRIOS, H. & MORENO-MENDOZA, N. 1998. Mesonephric stromal cells differentiate into Leydig cells in the mouse fetal testis. **Experimental Cell Research**, v. 244, 230– 238.
- MONDOLFI, E. 1972. La Lapa o Paca – Mamíferos de caza de Venezuela. **Defensa De la Naturaleza** . v. 2 (5), p. 4-16.
- NOWAK, R. 1999. **Walker's Mammals of the World**, v. 2. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1936 p.
- OLAR, T. T., AMANN, R. P., PICKETT, B. W. 1983. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biology of Reproduction**, v. 29, p. 1114-1120. 1983.
- OLIVEIRA, F.B. 2002. **Diagnóstico e acompanhamento ultra-sonográfico da prenhez em pacas (*Agouti paca*, LINNAEUS, 1766)** . Jaboticabal SP, 131 p. Dissertação (Mestrado em reprodução animal),
- OLIVEIRA, F.S., MACHADO, M.R.F., CANOLA, J.C., CAMARGO M.H.B. 2007. Uniparidade em pacas criadas em cativeiro (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.387-389.
- ORTAVANT, R., COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T. 1977. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H., CUPPS, P.T. (ed.). **Reproduction in domestic animals** . 3 ed. New York: Academic Press. Cap.8, p. 203-227.
- PASHOV, B. MATAMOROS, Y. 1984. Description histologica del epitelio seminifero del testiculo del tepezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson, 1762) e identificacion de sus diferentes etapas. **Ciência Veterinária**, v.1, p. 9-15.
- PAULA, T.A.R. 1999. Avaliação **Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 84p. Tese (Doutorado em Morfologia).
- ROOSEN-RUNGE, E.C., GIESEL Jr., L.O. 1950. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **American Journal of Anatomy**, v. 87, n.1, p.1-30.

- ROWE, D., HONEYCUTT, R. 2002. Phylogenetic relationships, ecological correlates, and molecular evolution within the Cavoidea (Mammalia, Rodentia). **Molecular Biology and Evolution**, 19(3): 263-277.
- ROWLEY, M. J. & HELLER, C. G. 1971. Quantification of the cells of the human testis employing the Sertoli cells as a constant. **Zell Zellforsch**, v.115, p. 461-472.
- RUSSELL, L. D. & CLERMONT, Y. 1977. Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats. **Anatomy Record**, v.187, p. 347-366.
- RUSSEL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. 1991. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater, FL, Cache River Press, 286 p.
- RUSSELL, L. D. & GRISWOLD, M. D. 1993. **The Sertoli cell**. Cache River Press, Clearwater, Florida, 801 p.
- RUSSELL, L. D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A. P. 1994. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal of Andrology**, v. 17(2), p. 93-106.
- RUSSELL, L. D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds). **The Leydig cell**. Cache River Press. Vienna, IL., cap. 10, p. 218-222.
- SETCHELL, B. P. 1991. Male reproductive organs and semen In: **Reproduction of domestic animals**. C., P.T. (Ed). New York: Academic Press, p. 221-249.
- SHAKKEBAK, N.E. & HELLER, C.G. 1973. Quantification of human seminiferous epithelium. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 32: 379-389.
- SHARPE, R. M. 1994. Regulation of spermatogenesis. K., E. & N., J. D. (eds) **The physiology of reproduction**, 2ed. Raven Press, New York, p.1363-1434.
- SINHA-HIKIM, A. P., SINHA-HIKIM, I. S., AMADOR, A.G., BARTKE, A., WOOLF, A., RUSSELL, L. D. 1991. Reinitiation of spermatogenesis by exogenous gonadotropins in a seasonal breeder, the woodchuck (*Marmota monax*), during gonadal inactivity. **American Journal of Anatomy**, v. 192(2), p. 194-213.
- SMYTHE, N. 1987. The paca (*Cuniculus paca*) as a dosmetic source of protein the Neotropical, Humid Lowlands. **Applied Animal Behaviour Science**, v.17, p. 155-170.

- STRADIOTTI, C.P. 2006. **Anatomia dos órgãos reprodutivos do macho e método de coleta de sêmen em pacas (*Agouti paca*)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes. Dissertação (Mestrado em anatomia animal) 47p.
- SWIERSTRA, E.E. 1968. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididimys. **Anatomy Record**, v.161, p.171-186.
- URENA, F., BOLANOS, R. 1988. Tipos de espermatogonios em “Tepezcuintle” (*Cuniculus paca*) . Estúdio ultraestructural. **Revista de Biologia Tropical**, v.36:325-328.
- UNEP-WCMC (**United Nations Environment Programme - World Conservation Monitoring Centre**). UNEP-WCMC Species Database: CITES-Listed Species. Disponível em: [http:// www.cites.org/eng/resources/species.html](http://www.cites.org/eng/resources/species.html). Acessado em 15 de março de 2008.
- WILDT, D. E. 1989. Strategies for the practical application of reproductive technologies to endangered species. **Zoo Biology Supplement**, v. 1, p. 17 – 20.
- WILSON, D., REEDER D. 1993. **Mammal Species of the World**. Washington, D. C.: Smithsonian Institution Press. 2000 p.
- WING, .TY., CHRISTENSEN, A.K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. **American Journal of Anatomy**, v.165, p. 13-25.
- ZIRKIN, B. R., EWING, L. L., KROMANN, N., COCHRAN, R. C. 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testis perfused in vitro, correlation with Leydig cell ultrastructure. **Endocrinology**, v. 107, p. 1867-1874.

3.0 – MORFOMETRIA TESTICULAR E DOS TÚBULOS SEMINÍFEROS DE PACAS (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766) ADULTAS

Resumo

O conhecimento dos parâmetros testiculares de uma espécie é de grande importância no estabelecimento de padrões reprodutivos e, conseqüentemente, no auxílio ao desenvolvimento de protocolos de reprodução assistida para essa espécie. A morfometria testicular está diretamente relacionada com a produção espermática, como observado em espécies já estudadas. Os objetivos do presente trabalho foram definir parâmetros volumétricos e morfométricos do testículo e dos túbulos seminíferos de pacas adultas e suas correlações somáticas. Os animais do presente experimento apresentavam peso corpóreo médio de 6,4 kg, o peso médio de ambos os testículos é de aproximadamente 18 g, correspondendo a cerca de 0,28 % do peso corporal (Índice gonadossomático), a albugínea testicular representou cerca de 4,0 % do peso testicular e o mediastino cerca de 1,9 %. Aproximadamente 91,0 % do parênquima testicular é composto por túbulos seminíferos e os 9,0 % restantes correspondem a células de Leydig, tecido conjuntivo e vasos sanguíneos e linfáticos. A proporção de massa corporal alocada em túbulos seminíferos foi de 0,24 % (Índice tubulossomático). Os túbulos seminíferos apresentaram diâmetro médio de 202,05 μm com altura média de epitélio seminífero de 63,05 μm . O comprimento total de túbulos seminíferos foi de 259,42 metros, na proporção de 29,71 metros por grama de testículo, um dos maiores já registrados entre os mamíferos estudados.

Palavras-chave: testículo, túbulo seminífero, paca, *Cuniculus paca*, índice gonadossomático, índice tubulossomático.

TESTICULAR MORPHOMETRY AND SEMINIFEROUS TUBULES OF ADULT PACAS (*CUNICULUS PACA*, LINNAEUS 1766)

Abstract

The knowledge of testicular parameters of a species is greatly important for the establishment of reproduction patterns and, consequently, for helping develop aided reproduction protocols for the species. Testicular morphometry is directly linked to spermatic production, as observed in known and studied species. This paper aims to define volumetric and morphometric parameters for testicles and seminiferous tubules of adult pacas and their somatic correlations. The animals analyzed in this experiment presented an average body weight of 6.4 kg, the average weight of both testicles of 18 g, of which 0.28 % of the corporal weight corresponded to the testicles (gonadosomatic index); the testicular albuginea represented 4.0 % of the testicular weight and the mediastinum was about 1.9 %. Approximately 91.0 % of the testicular parenchyma is composed of seminiferous tubules and the other 9.0 % correspond to Leydig cells, conjunctive tissue and lymphatic and blood vessels. The proportion of body mass placed in the seminiferous tubules presented an average diameter of 202.05 μm with the average height of the seminiferous epithelium being 63.05 μm . The total length of the seminiferous tubules was 259.42 meters, in the proportion of 29.71 meters per gram of testicle, one of the biggest values already registered in the studied mammals.

Keywords: testicle, seminiferous tubule, paca, *Cuniculus paca*, gonadosomatic index, tubulosomatic index.

3.1 – Introdução

Cuniculus paca, conhecida como paca, se distribui desde o sul do México até o Paraguai (MONDOLFI, 1972). Este roedor apresenta pelagem curta e castanha com faixas claras e irregulares na porção lateral do corpo. Pertence à sub-ordem Hystricomorfa, superfamília Cavioidae, família Cuniculidae e ao gênero *Cuniculus*. Esta espécie apresenta peso médio de 7 a 10 kg entre ambos os sexos, sendo a segunda maior espécie de roedor da América Latina, estando atrás somente da capivara (MATAMOROS, 1982; MOREIRA, 1985). O tempo de vida estimado para esta espécie é de 10 a 15 anos na natureza e cerca de vinte anos quando em cativeiro. Foi observado em cativeiro um comportamento sociável e de fácil manejo, com a possibilidade de formação de grupos de qualquer tamanho e composição social, ao oposto do observado em natureza, onde essa espécie é normalmente agressiva e de natureza solitária (OLIVEIRA et al., 2007).

Este animal é apreciado pelo sabor de sua carne e possui potencial relativamente alto para ser domesticado e explorado economicamente (SMYTHE, 1987), fornecendo ainda couro de boa qualidade. A paca tem sido utilizada durante várias décadas como fonte de proteína na alimentação de populações indígenas e rurais da região neotropical. É uma das espécies mais caçadas na América Latina por sua carne suave, branca e de excelente paladar (STRADIOTTI, 2006). Atualmente a paca se encontra em baixo risco de extinção de acordo com o CITES (Conservation on International Trade in Endangered Species, 2008).

No Brasil, o número de criatórios regulamentados pelo IBAMA vem aumentando consideravelmente nos últimos anos devido à grande demanda para sua carne em restaurantes e grandes redes de supermercados.

Poucos são os dados a respeito da biologia reprodutiva das pacas. Sabe-se que essa atinge a maturidade sexual em torno de 10 meses de idade, seu período de gestação é de cerca de 115 dias, ao término do qual nasce um filhote (raramente dois ou três filhotes são observados, FAO, 1995). Poucos trabalhos são observados na literatura descrevendo, em sua maioria, aspectos relacionados à morfologia dos órgãos reprodutivos (MATAMOROS, 1981; PASHOV & MATAMOROS, 1984; URENA et al. 1988; BORGES, 2004).

Para se avaliar as características fisiológicas da reprodução de uma dada espécie, vários métodos têm sido utilizados, alguns são relativos às características físicas e

morfológicas do sêmen, que no caso da paca descrevem resultados ainda preliminares (MACHADO & OHASHI, 1996), porém, os dados mais confiáveis na caracterização reprodutiva masculina, baseiam-se na histologia quantitativa dos testículos (AMANN, 1970; BERNDTSON, 1977). O testículo é um órgão em formato oval composto por um aglomerado de túbulos conhecidos como túbulos seminíferos. Nos túbulos seminíferos de mamíferos sexualmente maduros estão presentes as células espermatogênicas arranjadas em uma série bem definida de associações celulares ou estádios. Os parâmetros quantitativos relacionados com o túbulo seminífero, como diâmetro tubular, espessura do epitélio seminífero e o comprimento total e por grama de testículo, apresentam uma relação positiva com a atividade espermatogênica (FRANÇA & RUSSELL, 1998; PAULA, 1999). Desta forma, as mensurações tubulares são abordagens geralmente utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em investigações envolvendo a função testicular (NAVARRO et al., 2004; SOUZA et al., 2005; SILVA Jr et al., 2006, MASCARENHAS et al., 2006).

Por ser o túbulo seminífero o componente mais abundante do parênquima testicular, há uma correlação positiva entre o peso testicular e a produção espermática (AMANN, 1970; OLAR et al., 1983; FRANÇA & RUSSELL, 1998). Porém, em diferentes animais de portes distintos, o tamanho testicular não acompanha proporcionalmente o tamanho corporal. Independente do porte físico a quantidade de espermatozoides produzidos é sempre muito maior que o número necessário para a fecundação. Assim, o fato de o tamanho do testículo não necessariamente acompanhar o tamanho corporal é um contribuinte para a economia energética, uma vez que animais de grande porte produziram quantidades excessivamente altas de espermatozoides (KENAGY & TROMBULAK, 1986; PAULA, 1999).

A relação entre o peso dos testículos e o peso corporal é conhecida como índice gonadossomático. Este índice pode fornecer informações sobre a fisiologia reprodutiva e até mesmo sobre o sistema de acasalamento de uma espécie (KENAGY & TROMBULAK, 1986). O tamanho testicular está diretamente relacionado ao comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamento monogâmico ou poligínico apresentam menor índice gonadossomático em relação às espécies com comportamento promíscuo ou poliândrico.

