

ALEXANDRE LUIZ WEBER

**COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES
SEMINAIS E A FERTILIDADE DO RATO**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
obtenção do Grau de Médico no Curso
de Graduação em Medicina.

FLORIANÓPOLIS

1998

ALEXANDRE LUIZ WEBER

**COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES
SEMINAIS E A FERTILIDADE DO RATO**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a
obtenção do Grau de Médico no Curso
de Graduação em Medicina.

Coordenador: Prof. Dr. Edson José Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Armando José d'Acampora.

Co-orientador: Dr. Edevard José de Araújo.

FLORIANÓPOLIS

1998

Weber, Alexandre Luiz. *Comparação entre a técnica de micropipetagem de sêmen do epidídimo de rato e fertilidade*. Florianópolis, 1998.
38p.

Trabalho apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina, para a obtenção do Grau de Médico no Curso de Graduação em Medicina – Universidade Federal de Santa Catarina.

1. Fecundidade 2. Sêmen 3. Ratos

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao meu orientador **Prof. Dr. ARMANDO JOSÉ d'ACÂMPORA**, Chefe da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Universidade Federal de Santa Catarina, pelas orientações e incansáveis esforços para o desenvolvimento da cirurgia experimental em nosso meio.

Ao meu orientador e mentor **Dr. EDVARD JOSÉ ARAUJO** meu especial agradecimento, não apenas pelas orientações no plano científico, mas também por ter-se revelado um grande amigo e exemplo de austeridade e perseverança a ser seguido.

Aos acadêmicos do curso de Medicina **EDUARDO ARNAUT DOS SANTOS LIMA** e **ANDRÉ LUIS BRAGAGNOLO BORDIN**, amigos nas incontáveis horas de alegria e poucas horas difíceis, porém sempre superadas com competência e bom humor.

Ao Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental, seus professores e um agradecimento especial ao funcionário **Sr. LUIS HENRIQUE PRAZERES**.

Ao Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, especialmente sua diretora, **Sr^a. JOANÉSIA MARIA JUNKES ROTHSTEIN**.

Aos cirurgiões Serviço de Cirurgia Pediátrica do Hospital Infantil Joana de Gusmão, em especial ao **Dr. MURILLO RONALD CAPELLA**.

Ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, na figura de seu diretor **LUIZ ALBERTO PEREGRINO FERREIRA**.

Ao Laboratório Médico Santa Luzia, na figura de seu diretor **JOÃO NILSON ZUNINO**. À bioquímica **DENISE MICHELS**.

À **PROF^a. DR^a. SÍLVIA MODESTO NASSAR E PROF. MASANAU OHIRA** pela orientação estatística.

Aos amigos em Graduação do Curso de Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina.

À todos os familiares e amigos.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO.....	3
3. MÉTODO	4
4. RESULTADOS.....	11
5. DISCUSSÃO.....	14
6. CONCLUSÃO	18
7. REFERÊNCIAS	19
NORMAS ADOTADAS.....	23
RESUMO	24
SUMMARY	25
APÊNDICE 1.....	26
ANEXO 1	27
ANEXO 2	30

1. INTRODUÇÃO

Na reprodução humana são necessários três componentes: fertilidade feminina, fertilidade masculina e coito eficaz^{1,2,3,4}.

A fertilidade feminina depende de ovulação normal (eixo hipotálamo-hipófise-ovariano íntegro), tubas permeáveis e condições favoráveis à fecundação, migração, nidação e desenvolvimento do ovo^{1,2}.

O coito, para ser eficaz deve ocorrer em época adequada, isto é, durante o período fértil^{1,2,3}.

A fertilidade masculina depende da produção de espermatozóides em quantidade suficiente, com boa motilidade e morfologia, sem obstáculos no trajeto do testículo ao meio ambiente, em secreções glandulares adequadas^{3,4,5,6}.

O espermograma é o mais importante exame laboratorial solicitado ao homem na avaliação da sua fertilidade^{3,4}, obtido por coleta de amostras do produto de masturbação, colhidas sob condições padronizadas. A análise seminal compreende : 1) estudo físico, medida do volume, da cor, do aspecto, odor, viscosidade, liquefação e pH do sêmen; 2) estudo citomorfométrico, medida da concentração, motilidade e aglutinação do espermatozóide; 3) morfologia do espermatozóide; 4) bioquímica do plasma seminal, com a medida da quantidade de frutose, ácido cítrico, fosfatase ácida; 5) identificação de leucócitos no sêmen e, 6) análise de penetração do espermatozóide^{3,4,5,6}.

Dentre os diversos trabalhos experimentais que avaliaram a fertilidade, o teste do acasalamento foi o mais utilizado^{7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22}. Outros métodos como, inseminação artificial, foram menos realizados^{23,24}. Isso deve-se ao fato de analisar não somente, os parâmetros seminais em termos de

quantidade, mas também em qualidade dos espermatozóides produzidos, avaliando desta forma, os três componentes essenciais da reprodução, obtendo-se o produto final da mesma.

Entretanto, nos seres humanos, esse método é inexequível, e o ideal seria conseguir aproximar a avaliação metodológica realizada em humanos para os trabalhos experimentais, mantendo a confiabilidade na análise.

Uma técnica de micropunção e microanálise desenvolvida para avaliar glândulas sudoríparas, salivares, pâncreas e tireóide, foi adaptada para avaliar os fluidos seminais²⁵. Devido esta técnica exigir materiais e métodos peculiares, tornando-a de difícil reprodutibilidade, foi desenvolvida uma variação, onde o sêmen do rato era aspirado da cauda do epidídimo²⁶.

Foi demonstrado que o aspirado do sêmen permite uma avaliação adequada e confiável dos valores da motilidade e concentração de espermatozóides²⁷.

Um questionamento levantado seria se tais valores refletem a fertilidade do animal, ou seja, se apenas a motilidade e a concentração dos espermatozóides permitiriam prever a capacidade prolífica do animal.

Restaria agora, confrontar esta técnica de obtenção de esperma e análise da motilidade e concentração espermática à técnica de fertilidade, avaliando se há correlação entre os parâmetros seminais do rato, obtido pela técnica de microaspiração no epidídimo, e o teste do acasalamento.

2. OBJETIVO

Correlacionar parâmetros seminais (motilidade e concentração de espermatozoides) do rato com a sua capacidade prolífica.

3. MÉTODO

AMOSTRA

Foi utilizado um único grupo com 40 ratos (20 ratos e 20 ratas) albinos da linhagem **WISTAR** (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mamalia*), variedade UFSC. Os ratos foram acasalados com 70 dias de idade (machos e fêmeas com peso médio de 160 gramas). Aos 160 dias de vida, todos os machos foram submetidos ao procedimento da microaspiração de esperma do epidídimo.

Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Durante toda a investigação os ratos foram acondicionados em gaiolas de plástico de 16 X 40 X 60 centímetros (cm), receberam alimentação própria para a espécie e água disponíveis, permaneceram acomodados à luz natural e em condições de ambiente adequadas.

TESTE DO ACASALAMENTO

No teste do acasalamento foi utilizado o método de **POILEY**²⁸ para 7 grupos, com acasalamento monogâmico permanente, com duração de 14 semanas, compatível com a obtenção de 4 gestações (**Figura 1**). A capacidade

fértil das fêmeas não eram conhecidas, caso não se obtivesse nenhuma gestação o casal era eliminado da amostra.

Para a avaliação da fertilidade observou-se o número de gestações e o número de filhotes conseguintes das mesmas.