Assim, o estudo da morfofisiologia testicular e da biometria corporal em animais silvestres permite o estabelecimento de padrões fisiológicos e comportamentais, importantes para o conhecimento de particularidades sobre a biologia reprodutiva das

diferentes espécies, com as quais é possível o desenvolvimento de protocolos visando à reprodução assistida. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi de estabelecer alguns parâmetros volumétricos do testículo e correlacionar dados de morfometria testicular e do túbulo seminífero com a massa corporal em pacas adultas.

3.2 – Material e Métodos

Utilizaram-se cinco pacas adultas, uma proveniente do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e quatro do criatório especializado “Fazenda Um Sonho a Mais”, localizado no município de Carangola-MG. Os procedimentos de coleta de material foram devidamente autorizados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (licença 062/05 NUFAS/MG) e pela Comissão de Ética do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (processo nº 09/2008).

Após um jejum de 12 horas, cada animal foi contido fisicamente, com auxílio de puçá, para a aplicação intramuscular de cloridrato de quetamina (10 mg/kg) associado ao cloridrato de xilazina (1 mg/kg), como associação anestésica. Depois de anestesiados, os animais foram pesados e, por meio de palpação percutânea, foi verificada a integridade dos testículos.

Foi realizada uma hemicastração, no testículo e epidídimo direitos ou esquerdos, através de técnica convencional e após a coleta, o testículo foi isolado do epidídimo, teve a albugínea perfurada em vários pontos e imerso em solução fixadora de Karnovsky (Paraformaldeído 4% e aldeído glutárico (Merck®) 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,4) em temperatura ambiente durante 24 horas, ficando posteriormente, armazenado sob refrigeração, no mesmo tampão, até o processamento histológico. No final do procedimento, cada animal foi medicado com agentes antiinflamatórios (Flunixin Meglunime, Banamine – Schering-Plough S/A, 1,1 mg/kg de peso) e antibióticos (penicilina, 20.000 UI/kg de peso).

Os testículos recolhidos foram pesados em balança de precisão de 0,001g e após dissecação foram pesados separadamente o mediastino e albugínea. Uma vez que a densidade do testículo é muito próxima de 1,0 (JOHNSON et al., 1981), o peso do testículo coletado foi considerado como sendo igual ao seu volume. O volume do parênquima testicular foi calculado subtraindo-se do peso testicular o peso da albugínea e do mediastino. Para o cálculo do peso total dos testículos de cada animal, o peso do

testículo contralateral foi considerado igual ao peso do testículo coletado, uma vez que nos animais já estudados nenhuma variação significativa foi observada entre o peso do testículo direito e esquerdo (FRANÇA & RUSSELL, 1998; MASCARENHAS et al. 2006).

Foram coletados fragmentos de cada testículo para o processamento histológico. Esses foram desidratados em bateria de álcoois em concentrações crescentes e infiltrados em dois banhos de resina plástica a base de glicol metacrilato (Historesin, *Leica Instruments*) e incluídos na mesma resina adicionada de endurecedor (dimetil sufóxido), conforme recomendação do fabricante. Foram realizados cortes seriados de 4,0 µm de espessura em micrótomo rotativo dotado de navalhas de vidro, e posteriormente corados com azul de toluidina e borato de sódio 1,0 %. Todo o processamento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

Para o cálculo da proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular foram examinados 20 campos fotografados, em aumento de 200 vezes, escolhidos ao acaso por meio de varredura horizontal dos cortes histológicos. Sobrepostas às imagens foi colocada uma graticula com 432 intersecções consideradas como pontos. Foram computados os pontos coincidentes com os túbulos seminíferos, células de Leydig (núcleo e citoplasma), tecido conjuntivo e vasos (sanguíneos e linfáticos), totalizando 8640 pontos computados por animal. A partir da proporção dos componentes do parênquima testicular foi possível o cálculo de seus volumes.

O diâmetro médio dos túbulos seminíferos foi obtido a partir da medida de 20 secções transversais de túbulos, o mais circular possível, em cada testículo, em aumento de 400 vezes independente do estágio em que se encontravam. Na mesma secção em que se obteve o diâmetro tubular também foi medida a altura do epitélio seminífero, considerando-se desde a membrana basal até a borda luminal. Duas anotações foram obtidas para cada parâmetro, em cada secção transversal, considerando-se como medida representativa a média das duas. O comprimento total dos túbulos seminíferos foi calculado a partir da fórmula do volume de um cilindro (volume = área da base x altura). Assim, o comprimento total dos túbulos seminíferos representava o volume total de túbulos seminíferos dividido pela área da secção transversal do túbulo seminífero. O comprimento total de túbulos seminíferos foi relacionado com o peso de ambos os testículos para a obtenção do comprimento por grama de testículo.

O índice gonadossomático foi calculado dividindo-se o peso de ambos os testículos pelo peso corporal e o resultado foi multiplicado por cem. Esse índice representa a porcentagem do peso corporal alocado em testículos. Sobre o valor do índice gonadossomático foi inferido o valor percentual ocupado por túbulos seminíferos, obtendo-se assim o índice tubulossomático, ou seja, o percentual do peso corporal alocado em túbulos seminíferos.

Os dados obtidos foram analisados por estatística descritiva (média e desvio padrão) empregando-se o programa Excell for Windows XP (2001).

3.3 – Resultados e discussões

Assim como na capivara macho (PAULA, 1999), a paca não apresenta um escroto propriamente definido e os testículos localizam-se subcutaneamente na região inguinal. Os revestimentos testiculares são os mesmos observados nos demais mamíferos, porém, assim como ocorre na maioria dos roedores e nos lagomorfos (PAULA, 1999), foi observado na paca uma espessa camada de músculo cremaster, compondo, de forma contínua, a túnica cremastérica. Devido à destacada presença desta túnica e à disposição em separado dos testículos no espaço subcutâneo, durante a hemicastração foram observadas duas saculações inguinais musculosas distintas, sem a presença de um septo ou formação de pregueamento cutâneo. A túnica cremastérica bem desenvolvida, associada à presença um amplo canal inguinal, favorece a movimentação testicular para o interior da cavidade abdominal. Neste sentido, em função do estresse de captura e manipulação é comum a observação da posição intra-abdominal do testículo (BORGES, 2004).

O peso corporal médio dos animais analisados foi de 6,4 kg e o peso testicular médio foi de 8,89 g (Tabela 1). O índice gonadossomático encontrado no presente trabalho, cerca de 0,28 % (Tabela 1), é um dos menores observados para animais da ordem Rodentia. Em estudos envolvendo 133 espécies de mamíferos, dentre eles 62 roedores, KENAGY & TROMBULAK (1986) encontraram que esta ordem foi a que apresentou maior variação para o peso relativo dos testículos (de 0,05 % para *Castor canadensis* a 8,41 % *Tatera indica*). Estes mesmos autores observaram que animais de menor peso corporal alocam maior proporção de massa corporal e desprendimento de energia no tecido testicular, comparados com animais de maior porte. Neste aspecto, é bastante ilustrativo o fato do índice gonadossomático em castor canadense (0,05 %,

KENAGY & TROMBULAK, 1986), capivaras (0,12 %, PAULA, 1999) e na paca (0,28 %) serem os mais baixos encontrados para roedores, enquanto os pesos corporais médios para estas espécies, serem justamente os mais altos. Ainda segundo KENAGY & TROMBULAK (1986), o tamanho testicular relativo também está relacionado ao comportamento reprodutivo, uma vez que animais com comportamentos monogâmicos e poligínicos apresentam menor índice gonadossomático em relação às espécies com comportamentos promíscuos ou poliândricos. No primeiro caso, o pequeno investimento testicular é reflexo da formação de casais ou haréns onde um único macho é responsável pela cópula. Nos animais promíscuos ou poliândricos, vários machos têm acesso à mesma fêmea, sendo mais aptos à paternidade aqueles com a produção espermiática mais destacada e, conseqüentemente, maior tamanho testicular (KENAGY & TROMBULAK, 1986). Baseado no baixo índice gonadossomático observado, pacas machos adultas enquadram-se em um sistema de comportamento reprodutivo monogâmico, o que pode ser reforçado pelo seu comportamento intolerante e de natureza solitária (OLIVEIRA et al., 2007). Embora a descrição anatômica dos órgãos reprodutivos masculinos não tenha sido o objetivo do presente trabalho, observou-se durante os procedimentos de coleta, uma estrutura rígida com borda serrilhada e cortante, bastante peculiar nas faces laterais do pênis de todos os animais estudados. Esta estrutura é também descrita por BORGES (2004) e durante a cópula, certamente acarreta uma lesão vaginal, o que poderia inibir novas cópulas de outros machos, reforçando o comportamento monogâmico.

Tabela 1. Valores médios, desvio padrão e coeficiente de variação do peso corporal, peso do testículo coletado e índice gonadossomático de pacas adultas.

Animal	Peso Corporal (kg)	Peso do testículo coletado (g)	Índice gonadossomático (%)
1	5,0	6,39	0,3
2	5,0	8,56	0,34
3	8,0	12,19	0,30
4	6,0	5,59	0,18
5	8,0	11,70	0,29
Média ± desvio padrão	6,40±1,51	9,11±2,8	0,28 ±0,05
CV	23,6 %	33,7 %	17,9 %

A albugínea testicular representou, em média, 3,98 % do peso do testículo enquanto o mediastino testicular cerca de 1,89 % em pacas adultas (Tabela 2). Considerou-se como peso do parênquima testicular a diferença entre o peso total do testículo e o somatório dos pesos da albugínea e mediastino testiculares. Embora parênquima testicular não seja um termo totalmente adequado para citar o testículo desprovido de albugínea e mediastino testiculares este é amplamente mencionado na literatura (BERNDTSON, 1977; JOHNSON et al., 1981; RUSSELL et al., 1990; JOHNSON et al., 2000). Em pacas adultas a albugínea e o mediastino testiculares ocuparam em média 5,9 % do peso testicular, portanto, o parênquima testicular representa em média 94,1 % do peso total do órgão (Tabela 2). Na maioria das espécies domésticas a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testiculares é geralmente em torno de 10% (FRANÇA & RUSSELL, 1998), já em carnívoros domésticos e selvagens esta proporção varia de 11 a 23,4 % (GODINHO, 1999; BITTENCOURT, 2003; BARROS et al., 2005; MASCARENHAS et al., 2006; SARTI, 2006). Neste sentido a proporção volumétrica da albugínea e mediastino testiculares na paca é relativamente menor que o observado nas demais espécies estudadas, inclusive a outra espécie da subordem Hystricomorpha, a capivara, que apresenta cerca de 11,9 % do testículo alocado em albugínea e mediastino (PAULA, 1999).

Tabela 2. Valores médios do volume testicular, volume do parênquima testicular, volume da albugínea, porcentagem do testículo alocado em albugínea, volume do mediastino e porcentagem do testículo alocado em mediastino, proporção volumétrica de túbulo seminífero, proporção volumétrica de espaço intertubular de pacas adultas.

Parâmetro	Média \pm desvios padrão
Volume testicular (ml)	9,11 \pm 2,8
Volume do parênquima testicular (ml)	8,58 \pm 1,36
Volume da albugínea (ml)	0,35 \pm 0,09
% do testículo alocado em albugínea	3,98 \pm 0,7
Volume do mediastino (ml)	0,17 \pm 0,08
% do testículo alocado em mediastino	1,89 \pm 0,46
Proporção volumétrica de túbulo seminífero (%)	90,87 \pm 0,63
Proporção volumétrica de espaço intertubular (%)	9,13 \pm 0,63

O intertúbulo representa 9,13 % do parênquima testicular (Tabela 2). A partir destes dados, e considerando a densidade testicular igual a 1,0 (JOHNSON et al., 1981), foi possível determinar que o volume do compartimento intertubular em pacas adultas foi em média 0,83 ml.

Aproximadamente 91,0 % do parênquima testicular de pacas adultas foi composto por túbulos seminíferos (Tabela 2), sendo ligeiramente superior ao observado em cutias (84,75 %; ASSIS NETO et al., 2003). Os túbulos seminíferos são os principais constituintes do parênquima testicular da maioria dos mamíferos, ocupando em torno de 60 a 90 % na maioria das espécies (SETCHELL, 1982). A capivara, diferentemente dos demais animais já estudados, apresenta apenas 50 % do parênquima testicular alocado em túbulos seminíferos (PAULA, 1999).

A paca apresentou um índice tubulossomático médio de 0,24 %, estando esse valor acima do valor observado para capivaras, 0,06 %, mas abaixo para diversas outras espécies da Ordem Rodentia (Tabela 3). O índice tubulossomático (ITS) é um parâmetro que visa quantificar o investimento de massa corporal em túbulos seminíferos. Este parâmetro é de grande importância quanto à avaliação da influência do comportamento reprodutivo sobre a morfologia testicular. Segundo a teoria de KENAGY & TROMBULAK (1986) espécies sabidamente monogâmicas ou poligâmicas aparentemente apresentam menor investimento tubulossomático quando comparadas com espécies promíscuas ou poliândricas.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrões dos índices gonadossomáticos (IGS) e índices tubulossomáticos (ITS) de seis espécies da sub-ordem Hystricomorfa.

Espécie	I.G.S. (média ± dp*)	I.T.S. (média ± dp*)
Paca	0,28 ± 0,05	0,24 ± 0,026
Capivara ¹	0,11 ± 0,016	0,06 ± 0,018
Cobaio ¹	0,43 ± 0,001	0,34 ± 0,117
Rato ¹	0,75 ± 0,001	0,61 ± 0,118
Gerbil ¹	1,86 ± 0,003	1,67 ± 0,250
Camundongo ¹	1,15 ± 0,002	1,125 ± 0,250

¹ ROMANO et al., 2002.