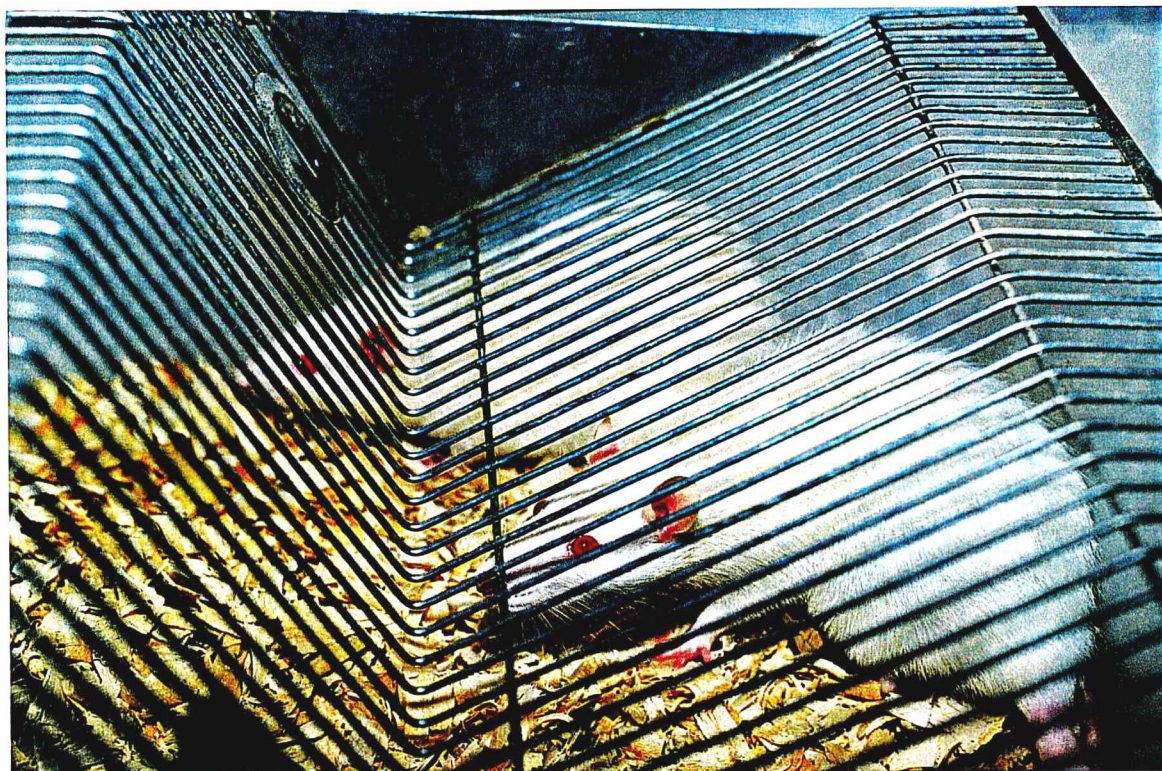


FIGURA 1 – Teste do acasalamento.

PROCEDIMENTO ANESTÉSICO

Os animais receberam somente água nas 12 horas que antecederam o experimento cirúrgico. Após a pesagem o animal foi submetido a uma injeção na cavidade peritoneal (*cavum peritonei*) de 0,4 ml para ratos com peso corporal de até 250g e 0,6 ml para ratos com peso maior de que 250g de uma solução de

ketamina e xilasina, na proporção de 5 : 1, respectivamente. A efetividade da anestesia foi avaliada pela ausência de movimentação, do reflexo córneo-palpebral (*cornea palpebrae*) e quando não havia reação motora após preensão, com pinça, do coxim adiposo de uma das patas traseiras (*membrum pelvinum*). Uma vez comprovado o plano anestésico, os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico.

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

O animal foi posicionado em decúbito dorsal em placas de madeira de 30 x 35 cm, e fixado com elástico nas patas dianteiras (*membrum thoracicum*), traseiras e incisivos. Realizou-se anti-sepsia da região pélvica (*regio abdominis caudalis*) com solução alcoólica de iodo a 2%. A via de acesso foi longitudinal de aproximadamente dois centímetros, na metade esquerda do escroto (*scrotum*). Realizou-se abertura de todos os planos até a exposição do testículo (*testis*), seguido de secção do gubernáculo (*gubernaculum testis*).

TÉCNICA DE MICROASPIRAÇÃO DO ESPERMA (*SPERMA*):

No procedimento da microaspiração de esperma da cauda do epidídimo (*cauda epididymis*), após identificação da cauda do epidídimo e, utilizando um microscópio cirúrgico **DF VASCONCELOS** com aumento de 16 vezes,

realizou-se a prensão da cauda do epidídimo com pinça de microcirurgia tipo íris (Figura 2).