A mensuração tubular é uma das abordagens utilizadas como indicadores da atividade espermatogênica em experimentos relacionados à função testicular (NAVARRO et al., 2004; SOUZA et al., 2005; MASCARENHAS et al., 2006; SILVA JR et al., 2006). O valor tipicamente observado para diâmetro tubular na maioria das

espécies de amniotas varia de 180 a 300 μm (ROOSEN-RUNGE, 1977). O diâmetro do túbulo seminífero permanece relativamente constante nos animais não sazonais e sexualmente maduros (PAULA, 1999; GUIÃO-LEITE, 2002), porém, grandes variações podem ser observadas entre raças e linhagens diferentes e fora do período de atividade reprodutiva em espécies sazonais (PAULA et al., 2002). O diâmetro médio dos túbulos seminíferos no presente estudo foi de 202,05 μm (Tabela 4), sendo superior ao relatado para cutias (158 μm ; ASSIS NETO et al., 2003) e ligeiramente inferior ao observado em capivaras (213 μm ; PAULA et al., 2002), estando dentro da amplitude média relatada para a maioria dos amniotas (ROOSEN-RUNGE, 1977).

Além das diferenças devido à seleção genética, que privilegiam animais com maior produção espermática por grama de testículo, outros fatores também podem contribuir para justificar a grande amplitude de diâmetro tubular observada nos mamíferos. Dentre eles podem ser citados: metodologias em que não se considera a retração tecidual durante o processamento histológico, principalmente quando se trabalha com inclusões com parafina, uso de animais que ainda não atingiram a maturidade sexual; variações no número de camadas de células mióides que constituem a túnica própria; diferenças na população das células de Sertoli e células espermatogênicas; e diferentes padrões de secreção de fluido pelas células de Sertoli, o que determina o tamanho do lume tubular (COSTA e PAULA, 2003).

Segundo WING & CHRISTENSEN (1982), a mensuração do epitélio seminífero é mais efetiva que o diâmetro tubular para a avaliação da produção espermática. A altura do epitélio seminífero para pacas adultas foi de 63,05 μm . Apesar desse valor ser um pouco inferior ao relatado em capivaras (79 μm ; PAULA et al., 2002), tais valores estão inseridos no intervalo relatado para a maioria dos mamíferos, 60 a 100 μm (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Embora diferenças sejam observadas entre raças e espécies distintas, a altura epitelial não parece ser afetada nas comparações entre estádios diferentes do ciclo do epitélio seminífero no mesmo animal, a despeito das diferentes associações celulares e dos diferentes volumes de células de Sertoli em cada estágio (WROBEL e SCHIMMEL, 1989, WROBEL et al., 1995).

O comprimento total do túbulo seminífero para pacas adultas foi de 259,42 metros (Tabela 4). Este dado não permite uma análise comparativa precisa entre espécies diferentes devido às diferenças do tamanho dos testículos em cada uma. Para contornar tal situação, permitindo comparações independentemente do porte do animal, deve-se

converter o comprimento tubular total em comprimento tubular por grama de testículo. Assim procedendo, percebe-se que a maioria dos animais estudados até o momento apresenta valores que variam de 10 a 15 m de túbulo por grama de testículo. Neste parâmetro a paca se destaca por apresentar um dos maiores valores já relatados para um mamífero até o momento, 29,71 m (Tabela 4), equivalendo ao dobro e até mesmo ao triplo do observado em outras espécies.

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão para o diâmetro do túbulo seminífero, altura do epitélio seminífero, comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo e comprimento total de túbulo seminífero em pacas adultas.

Parâmetro	Média \pm desvio-padrão
Diâmetro do túbulo seminífero (μm)	202,05 \pm 1,53
Altura do epitélio seminífero (μm)	63,05 \pm 0,79
Comprimento do túbulo seminífero por grama de testículo (m/g)	29,71 \pm 5,61
Comprimento total do túbulo seminífero (m)	259,42 \pm 43,51

3.4 – Conclusões

O índice gonadossomático (IGS) observado no presente trabalho, cerca de 0,28 % é um dos menores observados para animais da ordem Rodentia. Embora a proporção volumétrica de túbulos seminíferos na paca se apresente dentro dos valores mais altos observados nos roedores, o diâmetro tubular médio para estes animais esteja dentro da amplitude observada para os demais mamíferos já estudados e o comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo (29,71 m/g) destacar-se dentre todas as espécies já estudadas, o índice tubulossomático (ITS) acompanhou o observado para o IGS, estando assim dentro dos mais baixos registrados para a ordem Rodentia. A proporção volumétrica de mediastino e albugínea testiculares (5,87%) encontram-se bem abaixo do observado nas espécies de mamíferos domésticos.

3.5 - Referências Bibliográficas

- AMANN, R.P. 1970. Sperm production rates. In: JOHNSON, A.D., GOMES, W.R. VANDERMARK, N.L. (ed.). **The testis**. New York: Academic Press, v.1, Cap. 7, p.433-482.
- AMANN, R. P., SCHANBACHER, B. D. 1983. Physiology of male reproduction. **Journal of Animal Science Supplement**. v. 57, p. 380– 403.
- ASSIS-NETO, A.C., MELO, M.I.V., CARVALHO, M.A.M., MIGLINO, M.A., OLIVEIRA, M.F., MENEZES, D.J.A, PAPA, P.C., KFOURY JÚNIOR, J.R. 2003. Análise qualitativa do estabelecimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, suppl.3, p.180-184.
- BARROS, J. B. G. 2005. **Análise morfofuncional do testículo e espermatogênese de leões africanos (*Panthera leo*, Linnaeus, 1758) adultos**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 65 p.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**, v.4, n.5, p.818-83.
- BITTENCOURT, V. L. 2003. **Avaliação morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do lobo - guará (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811), adulto**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- BORGES, E. M. 2004. **Morfologia dos órgãos genitais masculinos de pacas (*Agouti paca* Linnaeus, 1766)**. Tese (Doutorado em anatomia), São Paulo: Universidade de São Paulo, 180p.
- CITES (**Conservation on International Trade in Endangered Species**). Disponível em: [http:// www.cites.org/eng/resources/species.html](http://www.cites.org/eng/resources/species.html). Acesso em 20 de março de 2008.
- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R. 2003. Espermatogênese em mamíferos. **Scientia**, v. 4, p. 53-72.
- FAO 1995. (*Food and agriculture organization of the United Nations*). La domesticacion y cria de la paca (*Agouti paca*). **Guia FAO Conservacion**, n. 26, 82p.

- FAWCETT, D. W., NEAVES, W. B., FLORES, M. N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v. 9: 500- 532.
- FRANÇA, LR., RUSSELL, LD. 1998. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds.). **Male reproduction: A multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, p. 197-219.
- GODINHO, C. L. 1999. **Análise histométrica do testículo e duração da espermatogênese em gatos (*Felis domesticus*) sexualmente maduros**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais. 123p.
- GUIÃO-LEITE, F.L. 2002. **Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*) adulta**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 64p.
- JOHNSON, L., PETTY, C.S., NEAVES, W.B. 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v. 25, p. 217-226.
- JOHNSON, L., VARNER, D. D., ROBERTS, M. E., SMITH, T. L., KEILLOR, G. E., SCRUTCHFIELD, W. L. 2000. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. v. 60 - 61, p. 471 - 480, .
- KENAGY, G. J., TROMBULAK, S. C. 1986. Size and function of mammalian testes in relation to body size. **Journal of Mammalogy**, 67(1):1-22.
- MACHADO, A.A.C., OHASHI, O. M. 1996. Estudo das características físicas e morfológicas do sêmen de *Agouti paca* (Linnaeus, 1766) (Agoutidae). In: **XXI Congresso Brasileiro de Zoologia**. Resumos... Porto Alegre, p.228, 1996.
- MATAMOROS, Y. 1981. Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). **Revista de Biología Tropical**, 29(1): 155-164.
- MATAMOROS, Y. 1982. Notas sobre la biología del tepezcuintle, *Cuniculus* [*Agouti*] paca Brisson (Rodentia: Dasyproctidae) en cautiverio. **Revista de Biología Tropical**, 19-20: 71-82.
- MASCARENHAS, R.M., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., LANNA, L.L., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. 2006. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. **Revista CERES**, n. 53. v. 305, p. 106-112.

- MONDOLFI, E. 1972. La Lapa o Paca – Mamíferos de caza de Venezuela. **Defensa De la Naturaleza**. v. 2 (5) : 4-16.
- NAVARRO, R.D., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. 2004. Efeito da exposição pré e pós-natal ao ultra-som de baixa intensidade sobre a célula de Leydig e demais componentes do espaço intertubular do testículo de camundongos adultos. **Revista CERES**, n. 51, v. 296, p. 445-455.
- OLAR, T. T., AMANN, R. P., PICKETT, B. W. 1983. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biology of Reproduction**, v. 29, p. 1114 - 1120.
- OLIVEIRA, F.S., MACHADO, M.R.F., CANOLA, J.C., CAMARGO M.H.B. 2007. Uniparidade em pacas criadas em cativeiro (*Agouti paca*, Linnaeus, 1766). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.2, p.387-389.
- PAULA, T.A.R. 1999. **Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 84p. Tese (Doutorado em Morfologia).
- PAULA, T. A. R.; COSTA, D. S.; MATTA, S. L. P. 2002. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 18, n. 1, p. 121-136.
- PASHOV, B. MATAMOROS, Y. 1984. Description histologica del epitelio seminifero del testiculo del tepezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson, 1762) e identificacion de sus diferentes etapas. **Ciência Veterinária**, v. 1, p. 9-15.
- ROMANO, H. S. ; PEREIRA, T. ; FONSECA, C. C. ; PAULA, T. A. R. ; NEVES, M. T. D. ; MATA, S. L. P. 2002. Avaliação do testículo e do processo espermatogênico em 5 diferentes espécies de roedores. In: **XI Simpósio de Iniciação Científica**. Resumos... Viçosa, MG : Universidade Federal de Viçosa, v. 1. p. 352-353.
- ROOSEN-RUNGE, E.C. 1977. **The process of spermatogenesis in animals**. Cambridge: University Press, 214 p.
- RUSSELL, L.D., REN, H.P., SINHA HIKIM, I., SCHULZE, W., SINHA HIKIM, A.P. 1990. 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. **American Journal of Anatomy**, v. 188, n.1, p. 21-30.

- RUSSELL, L. D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds). **The Leydig cell**. Cache River Press. Vienna, IL., cap. 10, p. 218-222.
- SARTI, P. 2006. **Avaliação morfológica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas (*Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas**. Dissertação de Mestrado, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 56p.
- SETCHELL, BP. 1982. Spermatogenesis and spermatozoa. In: Austin, C.R., Short, R.V. (ed). **Reproduction in mammalian**. London: Elek, v. 1, p. 63-101.
- SILVA JR, V.A., VIEIRA, C.F.P., PAULA, T.A.R., PALMA, M.B., AMORIM, A.A., MANHÃES, R.C. 2006. Neonatal treatment with naloxone increases the population of Sertoli cells and sperm production in adult rats. **Reproduction Nutrition Development**. 46, p.157-166.
- SMYTHE, N. 1987. The paca (*Cuniculus paca*) as a domestic source of protein the Neotropical, Humid Lowlands. **Applied Animal Behaviour Science**, 17:155-170.
- SOUZA, P.C., PAULA, T.A.R., NATALI, A.J., MATTA, S.L.P., COSTA, D.S., FONSECA, C.C., SARTI, P. 2005. Efeito do exercício crônico voluntário e do sedentarismo, com e sem o uso do esteróide anabólico nandrolona, sobre os componentes do parênquima testicular de ratos adultos. **Revista CERES**, n. 53, v.300, p. 305-316.
- STRADIOTTI, C.P. 2006. **Anatomia dos órgãos reprodutivos do macho e método de coleta de sêmen em pacas (*Agouti paca*)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes. Dissertação (Mestrado em anatomia), 47p.
- URENA, F., BOLANOS, R. 1988. Tipos de espermatogônios em “Tepezcuintle” (*Cuniculus paca*) . Estudo ultraestrutural. **Revista Biologia Tropical**, v.36:325-328.
- WING, .TY., CHRISTENSEN, A.K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. **American Journal of Anatomy**, v.165, p. 13-25.
- WROBEL, KH., REICHHOLD, J., SCHIMMEL, M. 1995. Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. **Anatomischer Anzeiger**, v. 177:19-32.
- WROBEL, KH., SCHIMMEL, M. 1989. Morphology of the bovine Sertoli cell during the spermatogenic cycle. **Cell Tissue Research**, v. 257:93-103.

4.0 – QUANTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO ESPERMATOGÊNICA DE PACAS (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766) ADULTAS

Resumo

O estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é essencial para o entendimento do processo espermatogênico em si, possibilitando, ademais, valiosas correlações com achados fisiológicos e bioquímicos. Através da estimativa das populações celulares dos diferentes estádios do ciclo do epitélio seminífero é possível o cálculo de rendimentos intrínsecos do processo espermatogênico. Assim no presente trabalho foram observadas uma população média de 3,36 células de Sertoli, 2,19 espermatogônias do tipo A, 18,60 espermatócitos primários em pré-leptóteno/ leptóteno, 17,61 espermatócitos primários em paquíteno e 43,36 espermátides arredondadas por secção transversal do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em pacas adultas. A partir destas populações celulares os rendimentos intrínsecos do processo espermatogênico foram calculados. Observou-se uma eficiência de mitoses espermatogônias de cerca de 8,49 células (PL/L:A), um rendimento meiótico de 2,46 células (Ar:PQ) e um rendimento geral da espermatogênese de cerca de 19,80 células (Ar:A). Não foram observadas perdas significativas durante a prófase meiótica e a capacidade de suporte da célula de Sertoli para as diferentes células da linhagem germinativa foi de 0,65 espermatogônias do tipo A, 5,54 espermatócitos primários em pré-leptóteno/ leptóteno, 5,24 espermatócitos primários em paquíteno e 12,90 espermátides arredondadas.

Palavras-chave: Rendimentos intrínsecos da espermatogênese, paca, *Cuniculus paca*, células germinativas, célula de Sertoli.

QUANTIFICATION OF THE SPERMATOGENIC PRODUCTION OF ADULT PACAS (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766).

Abstract

The quantitative study of the cells compounding the seminiferous epithelium is essential in order to understand the spermatogenic process itself, making further valuable correlations with physiological and biochemical findings possible. By means of estimating cellular populations at different stages of the seminiferous epithelium cycle, it is possible to calculate the intrinsic yield of the spermatogenic process. This paper shows the observed average population of 3.36 Sertoli cells; 2.19 type-A spermatogones; 18.60 primary spermatocytes in pre-leptotene/leptotene; 17.61 primary spermatocytes in pachytene and 43.36 spermatids rounded by transversal section in stage 1 of the seminiferous epithelium cycle in adult pacas. From these cellular populations, the intrinsic yield of the spermatogenic process was calculated. The values observed are: a spermatogone mitoses yield of around 8.49 cells (PL/L:A); a meiotic yield of 2.46 cells (Ar:PQ) and a general spermatogenesis yield of around 19.80 cells (Ar:A). No significant losses were observed during the meiotic prophase; and the endurance capacity of the Sertoli cell for different cells of reproduction lineage was of 0.65 type-A spermatogones; 5.54 primary spermatocytes in pre-leptotene/leptotene; 5.24 primary spermatocytes in pachitene; and 12.90 rounded spermatids.

Keywords: Intrinsic spermatogenenic yields; paca, *Cuniculus paca*, germ cells, Sertoli cell.

4.1- Introdução

O testículo de mamíferos é um órgão em formato oval, com função exócrina e endócrina. Este se apresenta revestido por uma espessa cápsula conjuntiva, a túnica albugínea, a qual envia septos para o interior formando o mediastino testicular e também dividindo o testículo em lóbulos. Este órgão é constituído por dois compartimentos: o tubular e o intertubular. O compartimento intertubular é constituído de vasos sangüíneos e linfáticos, nervos, células e fibras do tecido conjuntivo, macrófagos, mastócitos e células de Leydig, sendo estas responsáveis pela função endócrina do testículo. No compartimento tubular, responsável pela produção de espermatozóides, encontram-se os túbulos seminíferos, os quais se conectam por meio de suas extremidades à *rete testis*, localizada na região do mediastino testicular. Os túbulos seminíferos são constituídos, da porção externa para interna, de túnica própria, epitélio seminífero e lume. Na túnica própria são observadas as células mióides ou peritubulares, a membrana basal e fibras colágenas. Dois tipos celulares de origens diferentes estão presentes no epitélio seminífero: as células de Sertoli de origem somática e as células germinativas ou espermatogênicas. No lume tubular encontram-se o fluido secretado pelas células de Sertoli e os espermatozóides (RUSSELL et al, 1994).

O compartimento mais volumoso no parênquima testicular das diversas espécies de mamíferos já estudadas é o tubular. Em animais sexualmente maduros, as células espermatogênicas estão agrupadas em uma ordem crescente de desenvolvimento no túbulo seminífero, tendo como origem as células mais próximas à lâmina basal do túbulo seminífero, as espermatogônias, passando para um estágio de espermatócitos, espermátides e culminando nos espermatozóides no lúmen do túbulo. Os diferentes grupamentos celulares não estão ao acaso, mas sim numa série bem definida de associações celulares ou estádios. Estes estádios se sucedem numa determinada área do epitélio seminífero, com o decorrer do tempo. Esta seqüência, assim ordenada, constitui o processo denominado ciclo do epitélio seminífero (CES) (LEBLOND & CLERMONT, 1952; SWIERSTRA, 1968; ORTAVANT et al., 1977; RUSSELL et al., 1991). Entre os métodos utilizados para se estudar os estádios do ciclo do epitélio seminífero, o mais empregado nos animais domésticos é aquele baseado na forma e na localização dos núcleos das espermátides e na presença de figuras de divisões meióticas (ROOSEN-RUNGE & GIESEL Jr., 1950; COUROT et al., 1970; ORTOVANT et al.,

1977; GUERRA, 1983; FRANÇA, 1991), método este designado como da morfologia tubular por BERNDTSON (1977).

O estudo quantitativo das células que compõem o epitélio seminífero é essencial para o entendimento do processo espermatogênico em si, possibilitando valiosas correlações com achados fisiológicos e bioquímicos (ROOSEN-RUNGE & GIESEL Jr., 1950; WING & CHRISTENSEN, 1982; RUSSEL et al., 1991 e 1993; FRANÇA et al., 1994 e 1995). Assim, além de permitir a determinação do rendimento intrínseco do processo espermatogênico (BERNDTSON & DESJARDINS, 1974; CARDOSO & GODINHO, 1985; FRANÇA et al., 1991), a avaliação histológica quantitativa dos testículos torna também possível a verificação de normalidade ou não da espermatogênese, a observação do tipo celular que está sofrendo degeneração, ou mesmo se ocorre degeneração (AMANN, 1981; FRANÇA, 1991; RUSSEL et al., 1991 e 1993; FRANÇA et al. 1994).

O rendimento intrínseco da espermatogênese baseia-se nas razões entre os diferentes tipos de células germinativas. Este constitui uma maneira bastante acurada de se analisar a eficiência do processo espermatogênico. Esta abordagem, na realidade, permite comparações entre diferentes espécies (PAULA, 1999). Classicamente, três índices avaliando as diferentes fases da espermatogênese são utilizados: o coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais, o qual quantifica o grau de perdas celulares na fase espermatogonial ou proliferativa, estimando as degenerações que ocorrem nas divisões celulares de espermatogônias do tipo A₁ até a formação de espermatócitos primários em pré-leptóteno; o rendimento meiótico que avalia a eficiência das duas divisões meióticas; e o rendimento geral da espermatogênese, no qual a eficiência do processo espermatogênico (de A₁ até espermátides arredondadas) é investigada como um todo.

A eficiência do processo espermatogênico tem sido estudada em várias espécies silvestres, com interesse comercial ou conservacionista, como na capivara, cateto, lobo guará, jaguatirica, onça pintada, onça parda e cachorro do mato (PAULA et al., 1999; GUIÃO LEITE, 2002; COSTA et al., 2004; AZEVEDO et al., 2006; SARTI, 2006; BITTENCOURT et al., 2007; CALDEIRA, 2007). Atualmente a paca (*Cuniculus paca* Linnaeus 1766), apresenta-se fora do risco de extinção segundo o Conservation on International Trade in Endangered Species (CITES, 2008), mas esta situação não é estável visto a continuidade do desmatamento do habitat natural dessa espécie associado à sua caça ilegal (NOWAK, 1999; IUCN, 2008). Assim, um maior conhecimento a

respeito da biologia reprodutiva e o conseqüente desenvolvimento de protocolos de reprodução assistida para esta espécie serão de grande valia para sua conservação e para os inúmeros criatórios comerciais implantados no Brasil nos últimos anos.

Os poucos trabalhos existentes sobre a morfofisiologia da reprodução em pacas, em sua maioria, fazem apenas uma abordagem dos aspectos relacionados com a morfologia dos órgãos reprodutivos (MATAMOROS, 1981; PASHOV & MATAMOROS, 1984; URENA et al. 1988). Em relação ao estudo de características físicas e morfológicas do sêmen os resultados são ainda preliminares (MACHADO & OHASHI, 1996).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi estabelecer os rendimentos intrínsecos das diferentes fases do processo espermatogênico de pacas adultas (*Cuniculus paca* Linnaeus 1766) por meio do levantamento da população celular do túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

4.2- Material e Métodos

Foram coletados fragmentos testiculares de cinco pacas (*Cuniculus paca*) adultas provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres da Universidade Federal de Viçosa e do criatório comercial “Fazenda Um Sonho a Mais”, localizado no município de Carangola–MG. Todos os procedimentos realizados nesta pesquisa foram devidamente autorizados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (licença 062/05 NUFAS/MG) e pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da UFV (processo n° 09/2008).

Para o procedimento de coleta, os animais passaram por jejum de 12 horas, sendo após esse período contidos fisicamente com auxílio de puçá e anestesiados com aplicação intramuscular de cloridato de quetamina (10 mg/kg) associado ao cloridrato de xilazina (1 mg/kg). Os animais foram então pesados, preparados para hemicastração, por técnica aberta convencional e para tal foram feitas tricotomia e anti-sepsia local do escroto. A túnica fibrosa e a pele foram suturadas individualmente com pontos simples separados, utilizando fio absorvível sintético poliglactina 910 (Vicril©, 3-0 – Ethicon). Ao final do procedimento, cada animal foi medicado com agentes antiinflamatórios (Flunixin Meglunime, Banamine – Schering-Plough S/A, 1,1 mg/kg de peso) e antibióticos (penicilina, 20.000 UI/kg de peso). Após a remoção do testículo direito ou esquerdo, juntamente com o respectivo epidídimo, o mesmo foi dissecado, pesado em

balança de precisão de 0,001 g, teve sua albugínea perfurada em pontos equidistantes com agulha hipodérmica e então imerso em solução fixadora de Karnovsky (aldeído glutárico 4% + paraformaldeído % em tampão fosfato 0,1M pH 7,4), em temperatura ambiente, por 24 horas, sendo posteriormente armazenado sob refrigeração, no mesmo tampão, até o processamento histológico.

Os testículos foram dissecados para coleta de fragmentos destinados ao processamento histológico e para separação do mediastino e albugínea testiculares, submetidos a pesagem. O volume do parênquima testicular foi calculado subtraindo-se do peso testicular o peso da albugínea e do mediastino. Uma vez que a densidade do testículo é muito próxima de 1,0 (JOHNSON et al., 1981) o peso testicular foi considerado como volume. O peso do testículo contralateral foi considerado igual ao do testículo coletado, uma vez que não se observa diferenças significativas entre estes órgãos de antímeros opostos (FRANÇA & RUSSELL, 1998; MASCARENHAS et al., 2006).

Os fragmentos coletados de cada testículo foram desidratados em bateria de etanol em concentrações crescentes, infiltrados em dois banhos de resina plástica a base de glicol metacrilato (Historesin, *Leica Instruments*) e incluídos na mesma resina adicionada de endurecedor (dimetil sufóxido), conforme recomendação do fabricante. Foram realizados cortes seriados de 4,0 µm de espessura em micrótomo rotativo dotado de navalhas de vidro, que posteriormente foram corados com azul de toluidina borato de sódio a 1,0 %. Todo o processamento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV.

Para a estimativa da população das diferentes gerações das células germinativas, os seguintes tipos celulares foram contados, ao longo do epitélio seminífero, em 10 secções transversais do estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero: espermatogônias do tipo A (A), espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno (PL/L), espermatócitos primários em paquíteno (PQ), espermatídes arredondadas (Ar) e células de Sertoli (CS). A contagem obtida foi corrigida para a espessura do corte histológico e diâmetro nuclear médio, utilizando-se a fórmula de ABERCROMBIE (1946) modificada por AMANN (1962). Para tal, foi realizada a mensuração do diâmetro de dez núcleos das células germinativas, com auxílio de microscópio de luz em aumento de mil vezes, com uma ocular micrométrica acoplada. Uma vez que as células de Sertoli possuem núcleo irregular, a contagem, bem como a correção foram realizadas baseando-se no aparente nucléolo característico desta célula.

O rendimento intrínseco da espermatogênese foi determinado baseando-se nas razões encontradas entre os números celulares corrigidos, obtidos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero. As seguintes razões foram calculadas: coeficiente de eficiência de mitoses espermatogoniais (PL/L:A), rendimento meiótico (Ar:PQ), rendimento geral da espermatogênese (Ar:A) e ocorrência de perdas celulares durante a prófase meiótica (PL/L:PQ) (COSTA et al., 2004).

O estudo das razões entre números de células da linhagem espermatogênica e de células de Sertoli no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero (Índice de célula de Sertoli) abrangeu as razões que se seguem: A:CS, PL/L:CS, PQ:CS, AR:CS e total de células germinativas:CS.

Os dados obtidos foram analisados por estatística descritiva (média e desvio-padrão) empregando-se o programa Excell for Windows XP (2001).