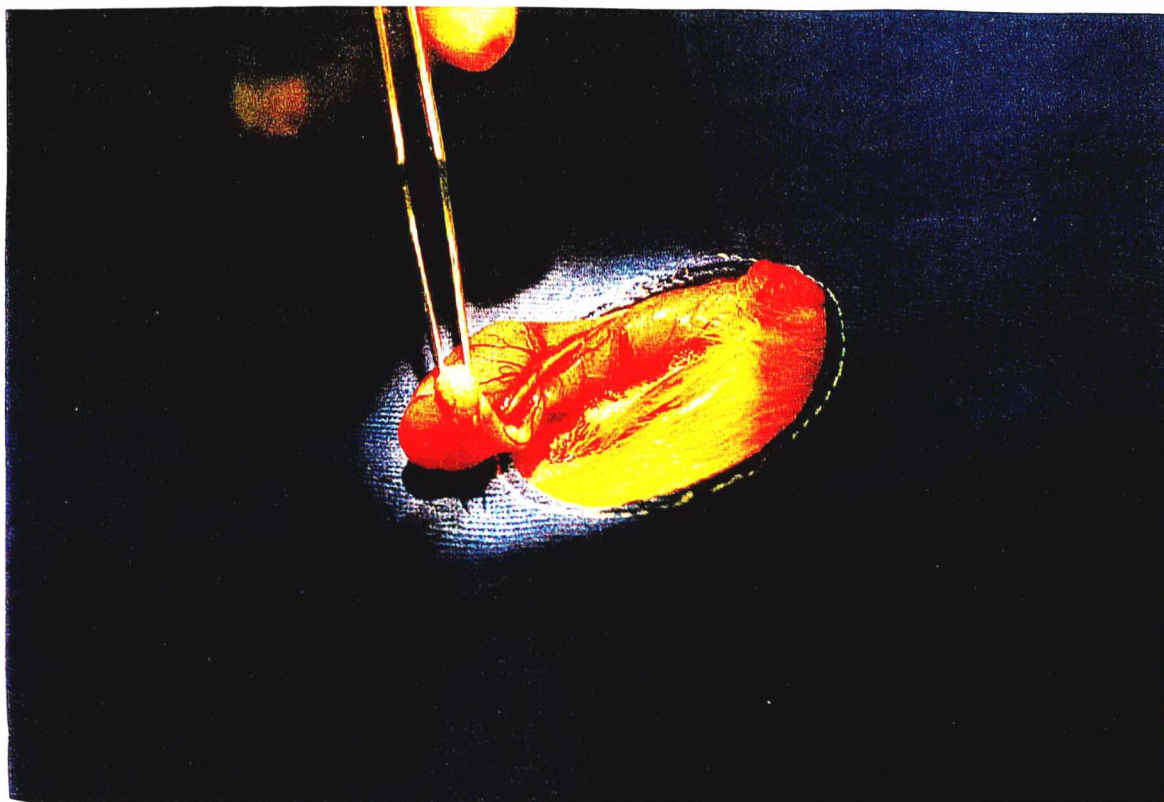


FIGURA 2 – Identificação e prensão da cauda do epidídimo.

Ato contínuo, realizou-se uma incisão na túnica epididimária (*septum epididymidis*) com exposição do ducto epididimário (*ductus epididymidis*), seguida de uma secção transversal completa do mesmo.

Utilizando-se uma micropipeta com capacidade de 5 microlitros, efetuou-se a aspiração do esperma (Figura 3). O material aspirado foi colocado em tubo de EPENDORF contendo 200 μL de cloreto de sódio a 0,9 %, mantido a uma temperatura de 37 $^{\circ}\text{C}$ para a análise da motilidade e concentração de espermatozóides.



FIGURA 3 – Aspiração do esperma dos ductos epididimários com micropipeta.

AVALIAÇÃO DA MOTILIDADE E CONCENTRAÇÃO ESPERMÁTICA

A motilidade dos espermatozóides foi avaliada colocando-se 5 microlitros da solução de cloreto de sódio e esperma, contida no **EPENDORF**, numa lâmina de vidro, para ser analisada em um microscópio de luz, em objetiva com aumento de 200 vezes.

Os campos foram rastreados em número de dois, para acumular uma centena de espermatozóides (espermatozoon) sucessivos, classificados em móveis e imóveis, com o auxílio de um contador de laboratório (**Figura 4**).



FIGURA 4 - Observação dos espermatozóides para análise da motilidade (aumento de 200 vezes).

A medida da concentração de espermatozóides foi realizada com a colocação de 10 microlitros de ovoalbumina bovina no tubo de **EPENDORF** contendo a solução de cloreto de sódio e esperma, para eliminar os grumos de espermatozóides. O tubo foi colocado em agitador de laboratório durante 3 minutos, para homogeneização da amostra. Cinco microlitros foram colhidos da solução de cloreto de sódio e esperma, e colocados na câmara de **MAKLER** (**Counting chamber MAKLER, SEFI - Medical Instruments**).

Foram feitas 3 contagens, os 3 resultados foram somados e divididos por 3, obtendo-se uma média simples. O valor da média simples foi multiplicado por 20, como fator de correção para a diluição feita na micropipetagem do esperma no ducto epididimário. O valor obtido correspondia à concentração de espermatozóides do rato em 1 mililitro (**Figura5**).