4.3- Resultados e discussão

O epitélio seminífero de pacas adultas, assim como nos demais mamíferos já estudados é caracterizado pela presença de gerações celulares em fases distintas de seu desenvolvimento, arranjadas em camadas ao longo do epitélio. Neste sentido, células das camadas basais, à medida que se desenvolvem migram em direção ao lúmen tubular, enquanto novas gerações são formadas em seu lugar. Assim, mantém-se uma organização de tal magnitude que apenas oito arranjos distintos são observados. Esta organização ocorre graças à célula de Sertoli, que tem funções tão variadas quanto: regular o número produzido pelas mitoses espermatogoniais; acompanhar o processo meiótico eliminando células danificadas; suprir as necessidades fisiológicas do processo espermiogênico. Notavelmente, todas estas funções ocorrem simultaneamente nas diferentes camadas de distintas gerações germinativas. Desta forma, a estimativa populacional destas diferentes, porém interligadas, gerações de células germinativas permite o acompanhamento geral de todo o processo espermatogênico.

Os números médios brutos e corrigidos das populações das diferentes células espermatogênicas e de Sertoli, em secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em pacas encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Populações dos diferentes tipos celulares no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de pacas adultas, em valores brutos e corrigidos

Tipo celular	n° brutos	*n° corrigidos
Células de Sertoli	4,40 ± 0,08	3,36 ± 0,07
Espermatogônias A	4,03 ± 0,08	2,19 ± 0,04
Espermatócitos I em pré-	37,43 ± 1,01	18,60 ± 0,49
Espermatócitos I em paquíteno	38,47 ± 1,17	17,61 ± 0,47
Espermátides arredondadas	75,78 ± 1,48	43,36 ± 0,99

* Valores corrigidos segundo AMANN (1962)

Na camada basal do epitélio seminífero encontra-se a primeira geração de células germinativas, que se apresentam em franco processo de divisões mitóticas para a formação dos espermatócitos primários. Durante o estágio 1 esta geração é observada como espermatogônias do tipo A. O número médio corrigido destas células a cada secção transversal de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero em pacas foi muito próximo do relatado em capivaras, cutias e cobaios (PAULA et al., 1999; ASSIS-NETO, 2003; ROMANO et al., 2002), outros três integrantes da superfamília Caviioidea. Nos próximos ciclos estas populações basais darão origem aos espermatócitos primários para início da longa fase da prófase meiótica, tão longa que duas gerações de espermatócitos primários podem ser observadas no estágio 1, uma delas ainda como pré-leptótenos/leptótenos e uma segunda já como paquítenos. Os números médios corrigidos encontrados para estas populações, em secções transversais de túbulos no estágio 1 do CES em pacas, foram, respectivamente, três e duas vezes maiores do que o observado em cutias (ASSIS-NETO, 2003) mas semelhante quando comparado com capivaras e cobaios (PAULA et al, 1999; ROMANO et al, 2002).

As divisões meióticas em si são rápidas e ocorrem durante um único ciclo epitelial, tanto que na camada superior do estágio 1 do CES já se observam a geração de espermátide derivada do ciclo anterior. Quando se analisam os números corrigidos das espermátides arredondadas por secção transversal de túbulo seminífero em pacas, neste estágio, percebe-se que os valores são semelhantes aos encontrados na cutia (ASSIS-NETO, 2003), enquanto os valores populacionais em capivaras são aproximadamente 75 % do valor das outras duas espécies (PAULA et al., 1999) e o do cobaio é aproximadamente 30 % superior (ROMANO et al., 2002). A população de células de Sertoli de pacas foi cerca de três vezes menor que o observado em cutias, aproximadamente a metade do observado em capivaras e 75 % dos valores observados

em cobaios (PAULA et al., 1999; ROMANO et al., 2002; ASSIS NETO et al., 2003).

As razões entre os números corrigidos de células germinativas por secção transversal de túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero encontram-se apresentadas na Tabela 2. Percebe-se que cada espermatogônia do tipo A, no início do processo espermatogênico de pacas adultas, produzirá cerca de oito espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, aptos a ingressarem na prófase meiótica. É possível ainda a observação de que não houve perdas significativas durante a prófase meiótica, ou seja, a população de espermatócitos primários se manteve constante durante esta fase (Tabela 2). Na maioria das espécies estudadas até o momento também não ocorrem perdas significativas durante a prófase meiótica (BERNDTSON e DESJARDINS, 1974, GODINHO e CARDOSO, 1979, COSTA e PAULA, 2003). As perdas normalmente observadas nas diferentes fases do processo espermatogênico referem-se a um mecanismo coordenado pelas células de Sertoli que visa a adequação por meio de apoptoses induzidas, para a sua capacidade suporte (SHARPE, 1994). O rendimento meiótico, por sua vez, foi de 61,5% do valor teoricamente esperado, caso não houvesse perdas durante o processo espermatogênico.

Tabela 2. Razões entre números corrigidos de células germinativas por secção transversal de túbulo seminífero, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero de pacas adultas.

Tipos celulares	Razões
Espermatogônia A: Espermatócitos I PL/L	1 : 8,49
Espermatócitos I PL/L : Espermatócitos I PQ	1 : 1,05
Espermatócitos I PQ : Espermátides Ar	1 : 2,46
Espermatogônias A : Espermátides Ar	1 : 19,80

O rendimento geral da espermatogênese é calculado com base no número de espermátides arredondadas computadas no estágio 1 do CES, uma vez que não são observadas perdas significativas durante a espermiogênese (RUSSELL & PETERSON, 1984). Assim, o número de espermátides arredondadas, e conseqüentemente de espermatozóides resultantes de cada espermatogônia do tipo A, foi de aproximadamente 20 células na paca adulta.

A interpretação do resultado do coeficiente de eficiência das mitoses espermatogoniais (PL/L:A) depende diretamente do número de gerações de

espermatogônias que a espécie possui. Entre as espécies em que já se conhece o número de gerações de espermatogônias diferenciadas, a maioria possui seis gerações deste tipo celular, exceção seja feita aos eqüinos e coelho que possuem cinco (CLERMONT, 1972; FRANÇA e RUSSELL, 1998). Caso as pacas também possuíssem seis gerações espermatogoniais, uma espermatogônia do tipo A₁ produziria 64 espermátocitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, considerando que o rendimento destas divisões mitóticas fosse 100 %. Nesse sentido, 8,49 células (Tabela 2) representariam apenas 13,3% do número teoricamente esperado, ou seja, estaria havendo uma perda de aproximadamente 86,7% durante esta fase. Apesar de baixo, esse valor representa mais de três vezes do valor relatado para cutia (ASSIS NETO et al., 2003). Normalmente, é durante as mitoses espermatogoniais que ocorrem as maiores perdas celulares do processo espermatogênico. Essas perdas usualmente variam de 60 a 90% na maioria dos animais (ROOSEN-RUNGE, 1973; FRANÇA e RUSSELL, 1998, COSTA & PAULA, 2003).

O rendimento meiótico indicou que cada espermátocito primário em paquíteno gerou, em média, 61,5 % do valor teoricamente esperado de espermátides arredondadas (1:4), caso não houvesse perdas nesta fase. Valor muito próximo foi observado em capivaras (PAULA et al., 2002). Normalmente as perdas durante essa fase são um pouco inferiores nos animais domésticos (10 a 30 %; FRANÇA e RUSSELL, 1998). O rendimento geral da espermatogênese de pacas também foi baixo e muito semelhante ao observado em cutias (ASSIS NETO et al., 2003) e capivaras (PAULA et al., 2002), ficando cerca de duas a quatro vezes mais baixo do que o observado para a maioria dos animais domésticos e animais de laboratório (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Entretanto, deve-se ressaltar que em todos os mamíferos já estudados, apenas 15 % a 30 % dos espermatozóides teoricamente esperados são produzidos (HUCKINS, 1978; FRANÇA e RUSSELL, 1998). Portanto as perdas celulares são um componente integral do processo espermatogênico normal.

Na Tabela 3 encontram-se as razões entre os números de células de Sertoli e de células da linhagem espermatogênica em secções transversais de túbulos seminíferos no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero.

Tabela 3. Razões entre os números corrigidos de células germinativas e de células de Sertoli, no estágio 1 do ciclo do epitélio seminífero, em pacas adultas.

Tipos celulares	Razões
Células de Sertoli : Espermatogônias A	1 : 0,65
Células de Sertoli : Espermatócitos I PL/L	1 : 5,54
Células de Sertoli : Espermatócitos I PQ	1 : 5,24
Células de Sertoli : Espermátides Ar	1 : 12,90
Células de Sertoli : Total de células germinativas	1 : 24,36

PL/L = pré-leptóteno e leptóteno; PQ = paquíteno; Ar = arredondadas

As razões entre o número de células de Sertoli e de células germinativas, em secções transversais de túbulos seminíferos, podem ser interpretadas como sendo a capacidade de suporte das células de Sertoli (RUSSELL e PETERSON, 1984), ou seja, o número de células germinativas que cada célula de Sertoli pode dar suporte estrutural e nutricional, sendo portanto, um indicativo da eficiência funcional destas últimas (FRANÇA e RUSSELL, 1998). O equilíbrio entre proliferação e apoptose desempenha papel muito importante na regulação do número de células espermatogênicas no epitélio seminífero. Particularmente na fase espermatogonial, o mecanismo homeostático de regulação de apoptoses é considerado densidade-dependente, limitando a quantidade de células germinativas que entram na fase meiótica a um número que possa ser suportado pelas células de Sertoli disponíveis (HUCKINS, 1978, DE ROOIJ, 1998). Nos animais desta pesquisa cada célula de Sertoli foi capaz de suportar três vezes mais espermátides arredondadas do que a capacidade de suporte observada em cutias e duas vezes mais do observado em capivaras (PAULA et al, 1999; ASSIS NETO et al., 2003) sendo invariavelmente mais alto que os valores relatados para a maioria dos animais domésticos (FRANÇA e RUSSELL, 1998). Seguindo as tendências até agora relatadas, as razões entre células de Sertoli e espermatócitos primários em pré-leptóteno/leptóteno, paquítenos e total de células espermatogênicas de pacas adultas, foram bem superiores ao relatado para cutias e capivaras, evidenciando a maior eficiência funcional das células de Sertoli de pacas, em relação a esses membros da superfamília Cavioidae (PAULA et al., 1999; ASSIS NETO et al., 2003).

4.4 – Conclusões

A população das diferentes células germinativas de pacas, em secções transversais do túbulo seminífero no estágio 1 do ciclo de epitélio seminífero, se apresentaram dentro do intervalo observado na superfamília Cavioidea. Já a célula de Sertoli apresentou uma população inferior ao relatado nas diferentes espécies da superfamília Cavioidea. Desta forma, quanto à capacidade de suporte das células de Sertoli, os valores registrados em pacas foram maiores do que os relatados em outras espécies de roedores silvestres e principalmente das diversas espécies de mamíferos domésticos já estudados, indicando uma grande eficiência destas células na paca.

Observou-se que o processo de mitoses espermatogoniais pode apresentar uma perda de 86,7 % caso as pacas possuam seis gerações espermatogoniais. O rendimento meiótico e o rendimento geral da espermatogênese demonstraram, respectivamente, uma perda de 38,5 % e 93 % do valor total teoricamente estimado, estando dentro da amplitude observada para os demais mamíferos estudados.

4.5 - Referências Bibliográficas

- ABERCROMBIE, M. 1946. Estimation of nuclear populations from microtome sections. **Anatomical Record**, 94, p. 238-248.
- AMANN, R.P. & ALMQUIST, J.O. 1962. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal of Dairy Science**, 45, p. 774-781.
- AMANN, R.P. 1981. A critical review of methods of evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. **Journal of Andrology**, v.2, p.37-58.
- ASSIS-NETO, A.C., MELO, M.I.V., CARVALHO, M.A.M., MIGLINO, M.A., OLIVEIRA, M.F., AMBRÓSIO, C.E., SILVA, S.M.M.S., BLASQUEZ, F.X.H., PAPA, P.C., KFOURY JÚNIOR, J.R. 2003. Quantificação de células dos túbulos seminíferos e rendimento da espermatogênese em cutias (*Dasyprocta aguti*) criadas em cativeiros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, suppl.3, p.175-179.

- AZEVEDO, M.H.F., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. 2006. Morfometria testicular e o túbulo seminífero da onça pintada (*Panthera onca*). **Revista CERES**, nº 53(307): 374-381.
- BERNDTSON, W.E., DESJARDINS, C. 1974. The cycle of seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. **American Journal of Anatomy**, V.140, p. 167-180.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**, v.4, n.5, p.818-83.
- BITTENCOURT V L, PAULA T A R, MATTA S L P, FONSECA C C, COSTA D S, BENJAMIN L A, COSTA E P. 2007. The seminiferous epithelium cycle and daily spermatid production in the adult maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*, Illiger, 1811). **Mícron**, 38, 584-589.
- CALDEIRA, B. C. 2007. **Avaliação Morfofuncional do testículo e do processo espermatogênico do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*, Linnaeus, 1766) adulto**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 48p.
- CARDOSO, F.M., GODINHO, H.P. 1985. Daily sperm production of zebus (*Bos indicus*) estimated by quantitative histology of the testis. **Theriogenology**. v.23, n.6, p.841-847.
- CITES (**Conservation on International Trade in Endangered Species**). Disponível em: [http:// www.cites.org/eng/resources/species.html](http://www.cites.org/eng/resources/species.html). Acesso em 20 de março de 2008.
- CLERMONT, Y. 1972. Kinetics of spermatogenesis in mammals, seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. **Physiological Reviews**, 52:198-236.
- COSTA, D.S., PAULA, T.A.R. 2003. Espermatogênese em mamíferos. **Scientia** 4, 53-72.
- COSTA, DS., HENRY, M.; PAULA, TAR. 2004. Espermatogênese de Catetos (*Tayassu tajacu*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 46-51.
- COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T., ORTAVANT, R. 1970. Spermatogenesis. In: Johnson, A.D., Gomes, W.R., Vandemark, N.L. (ed). **The testis**. New York: Academic Press. v.1, cap. 6 : 339-432.