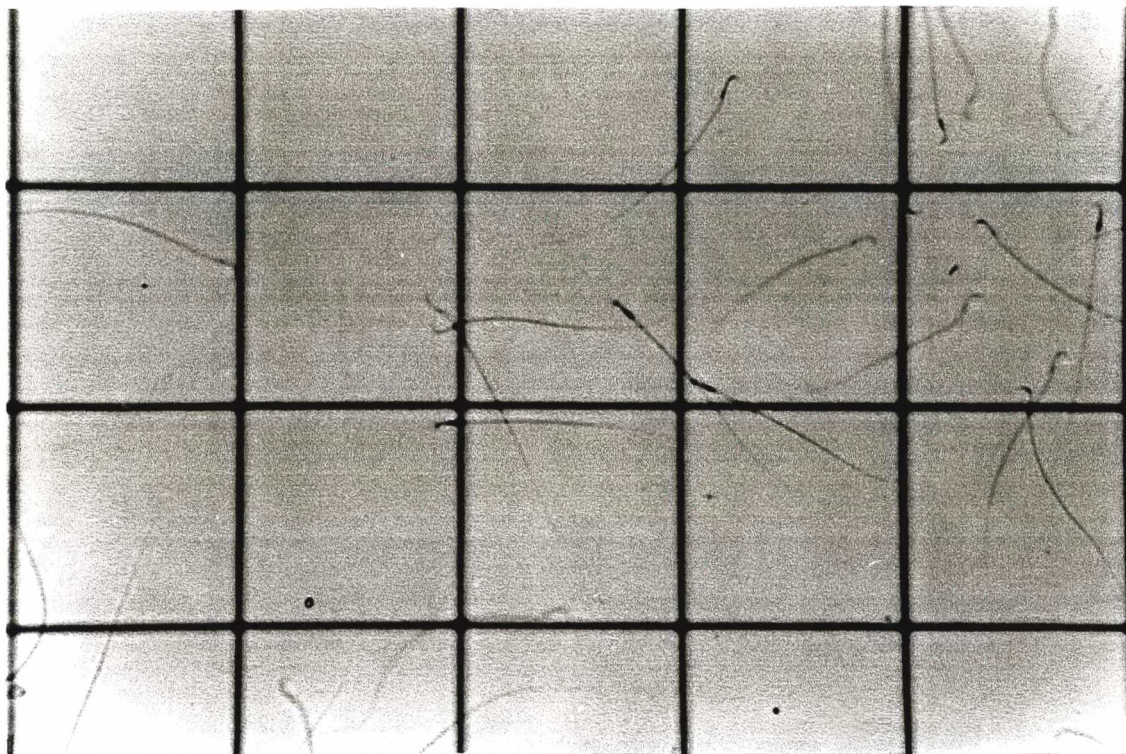


FIGURA 5 - Espermatozóides na câmara de Makler (**Counting chamber MAKLER, SEFI - Medical Instruments**) para análise da concentração de espermatozóides (aumento de 400 vezes).

Ambos testículos foram submetidos a procedimentos idênticos. Os animais foram submetidos à eutanásia por exsanguinação, imediatamente após a coleta do sêmen.

Os dados obtidos foram registrados em uma ficha de registro contendo o número do rato, dados individuais, procedimentos realizados e os dados obtidos (**apêndice 1**).

Para análise dos resultados foi utilizado o programa de *software* **STATGRAPHICS** versão 5.0 e **STATÍSTICA** versão 6.0. O coeficiente de correlação de **PEARSON** para amostras dependentes foi utilizado ($\alpha = 0,05$).

4. RESULTADOS

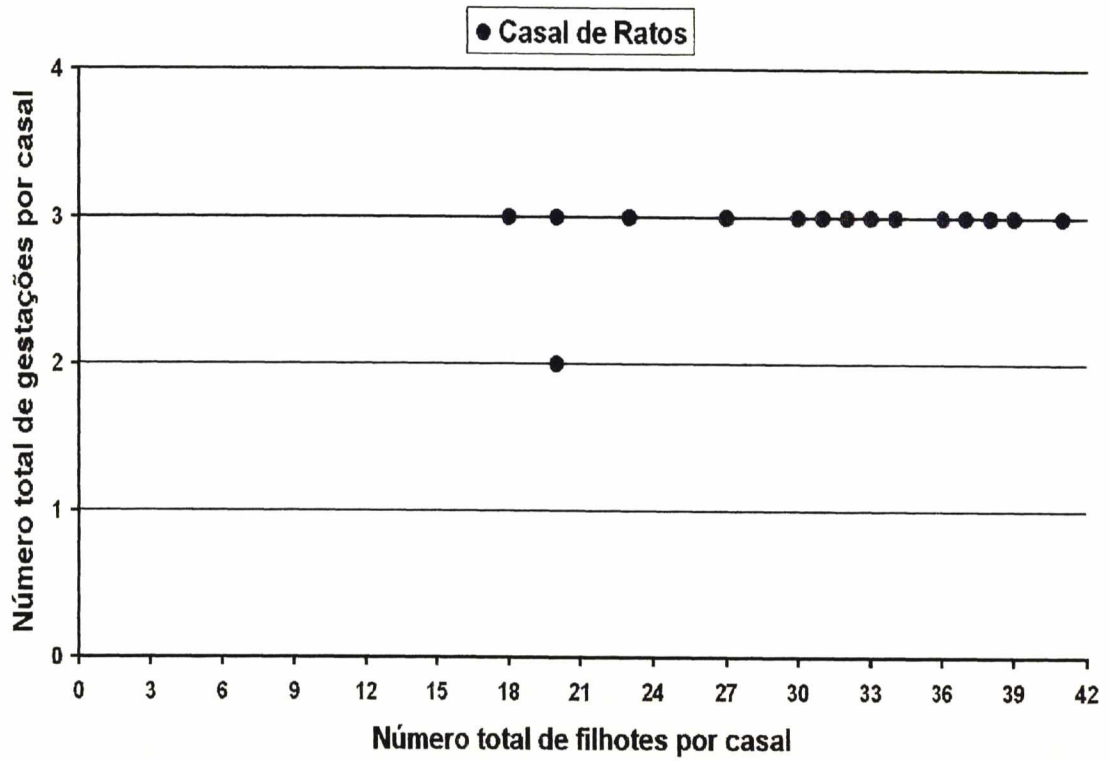


FIGURA 6 – Comparação entre os valores seminais e a fertilidade. Número total de gestações por casal, segundo o número total de filhotes por casal.