- DE ROOIJ, DG. 1998. Stem cells in the testis. **International Journal of Experimental Pathology**, 79:57-80.
- FRANÇA, L.R. 1991. **Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau**. Belo Horizonte: UFMG, 1991, 180p. Tese (Doutorado em Morfologia). Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.
- FRANÇA, L.R., JACKSON, A., RUSSEL, L.D. 1994. Hormone sensitivity of germ cells in stage XIV and in stage I of the rat spermatogenic cycle. **Tissue & Cell**, v.26, n.3, p. 375-383.
- FRANÇA, L.R., YE, S-J., YING, L., SANDBERG, M., RUSSEL, L.D. 1995. Morphometry of rat germs cells during spermatogenesis. **Anatomy Record**, v.241, p. 181-204.
- FRANÇA, LR., RUSSELL, LD. 1998. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & M.-G. (eds.). **Male reproduction. A multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, p. 197-219.
- GODINHO, HP., CARDOSO, FM.. 1979. Desenvolvimento sexual de porcos Yorkshire. II. Estabelecimento e evolução da espermatogênese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.31, p.351-361.
- GUERRA, M.O. 1983. Comparação entre dois métodos de determinação da frequência relativa dos estádios do ciclo do epitélio seminífero, em dados da literatura. **Revista Brasileira de Biologia**, v.43, n.4, p.385-394.
- GUIÃO-LEITE, F.L. 2002. **Análise morfológica do testículo e do processo espermatogênico da onça parda (*Puma concolor*) adulta**. Dissertação (Mestrado em morfologia) Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 64p.
- HUCKINS, C. 1978. The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: an analysis using a simplified classification of the germinal epithelium. **Anatomy Record**. 190(4), p. 905-26.
- IUCN (**International Union for Conservation of Nature**). "2006 IUCN Red List of Threatened Species" (On-line). Disponível em: [http:// www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Acesso em 20 de março de 2008.
- JOHNSON, L., PETTY, C.S., NEAVES, W.B. 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v. 25, p. 217-226.

- LEBLOND, C.P., CLERMONT, Y. 1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. **Annual New York Academic Science**, v.55, p.548-584.
- MACHADO, A.A.C., OHASHI, O. M. 1996. Estudo das características físicas e morfológicas do sêmen de *Agouti paca* (Linnaeus, 1766) (Agoutidae). In: **XXI Coologia**. Resumos... Porto Alegre, p.228.
- MATAMOROS, Y. 1981. Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). **Revista de Biología Tropical**, 29(1): 155-164.
- MASCARENHAS, R.M., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., LANNA, L.L., FONSECACC., NEVES, M.T.D. 2006. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. **Revista CERES**, n. 53. v. 305, p. 106-112.
- NOWAK, R. 1999. **Walker's Mammals of the World**, v. 2. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press. 1936 p.
- ORTAVANT, R., COUROT, M., HOCHEREAU-DE-REVIERS, M.T. 1977. Spermatogenesis in domestic mammals. In: COLE, H.H., CUPPS, P.T. (ed.). **Reproduction in domestic animals** . 3 ed. New York: Academic Press. Cap.8, p. 203-227.
- PAULA, T.A.R. 1999. **Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 84p. Tese (Doutorado em Morfologia).
- PAULA T.A.R., GARCIA H.C., FRANÇA L.R. 1999. Seminiferous epithelium cycle and its duration in capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Tissue & Cell**, 31:327-334.
- PAULA, T. A. R.; COSTA, D. S.; MATTA, S. L. P. 2002. Avaliação histológica quantitativa do testículo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Bioscience journal**, Uberlândia, v. 18, n. 1, p. 121-136.
- PASHOV, B. MATAMOROS, Y. 1984. Description histologica del epitelio seminifero del testiculo del tepezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson, 1762) e identificacion de sus diferentes etapas. **Ciência Veterinária**, v.1, p.9-15.
- ROMANO, H. S.; PEREIRA, T. ; FONSECA, C. C. ; PAULA, T. A. R. ; NEVES, M. T. D. ; MATTA, S. L. P. 2002. Avaliação do testículo e do processo espermatogênico em 5 diferentes espécies de roedores. In: **XI Simpósio de**

- Iniciação Científica**, Viçosa, MG. Resumos... Viçosa, MG : Universidade Federal de Viçosa, v. 1. p. 352-353.
- ROOSEN-RUNGE, E.C., GIESEL, Jr. L.O. 1950. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. **American Journal of Anatomy**, v. 87, n.1, p.1-30.
- ROOSEN- RUNGE, EC. 1973. Germinal-cell loss in normal metazoan spermatogenesis. **Journal of Reproduction & Fertility**, v. 35, p. 339-348.
- RUSSELL, LD., PETERSON, RN. 1984. Determination of the elongate spermatid-Sertoli cell ratio in various mammals. **Journal of reproduction & fertility**, v. 70, p. 635-641.
- RUSSEL, L.D., ETTLIN, R.A., SINHA HIKIM, A.P., CLEGG, E.D. 1991. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Clearwater, FL, Cache River Press, 286 p.
- RUSSELL, L. D. & GRISWOLD, M. D. 1993. **The Sertoli cell**. (ed) Cache River Press, Clearwater, Florida, 801 p.
- RUSSELL, L. D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A. P. 1994. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal of Andrology**, v. 17(2), p. 93-106.
- SARTI, P. 2006. **Avaliação morfométrica do testículo e da espermatogênese de jaguatiricas *Leopardus pardalis*, Linnaeus, 1758) adultas**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 56p.
- SHARPE, R. M. 1994. Regulation of spermatogenesis. In. Knobil, E. & Neil, J. D. (eds) **The physiology of reproduction**, 2ed. Raven Press, N.Y., p.1363-1434.
- SWIERSTRA, E.E. 1968. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis . **Anatomy Record**, v.161, p.171-186.
- URENA, F., BOLANOS, R. 1988. Tipos de espermatogônios em “Tepezcuintle” (*Cuniculus paca*). Estudo ultraestructural. **Revista de Biologia Tropical**, v.36:325-328.
- WING, .TY., CHRISTENSEN, A.K. 1982. Morphometric studies on rat seminiferous tubules. **American Journal of Anatomy**., v.165, p. 13-25.

5.0 – ORGANIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DO ESPAÇO INTERTUBULAR EM PACAS (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766) ADULTAS

Resumo

No presente trabalho objetivou-se o estudo quantitativo dos componentes do espaço intertubular e a descrição do seu arranjo no testículo de pacas adultas. O espaço intertubular é composto por células e fibras conjuntivas, leucócitos, vasos sanguíneos e linfáticos, juntamente com as células de Leydig, sendo estas diretamente responsáveis pela função endócrina do testículo. Essas células têm como principal produto a testosterona, hormônio responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias em machos e implicada no processo espermatogênico. A proporção e o arranjo dos componentes intersticiais variam entre as espécies de mamíferos estudadas, formando mecanismos que mantêm o nível de testosterona em concentrações maiores no fluido intersticial do que nos vasos sanguíneos testiculares, assim como na circulação periférica. O peso médio encontrado para o parênquima testicular foi de 8,6 g, sendo que 9,13 % deste peso correspondem ao espaço intertubular, na proporção de 5,7 % de tecido conjuntivo, 2,62 % células de Leydig, e 0,8 % de vasos sanguíneos e linfáticos. A organização dos componentes do espaço intertubular na paca a classifica como padrão tipo I, segundo a literatura. Os estudos morfométricos da célula de Leydig revelaram que seu diâmetro nuclear médio foi de 7,52 μm e seu volume nuclear de 222 μm^3 . As proporções de núcleo e citoplasma dessa célula são respectivamente 36,32 % e 63,68 %. A partir desses dados foi possível calcular o volume da célula de Leydig, sendo este em média 690 μm^3 na paca adulta. Relacionando-se o volume individual desta célula com o volume total ocupado pelo seu conjunto nos testículos pode-se estimar uma população total de 655,980 milhões de células de Leydig, correspondendo a uma média de 38 milhões de células de Leydig por grama de testículo. Na paca adulta cerca de 0,007 % do peso corporal está alocado exclusivamente em células de Leydig.

Palavras-chave: Espaço intertubular, paca, *Cuniculus paca*, célula de Leydig, índice leydigossomático.

ORGANIZATION AND QUANTIFICATION OF THE COMPONENTS OF THE INTERTUBULAR SPACE IN ADULT PACAS (*CUNICULUS PACA*, LINNAEUS 1766).

Abstract

This paper aims towards a quantitative study of the components of the intertubular space and the description of its layout in testicles of adult pacas. The intertubular space is comprised of conjunctive fibers and cells, leucocytes, lymphatic and blood vessels, along with Leydig cells, which are directly responsible to the testicle's endocrinal function. These cells' main product is testosterone, the hormone responsible for developing secondary sexual characteristics in males and implicated in the spermatogenic process. The proportion and layout of the interstitial components vary among the studied mammal's species, forming mechanisms that keep the testosterone level in greater concentrations in the interstitial fluid than in the testicular blood vessels, as well as in the peripheral circulation. The average weight found for the testicular parenchyma was 8.6 g, of which 9.13 % correspond to the intertubular space, in the proportion of 5.7 % of conjunctive tissue, 2.62 % Leydig cells and 0.8 % lymphatic and blood vessels. The organization of the components in the intertubular space in pacas categorizes them as pattern type-1, according to literature. The morphometric studies of the Leydig cell revealed that its average nuclear diameter is of about 7.52 μm and its nuclear volume is 222 μm^3 . The proportions of nucleus and cytoplasm of this cell are, respectively, 36.32 % and 63.68 %. These data made it possible to calculate the volume of the Leydig cell: 690 μm^3 in average in an adult paca. Crossing these data, i.e. the individual volume of this cell and the total volume occupied by its conjunct in testicles, it is possible to estimate a total population of 655.980 million Leydig cells, corresponding to an average of 38 million Leydig cells per testicle gram. In the adult paca, approximately 0.007 % of its body weight is placed exclusively in Leydig cells.

Keywords: Intertubular space, paca, *Cuniculus paca*, Leydig cell, Leydigosomatic index.

5.1- Introdução

O testículo dos mamíferos é dividido funcionalmente em dois compartimentos básicos: o tubular e intertubular. O primeiro é formado pelos túbulos seminíferos, responsáveis pela produção de espermatozoides, enquanto que o segundo representa a porção endócrina funcional do testículo. É bastante variável a proporção entre estes compartimentos, sendo um dos principais fatores responsáveis pelas diferenças observadas na eficiência da produção espermática nas diversas espécies de mamíferos (FRANÇA & RUSSELL, 1998). Nas espécies domésticas estudadas o compartimento tubular corresponde à maior parte do parênquima testicular (FRANÇA & RUSSELL, 1998).

O compartimento intertubular, ou intertúbulo, é composto por vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervos, uma população variada de células que inclui fibroblastos, macrófagos e mastócitos e células de Leydig (RUSSELL, 1996). Estas últimas são o principal componente celular do compartimento intertubular (HOOKER, 1970). Uma grande variação no percentual volumétrico e no arranjo entre os componentes do intertúbulo é observada entre as diferentes espécies de mamíferos já estudadas. Segundo FAWCETT et al. (1973), estes diferentes arranjos podem ser definidos em três diferentes padrões, de acordo com a profusão e localização da drenagem linfática, aliada à uma variável quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular. Apesar do pouco conhecimento a respeito das implicações fisiológicas destas variações, FAWCETT et al. (1973) especularam que as mesmas provavelmente estariam relacionadas com a habilidade dos vasos linfáticos de mover para fora dos testículos substâncias vascularmente secretadas, além de manter as concentrações adequadas de andrógenos no testículo e nos vasos sanguíneos.

De modo geral, os roedores apresentam o padrão do tipo I descrito por FAWCETT et al. (1973), onde pequena quantidade de células de Leydig e os vasos sanguíneos encontram-se separados dos túbulos seminíferos por um espaço linfático bem desenvolvido. Este espaço linfático é revestido pela camada endotelial visceral, a qual envolve as células de Leydig e os vasos sanguíneos, e pela camada parietal que se encontra em contato com a túnica própria dos túbulos seminíferos.

Não se sabe ainda a razão da enorme variação populacional das células de Leydig entre indivíduos de espécies diferentes e mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Dentre os inúmeros fatores que podem influenciar na quantidade de células de Leydig

por animal, estão: a quantidade de hormônio luteinizante (LH) disponível; o número de receptores de LH por células; a quantidade de testosterona que a célula de Leydig é capaz de secretar por unidade de tempo; a velocidade pela qual a testosterona deixa o testículo via vasos linfáticos, vasos sanguíneos e fluido seminal; o volume sanguíneo do animal e a taxa de metabolismo da testosterona (RUSSELL et al., 1994; RUSSELL, 1996). No entanto, estudos correlacionando à estrutura e à função das células de Leydig em várias espécies de mamíferos mostraram que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual desta célula em secretar testosterona do que de diferenças do volume total das mesmas no testículo (EWING et al., 1979). Esta capacidade está altamente associada com a quantidade de retículo endoplasmático liso presente na célula de Leydig (ZIRKIN et al., 1980).