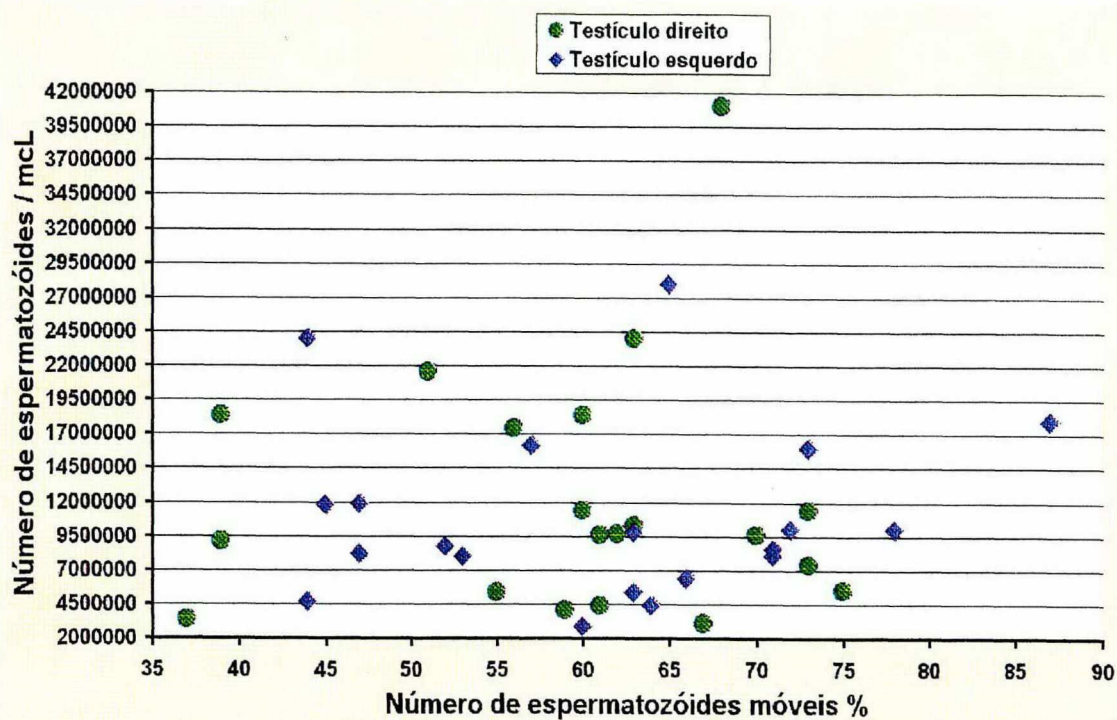


FIGURA 7 – Comparação entre os valores seminais e a fertilidade. Concentração espermática em espermatozoides / mL, segundo a motilidade espermática em percentual de espermatozoides móveis, dos testículos direitos e esquerdos.