O estudo das características morfofuncionais do espaço intertubular de uma espécie, principalmente em seus aspectos básicos, são de grande importância, visto as contribuições para o desenvolvimento de biotécnicas aplicadas à reprodução, que podem gerar maiores resultados quando aplicadas a estudos visando à produção comercial ou a conservação de uma espécie.

Tais técnicas podem vir a ser de grande ajuda em estudos conservacionistas da paca, que apesar de se encontrar em baixo risco de extinção, de acordo com o Conservation on International Trade in Endangered Species (CITES, 2008), apresenta um futuro incerto, visto a continuidade do desmatamento do seu habitat natural associado a sua caça ilegal (NOWAK, 1999; IUCN, 2006). Esses estudos também podem auxiliar na produção comercial de pacas, visto grande interesse comercial pela sua carne, considerada de ótima qualidade (STRADIOTTI, 2006).

Assim, o presente trabalho teve como objetivos caracterizar e classificar o espaço intertubular do testículo de pacas adultas (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766), quantificar os diferentes constituintes do espaço intertubular e determinar a população de células de Leydig por unidade de massa testicular, relacionando seu volume com a massa corporal.

5.2- Material e Métodos

Para a realização desse trabalho foram realizados cinco procedimentos de hemicastração em pacas (*Cuniculus paca*, Linnaeus 1766), para a confecção de lâminas histológicas. Os cinco animais utilizados foram devidamente autorizados pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA (licença

062/05 NUFAS/MG) e pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da UFV (processo nº 09/2008). Quanto à origem dos animais utilizados, quatro pertenciam ao criatório comercial legalizado “Fazenda Um Sonho a mais”, localizado no município de Carangola – MG, e um destes ao Centro de triagem de Animais silvestres da Universidade Federal de Viçosa.

Previamente aos procedimentos de coleta os animais passaram por jejum de 12 horas para, após esse período, serem contidos fisicamente e receberem a aplicação intramuscular de uma associação anestésica de cloridrato de quetamina (10 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1 mg/kg). Com os animais anestesiados foram aferidos o peso de cada animal assim como foram feitas palpações dos testículos para se averiguar a integridade destes.

A hemicastração foi realizada pela técnica de rotina e após o testículo coletado foi isolado do epidídimo, teve a albugínea perfurada em vários pontos e foi imerso em solução fixadora de Karnovsky (Paraformaldeído 4% e aldeído glutárico (Merck®) 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,4) à temperatura ambiente, ficando posteriormente, armazenado sob refrigeração, no mesmo tampão, até o processamento histológico. No final do procedimento, cada animal foi medicado com agentes antiinflamatórios (Flunixin Meglumine, Banamine – Schering-Plough S/A, 1,1 mg/kg de peso) e antibióticos (penicilina, 20.000 UI/kg de peso).

Os testículos recolhidos foram pesados em balança de precisão e após dissecação foram pesados separadamente o epidídimo, mediastino e albugínea de cada testículo. Uma vez que a densidade do testículo é muito próxima de 1,0 (JOHNSON et al., 1981), o volume do testículo removido foi considerado como sendo igual ao seu peso. Para o cálculo do peso total dos testículos de cada animal, o peso do testículo contralateral foi considerado igual ao peso do testículo coletado, uma vez que nos animais já estudados nenhuma variação significativa é observada entre o peso do testículo direito e esquerdo (FRANÇA & RUSSELL, 1998; MASCARENHAS et al., 2006). O volume do parênquima testicular foi calculado subtraindo-se do peso testicular o peso da albugínea e o mediastino. Embora parênquima testicular não seja um termo totalmente adequado para citar o testículo desprovido de albugínea e mediastino testiculares este é amplamente mencionado na literatura (BERNDTSON, 1977; JOHNSON et al., 1981; RUSSEL et al. 1990; JOHNSON et al., 2000)

Foram coletados fragmentos de cada testículo para o processamento histológico. Esses foram desidratados em bateria de álcoois em concentrações crescentes e

infiltrados em dois banhos de resina plástica a base de glicol metacrilato (Hystoresin, *Leica Instruments*) e incluídos na mesma resina adicionada de endurecedor (dimetil sufóxido), conforme recomendação do fabricante. Foram realizados cortes de 4,0 µm de espessura em micrótomo rotativo com de navalhas de vidro, e posteriormente foram corados com azul de toluidina e borato de sódio a 1,0 %. Todo o processamento histológico foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia geral da UFV.

O cálculo da proporção volumétrica dos componentes do parênquima testicular foi feito fotografando-se 20 campos, em aumento de 200 vezes, escolhidos ao acaso por meio de varredura horizontal dos cortes histológicos. Foi sobreposta as imagens uma graticula com 432 intercessões consideradas como pontos. Foram computados os pontos coincidentes com os túbulos seminíferos, núcleos de células de Leydig, citoplasma de células de leydig, tecido conjuntivo e vasos (sanguíneos e linfáticos), perfazendo um total de 8640 pontos computados por animal. A partir da proporção encontrada dos componentes do parênquima testicular foi possível calcular do volume de cada um.

Para a estimativa das dimensões volumétricas da célula de Leydig foi realizada a mensuração do diâmetro de dez núcleos dessas, com auxílio de microscópio de luz em aumento de mil vezes, com uma ocular micrométrica acoplada. A contagem obtida foi corrigida utilizando-se a fórmula de ABERCROMBIE (1946) modificada por AMANN (1962). Com o diâmetro médio do núcleo das células de Leydig foi calculado o seu volume, utilizando-se a fórmula $\frac{4}{3} \pi r^3$, onde r é o raio nuclear médio encontrado. Com o volume do núcleo obtido e sua proporção no volume total da célula de Leydig, calculou-se o volume de uma célula, inferindo-se este valor ao volume total de células de Leydig por testículo, obtendo-se então o seu número por testículo e, conseqüentemente, por grama de testículo.

Os dados apresentados nessa pesquisa estão em médias e desvios padrão, calculados a partir da função estatística do programa EXCEL for Windows XP.

5.3- Resultados e discussão

Segundo FAWCETT et al. (1973), a drenagem linfática, aliada à quantidade de células de Leydig e tecido conjuntivo frouxo no espaço intertubular, nas diferentes espécies de mamíferos segue, em geral, três padrões distintos: 1) espécies nas quais as células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no

compartimento intertubular, contrastando com extensos sinusóides ou espaços linfáticos interpostos aos túbulos seminíferos; 2) espécies que apresentam grupos de células de Leydig espalhados em abundante tecido conjuntivo frouxo edemaciado, o qual é drenado por um vaso linfático localizado central ou excêntrica no espaço intertubular; 3) espécies nas quais abundantes grupamentos de células de Leydig ocupam praticamente todo o compartimento intertubular, apresentando pouco tecido conjuntivo e vasos linfáticos. Pacas adultas apresentam claramente o padrão do tipo I da classificação de FAWCETT et al. (1973) (Figura 1). É possível a observar uma pequena quantidade de células de Leydig que, juntamente com os vasos sanguíneos, encontram-se separadas dos túbulos seminíferos por um espaço linfático bem desenvolvido. Este espaço linfático é revestido pela camada endotelial visceral, a qual envolve as células de Leydig e os vasos sanguíneos, e pela camada parietal que se encontra em contato com a túnica própria dos túbulos seminíferos (Figura 1). Todos os demais roedores estudados, ainda que com pequenas modificações, se enquadram também no padrão tipo I da classificação segundo FAWCETT et al. (1973).

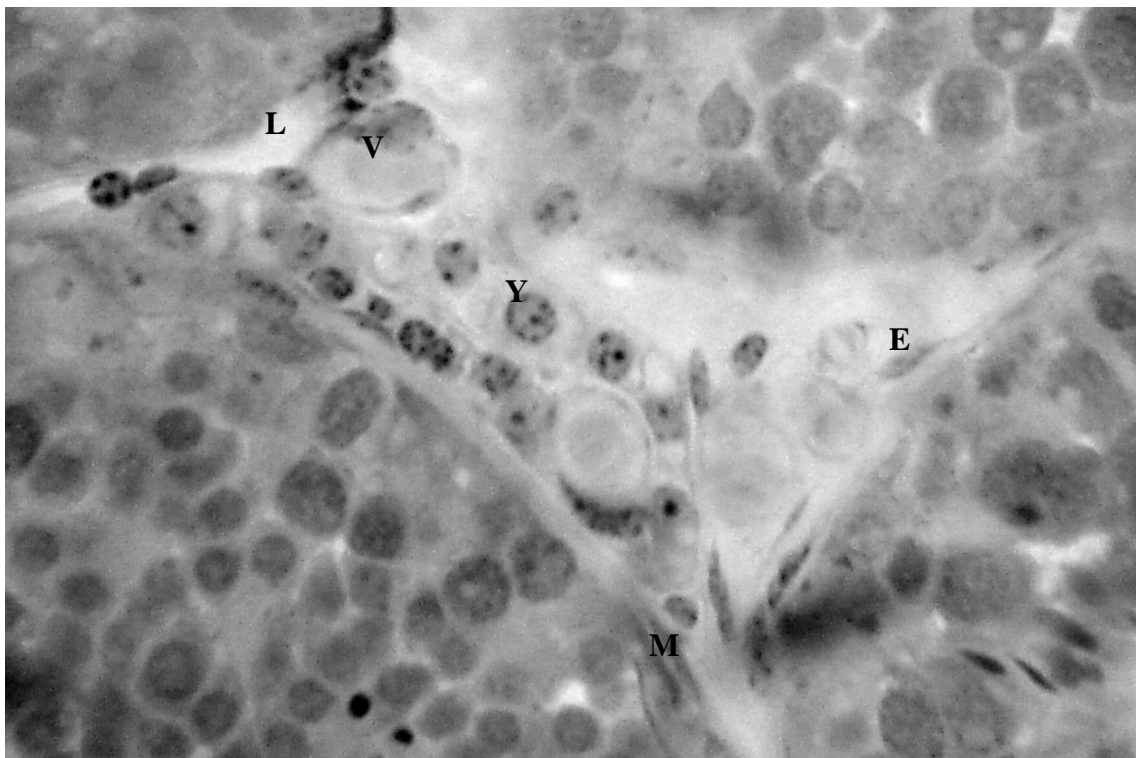


Figura 1 – Tecido intersticial de paca observado em microscópio de luz, 420 x.

E = célula endotelial, M = célula mióide, Y = célula de Leydig, V = vaso sanguíneo, L = espaço linfático.

Os dados de proporção volumétrica dos diferentes componentes do espaço intertubular de pacas adultas encontram-se registrados na Tabela 1. A proporção volumétrica ocupada pelo tecido conjuntivo associado ao espaço linfático dos animais estudados foram os componentes mais abundantes do tecido intertubular, representando, em média, 5,7 % do parênquima testicular (Tabela 1). Este valor é inferior ao observado em capivaras (PAULA et al, 2007), outro roedor pertencente a superfamília Cavioidae. Quanto à volumetria proporcional dos vasos sanguíneos, a paca, apresentou apenas 0,8 % do parênquima testicular alocado em vasos sanguíneos (Tabela 1), valor bastante inferior aos 7,4 % observados na capivara (PAULA et al, 2007).

Na maioria dos mamíferos estudados o principal componente do compartimento intertubular é a célula de Leydig. Na paca a proporção volumétrica das células de Leydig representa cerca de 2,62 % do parênquima testicular (Tabela 1). Segundo ROMANO et al., 2002, a proporção volumétrica de células de Leydig no parênquima testicular do cobaio (2,82 %), rato (2,48 %) e gerbil (2,63 %) foram muito próximos ao observado para pacas adultas, enquanto que no camundongo estes valores são maiores chegando a cerca de 4 % do parênquima testicular. Surpreendentemente a capivara apresenta os maiores valores proporcionais de células de Leydig no parênquima testicular já registrado em mamíferos (35 %; ROMANO et al., 2002; PAULA et al, 2007,).

Tabela 1. Dados referentes a proporção volumétrica dos componentes do compartimento intertubular na paca adulta.

Animal	Núcleo de células de Leydig (%)	Citoplasma de células de Leydig (%)	Total de células de Leydig (%)	Tecido conjuntivo e espaços linfáticos (%)	Vasos sanguíneos (%)
1	0,91	1,94	2,85	5,94	1,19
2	0,79	1,71	2,50	6,13	0,62
3	0,90	1,64	2,54	5,00	0,46
4	0,84	1,75	2,59	5,63	1,00
5	0,80	1,83	2,63	5,78	0,75
Média	0,85	1,77	2,62	5,69	0,80
dp*	0,05	0,10	0,12	0,38	0,26

*dp = desvio padrão

O diâmetro e volume nuclear médios encontrado para as células de Leydig em pacas adultas foram de 7,52 μm e 222,86 μm^3 (Tabela 2). Com os dados da proporção volumétrica para a célula de Leydig foi possível estimar a proporção entre núcleo e citoplasma desta, sendo em média 32,36 % correspondente a núcleo e os 67,64 % restantes ao citoplasma. A partir desses valores foi possível o cálculo do volume de uma célula de Leydig de 691 μm^3 (Tabela 2). Valores próximos são relatados para as células de Leydig do porco e do carneiro (400 μm^3 , ALMEIDA, 2002; LUSNTRA & SCHANBACHER, 1988). Já em relação a outros roedores, o volume celular da célula de Leydig da paca é metade dos valores registrados para o camundongo e para o cobaio (1500 μm^3 RUSSELL, 1996) e para o rato (1500 μm^3 , RUSSELL & FRANÇA, 1995). Porém quando comparados aos valores reportados para a capivara (2169 μm^3 , COSTA & PAULA, 2006, o volume médio da célula de Leydig da paca é cerca de três vezes menor.

Como é sabido, as células de Leydig são as principais responsáveis pela produção de esteróides. No entanto, não se sabe ainda a razão da enorme variação observada para o percentual ocupado por estas células no testículo. Estudos correlacionando a estrutura e a função das células de Leydig em várias espécies de mamíferos mostraram que variações na secreção de testosterona resultam mais da capacidade individual destas células em secretar testosterona do que de diferenças do volume total das mesmas no testículo (EWING et al., 1979). Segundo COSTA & PAULA (2006), uma correlação positiva foi observada entre o volume da célula de Leydig e o nível de testosterona circulante em capivaras.

Tabela 2. Valores médios da célula de Leydig para diâmetro nuclear, volume nuclear, proporção nuclear e volume total da célula em pacas adultas.

Parâmetro	Média \pm Desvio padrão
Diâmetro nuclear (μm)	7,52 \pm 0,14
Volume nuclear (μm^3)	222,86 \pm 1,26
Proporção nuclear (% da célula)	32,36 \pm 1,86
Volume celular (μm^3)	690,96 \pm 63,29

N = 5

O volume total médio das células de Leydig, em ambos os testículos da paca adulta, foi de aproximadamente 0,45 mL (Tabela 3). No intuito de avaliar a variação individual destas células na paca, inferiu-se à massa corporal a proporção volumétrica de células de Leydig, obtendo-se o índice leydigossomático, que representa o percentual da massa corporal alocada em células de Leydig. Em pacas estas células ocupam em média 0,007 % (Tabela 3) do peso corporal com uma amplitude de 0,0045 a 0,008 % (ILS), sendo este aproximadamente 5 vezes menor que o observado em capivaras (0,037 % COSTA & PAULA, 2006), camundongos e gerbil (ROMANO et al., 2002) e metade dos valores observados para o rato e para o cobaio (ROMANI et al., 2002).

Observou-se na paca uma quantidade total de células de Leydig de aproximadamente 656 milhões, o que representou 36 milhões de células de Leydig por grama de testículo. Embora estando esse valor dentro da amplitude descrita para a maioria dos mamíferos, entre 20 e 40 milhões (RUSSELL, 1996; FRANÇA & RUSSELL, 1998), apresenta-se bem menor ao observado na capivara, onde cerca de 126 milhões de células de Leydig por grama de testículo foram quantificadas (COSTA et al., 2006). A quantidade de células de Leydig parece variar bastante entre os indivíduos e entre espécies de mamíferos, não sendo esta variação encontrada para outras glândulas endócrinas (FAWCETT et al., 1973; PAULA, 1999).

Tabela 3. Peso corporal, peso de ambos os testículos, volume total de células de Leydig em ambos os testículos, número de células de Leydig em ambos os testículos, número de células de Leydig por grama de testículo e índice leydigossomático, em pacas adultas.

Parâmetro	Média \pm desvio padrão
Peso corporal (kg)	6,4 \pm 1,51
Peso de ambos os testículos (g)	18,22 \pm 5,61
Volume total de células de Leydig (ml)	0,44 \pm 0,13
Número de células de Leydig em ambos os testículos (10^6)	655,98 \pm 216,5
Número de células de Leydig por grama de testículo (10^6)	35,88 \pm 2,8
Índice Leydigossomático	0,007 \pm 0,001

N=5

5.4- Conclusões

Por meio do arranjo dos diferentes componentes intertubulares foi possível o enquadramento da paca dentro do padrão do tipo 1 descrito na literatura.

Quanto à proporção volumétrica de células de Leydig no parênquima testicular, a paca encontra-se próximo ao observado para a maioria dos roedores já estudados, porém, quanto ao volume individual da célula de Leydig e ao índice leydigossomático os valores médios registrados para a paca são invariavelmente menores.

O número de células de Leydig por grama de testículo da paca encontra-se dentro da amplitude observada para a maioria dos mamíferos já estudados.

5.5- Referências bibliográficas

- ABERCROMBIE, M. 1946. Estimation of nuclear populations from microtome sections. **Anatomy Record**, v. 94: 238-248.
- ALMEIDA, F.F.L. 2002. **Estrutura e funções testiculares em javalis (*Sus scrofa scrofa*) sexualmente maduros**. Dissertação (Mestrado em morfologia), Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 65 pp..
- AMANN, R.P. & ALMQUIST, J.O. 1962. Reproductive capacity of dairy bulls. VIII. Direct and indirect measurement of testicular sperm production. **Journal of Dairy Science**. 45: 774-781.
- BERNDTSON, W.E. 1977. Methods for quantifying mammalian spermatogenesis: a review. **Journal of Animal Science**, v.4, n.5, p.818-83.
- CITES (**Conservation on International Trade in Endangered Species**). Disponível em: [http:// www.cites.org/eng/resources/species.html](http://www.cites.org/eng/resources/species.html). Acesso em 20 de março de 2008.
- COSTA, D. S.; PAULA, T. A. R. 2006. Testosterone level, nasal gland volume and Leydig cell morphometry in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 1086-1091.
- EWING, L. L., ZIRKIN, B. B., COCHRAN, R. C., KROMANN, N. 1979. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes perfused in vitro: correlation with Leydig cell mass. **Endocrinology**, v. 105, p. 1135 - 1142.

- FAWCETT, D. W., NEAVES, W. B., FLORES, M. N. 1973. Comparative observations on intertubular lymphatic and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. **Biology of Reproduction**, v. 9, p. 500 - 532.
- FRANÇA, LR., RUSSELL, LD. 1998. The testis of domestic animals. In: Regadera, J. & Martinez-Garcia (eds.). **Male reproduction: A multidisciplinary overview**. Churchill Livingstone, Madrid, p. 197-219.
- HOOKER, C. W. 1970. The intertubular tissue of the testis In: **The testis development, anatomy and physiology**. Nova York: Academic Press, v. 1, cap. 8, p. 483 - 550.
- IUCN (**International Union for Conservation of Nature**). "2006 IUCN Red List of Threatened Species" (On-line). Disponível em: [http:// www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). Acesso em 20 de março de 2008.
- JOHNSON, L., PETTY, C.S., NEAVES, W.B. 1981. A new approach to qualification of spermatogenesis and its application to germinal cell attrition during human spermatogenesis. **Biology of Reproduction**, v. 25, p. 217-226.
- JOHNSON, L., VARNER, D. D., ROBERTS, M. E., SMITH, T. L., KEILLOR, G. E., SCRUTCHFIELD, W. L. 2000. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. **Animal Reproduction Science**. v. 60-61, p. 471-480.
- LUSNTRA, D.D., SCHANBACHER, B.D. 1988. Testicular function and Leydig cell ultrastructure in long-term bilateral cryptorchid rams. **Biology of Reproduction**. 38, 211-220.
- MASCARENHAS, R.M., PAULA, T.A.R., MATTA, S.L.P., LANNA, L.L., FONSECA, C.C., NEVES, M.T.D. 2006. Morfometria macro e microscópica e índices somáticos dos componentes testiculares de cães sem raça definida, da puberdade à senilidade. **Revista CERES**, n. 53. v. 305, p. 106-112, 2006.
- NOWAK, R. 1999. **Walker's Mammals of the World**, v. 2. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press, 1936 p.
- PAULA, T.A.R. 1999. **Avaliação Histológica e Funcional do Testículo de Capivaras Adultas (*Hydrochoerus hydrochaeris*)**. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 84p. Tese (Doutorado em Morfologia).
- PAULA, T. A. R.; MATTA, S. L. P.; SILVA JÚNIOR, V. A.; COSTA, D. S.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. 2007. Intertubular space characterization in adult capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) testis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 50, n. 5, p. 289-297.

- ROMANO, H. S. ; PEREIRA, T. ; FONSECA, C. C. ; PAULA, T. A. R. ; NEVES, M. T. D. ; MATTA, S. L. P. 2002. Avaliação do testículo e do processo espermatogênico em 5 diferentes espécies de roedores. In: **XI Simpósio de Iniciação Científica**. Resumos... Viçosa, MG : Universidade Federal de Viçosa, v. 1. p. 352-353.
- RUSSELL, L. D., ETTLIN, R. A., SINHA-HIKIM, A. P., CLEGG, E. D. 1990. **Histological and histopathological evaluation of the testis**. Cache River Press, Clearwater, Florida.
- RUSSELL, L. D., CHANDRASHEKAR, V., BARTKE, A., SINHA-HIKIM, A. P. 1994. The hamsters Sertoli cell in early testicular regression and early recrudescence: a stereological and endocrine study. **International Journal of Andrology**, v. 17(2), p. 93-106.
- RUSSELL, L.D., FRANÇA, L.R. 1995. Building a testis. **Tissue & Cell**, v. 27(2), p. 129-147.
- RUSSELL, L. D. 1996. Mammalian Leydig cell structure. In: Payne, A. H., Hardy, M. P., Russell, L. D. (eds). **The Leydig cell**. Cache River Press. Vienna, IL., cap. 10, p. 218-222.
- STRADIOTTI, C.P. 2006. **Anatomia dos órgãos reprodutivos do macho e método de coleta de sêmen em pacas (Agouti paca)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Campos dos Goytacazes. Dissertação (Mestrado em anatomia), 47p.
- ZIRKIN, B. R., EWING, L. L., KROMANN, N., COCHRAN, R. C. 1980. Testosterone secretion by rat, rabbit, guinea pig, dog, and hamster testes in vitro: correlation with Leydig cells ultrastructure. **Endocrinology**, v. 107, p. 1867-1874.

6.0 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo do presente trabalho foi o estudo das características morfofisiológicas do testículo e do processo espermatogênico em pacas (*Cuniculus paca*) adultas. Os resultados obtidos nesta dissertação foram agrupados em três diferentes trabalhos visando à facilitação de sua divulgação em revistas e periódicos afins. A partir dos dados obtidos nos diferentes trabalhos foi possível concluir:

1- A proporção de massa corporal alocada em testículos foi de 0,28% na paca, sendo este valor próximo ao observado em roedores de maior porte, como a capivaras e castores canadenses.

2- A proporção volumétrica de mediastino e albugínea testiculares na paca (5,91%) encontra-se bem abaixo do observado nas espécies de mamíferos domésticos.

3- A proporção volumétrica de túbulos seminíferos na paca (90.87%) encontra-se entre os valores mais altos entre os roedores já estudados.

4- O diâmetro tubular e a altura do epitélio seminífero foram em média 202,05 μm e 63,05 μm respectivamente.

5- O comprimento de túbulos seminíferos por grama de testículo em pacas adultas (29,7 m/g) destaca-se entre os mamíferos já estudados.

6- O índice tubulossomático (ITS) da paca (0,24%) se assemelha ao do observado em espécies monogâmicas ou poligínicas, sendo um dos mais baixos dentro da ordem Rodentia.

7- As células de Leydig e o tecido conjuntivo ocupam uma área muito pequena no compartimento intertubular, contrastando com extensos sinusóides ou espaços linfáticos interpostos aos túbulos seminíferos.

8- A proporção volumétrica de células de Leydig no parênquima testicular da paca (2,62%) encontra-se muito próximo ao observado para os roedores já estudados.

- 9- O volume médio total de células de Leydig, em ambos os testículos foi de 0,44ml.
- 10- A proporção entre núcleo e citoplasma da célula de Leydig da paca foi de respectivamente 32,36 e 77,64%.
- 11- O volume individual da célula de Leydig ($690\mu\text{m}^3$) e o índice leydigossomático (ILS – 0,007%) na paca são invariavelmente menores que dos demais roedores estudados.
- 12- A paca apresenta em média 38 milhões de células de Leydig por grama de testículo, valor este dentro do intervalo observado para os mamíferos já estudados.
- 13- A população celular das diferentes células germinativas de pacas, em secções transversais do túbulo seminífero no estágio 1 do CES, se apresentaram dentro do intervalo observado na superfamília Cavioidea.
- 14- A população de células de Sertoli em secções transversais do túbulo seminífero no estágio 1 do CES (3,36 células), está abaixo dos valores conhecidos para a superfamília Cavioidea. Por outro lado, a capacidade de suporte da célula de Sertoli na paca é superior aos valores de outros roedores e principalmente das diversas espécies de mamíferos domésticos já estudados, indicando uma grande eficiência destas células nessa espécie.
- 15- O processo de mitoses espermatogoniais na paca pode apresentar uma perda de 86,7% caso estas possuam seis gerações de espermatogônias.
- 16 - O rendimento meiótico o rendimento geral da espermatogênese apresentaram, respectivamente, uma perda de 38,5% e 93% do valor total teoricamente estimado caso não houvesse perdas, estando esses valores dentro do observado para a maioria das espécies estudadas.