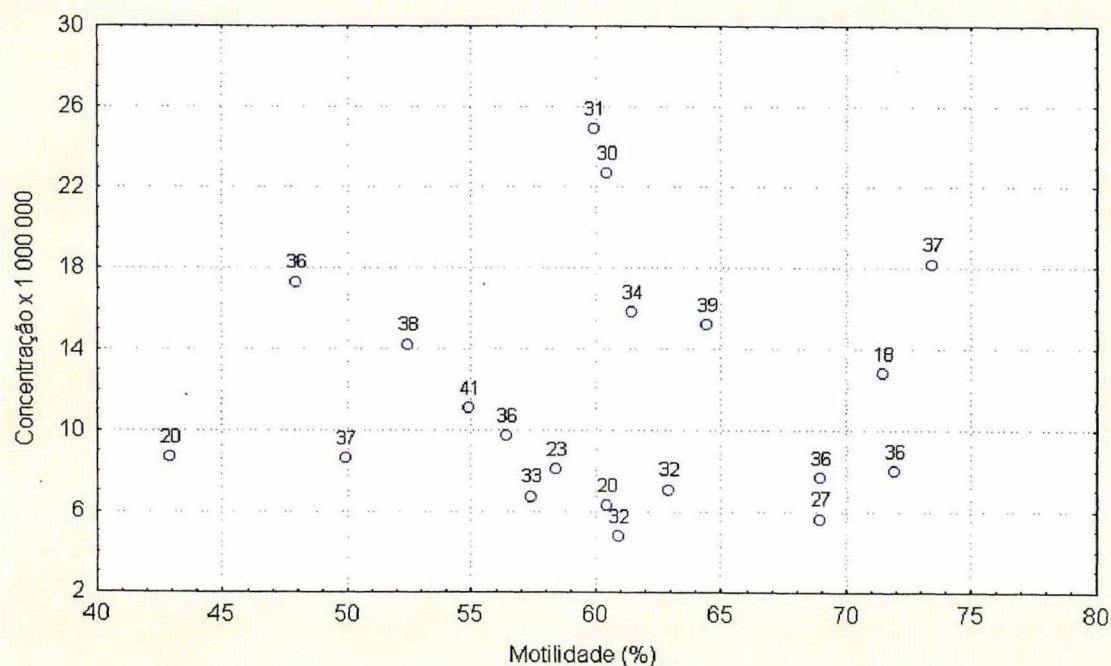


FIGURA 8 - Comparação entre os valores seminais e a fertilidade. Associação entre o número de filhotes com a motilidade e a concentração de espermatozoides.

O número total de gestações foi 59, resultando em 636 filhotes, com uma média de 2,95 gestações, 31,8 filhotes por casal e 10,77 filhotes por gestação (**Figura 6**). Nenhum animal foi eliminado do estudo por não gerar gestação.

A motilidade dos espermatozoides foi em média de 59,6% no testículo direito e 61,1% no esquerdo (**Figura 7**). A concentração espermática da amostra foi em média de 12.260.000 espermatozoides/ μ L no testículo direito e 11.060.000 espermatozoides/ μ L no testículo esquerdo (**Figura 7**).

Os resultados da motilidade e concentração espermática mantiveram-se dentro da curva de normalidade aceitável para o teste t de **STUDENT**.

Para a associação entre a motilidade e a concentração espermática obteve-se nível de significância de 0,9629.

Na análise estatística da associação entre o número de filhotes com a motilidade e a concentração espermática obteve-se probabilidade de significância (p valor) de 0,9606 e 0,388; r de 0,0118 e 0,2040, respectivamente (**Figura 8**).

5. DISCUSSÃO

Este trabalho procurou comparar uma técnica consagrada na avaliação da fertilidade, o teste de acasalamento, com uma nova técnica de obtenção do esperma para a análise da motilidade e concentração espermática, avaliando suas relações.

Não foi encontrado, na literatura pesquisada, trabalho com objetivo semelhante.

O tipo de rato foi escolhido, baseando-se na literatura, onde encontrou-se vários trabalhos sobre a fertilidade utilizando a linhagem **WISTAR**^{8,9,19,22,25,26,27,29}.

Aos 125 dias de vida, período em que finalizou-se o teste do acasalamento, os ratos encontravam-se com capacidade fértil, conforme descrito por **ROBB, AMANN E KILLIAN**²⁹.

A idade das fêmeas foram igualmente escolhidas, por estarem aptas à reprodução, segundo protocolo adotado pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina²⁸.

O teste de fertilidade escolhido foi o teste do acasalamento, por ser o mais utilizado na literatura^{7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22}. No teste do acasalamento, o **Método de POILEY**²⁸ foi utilizado por ter a finalidade de neutralizar as conseqüências prejudiciais do fator do isolamento dos animais no espaço, vinculado inevitavelmente ao seu tratamento nas caixas, assim como as bases dos caracteres que podiam ser economicamente úteis. Os acasalamentos foram realizados de maneira sistemática, de forma que, quanto menor a colônia, maior

o número de grupos, tendo a finalidade de manter o índice de consangüinidade menor que 1% por geração²⁸.

Alguns autores ao empregarem o teste do acasalamento, variaram muito quanto à metodologia, não havendo possibilidade de manter qualquer correlação entre os resultados obtidos. Esta diversidade tinha como pontos fundamentais o número de fêmeas utilizadas, tempo de acasalamento e método de avaliação do produto final do teste, embriões ou filhotes.

MERIMSKY, ROCK e KATZ⁷; RYAN, WHELAN, GAFFNEY et al⁹, utilizaram uma fêmea para cada macho. As fêmeas tinham capacidade fértil conhecidas, isto levou a um maior gasto de tempo, para a seleção das fêmeas.

Alguns autores^{10,11,16}, por outro lado, utilizaram uma fêmea para cada macho, porém sem capacidade fértil comprovada.

Sabe-se que, o fator masculino e o feminino são necessários para a geração. A possibilidade de uma fêmea infértil poderia questionar a confiabilidade do trabalho. Devido a tal agravante, este estudo eliminaria o casal no momento em que o mesmo não obtivesse gestação.

Outros autores^{8,12,13,14,15,17,18,19,20,21,22} utilizaram duas ou três fêmeas por macho durante os testes do acasalamento. Isto diminuiu em muito a probabilidade de uma fêmea infértil, porém o gasto em animais e número de filhotes produzidos aumentaram. Consequentemente houve um aumento nos custos da pesquisa, maior dificuldade no manejo, além da grande quantidade de sacrifício de animais.

A respeito do tempo do acasalamento, observou-se uma variação entre 7²⁰ e 120 dias²², nos trabalhos analisados. No método de avaliação do produto do acasalamento houve também divergências entre os estudos, e os mais realizados são: sacrifício e posterior laparotomia para contagem de embriões^{10,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21} e parto normal com contagem de filhotes^{7,8,9,11,22}.

Este estudo optou pela contagem dos filhotes, devido ao fato de que não necessitava procedimento cirúrgico, e evitava o sacrifício de fêmeas e crias.

Devido aos novos conceitos de bioética na pesquisa experimental³⁰, que prezam pelo uso racional dos animais de experimentação, com diminuição nos gastos e, principalmente, economizando o número de animais, o teste de acasalamento seria, sob este ponto de vista, questionável, pois o número de animais sacrificados é extremamente alto.

Havia necessidade portanto, de utilizar um método mais racional, e que mantivesse a especificidade do teste do acasalamento. Como a técnica de microaspiração de esperma da cauda do epidídimo permitia avaliar valores seminais, corresponderia pois um método racional e prático²⁷. Necessitava-se somente, avaliar a especificidade deste método.

Era sabido que o número e a concentração espermática não corresponderia completamente à capacidade fértil do animal, existindo outros fatores que a interferem. PAULSEN⁴, citado pelo **Manual de laboratorio para el exame del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical**, observou a concentração espermática no líquido seminal de um indivíduo, obtido a cada 15 dias, durante 15 semanas. Apesar de possuir espermatozóide em média acima do considerado normal, houve semanas em que a concentração de espermatozoides caiu a níveis inferiores do normal. O resultado deste estudo, fica limitado à análise de somente um indivíduo, não considerando as possíveis variações que possam existir em uma população.

SANTOS LIMA²⁷ em um estudo experimental, utilizando ratos Wistar, avaliou o espermograma, segundo a motilidade e concentração espermática, observando que o comportamento da população e entre os testículos de um mesmo rato, não foram significativamente diferentes. Mostrando haver

uma distribuição aceitável desta variação, quando disposto em uma curva do teste t de **STUDENT**.

Os resultados referentes a motilidade e concentração espermática foram semelhantes à técnica de microaspiração de esperma descrita²⁷, não havendo diferenças significativas e mostrando-se reprodutível.

Na análise da associação entre o número de filhotes com a motilidade e concentração espermática, não observou-se nenhuma correlação. Nenhuma correlação foi também observada entre a motilidade e a concentração espermática.

Um novo modelo experimental deverá ser desenvolvido afim de que possa-se prever a capacidade prolífica do rato e evitar deste modo o sacrificio de um grande número de animais durante a pesquisa experimental.

7. REFERÊNCIAS

1. Novak ER. Tratado de Ginecologia. 10^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1981. p.732.
2. Halbe Hw. Tratado de Ginecologia. 2^a edição. São Paulo: Editora Roca; 1993. p. 2118.
3. Smith D. Urologia Geral. 12^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. p. 559.
4. Manual de laboratório para el exame del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Cambridge University Press; 1987, 80p.
5. Jequier AM, Ukombe EB. Error inherent in performance of a routine semen analysis. Br J Urol 1983; 55(4): 434-6.
6. Aitken RJ, Best FSM, Richardson DW, Djahanbakhch O, Lees M. The correlates of fertilizing capacity in normal fertile men. Fertil Steril 1982; 38: 68-76.
7. Merimsky E, Rock M, Katz S: Assessment of fertility after testicular torsion: an experimental study. Urol Res 1982; 10: 51-4.
8. Sofikitis N, Takahashi C, Nakamura I, Hirakawa S, Miyagawa I. Surgical repair of secondary right varicocele in rats with primary left varicocele :effects on fertility, testicular temperature, spermatogenesis and sperm maturation. Arch Androl 1992; 28(1): 43-51.

9. Ryan PC, Whelan CA, Gaffney EF, Fitzpatrick M. The effect of unilateral experimental testicular torsion on spermatogenesis and fertility. *B J Urol* 1988; 62: 359-66.
10. Banik UK, Givner ML. Effects of a luteinizing Hormone-releasing hormone analog on mating and fertility in rats. *Fertil Steril* 1976; 27(9): 1078-84.
11. Madgar I, Lunenfeld B, Mashiach S, Goldwasser B, Weissenbert R. Effect of testicular torsion on contralateral testis and fertility in mature rats. *Arch Androl* 1987; 19: 237-41.
12. Carringer M, Pedersen J, Schnürer LB. Fertility after Autotransposition of Vas: A Comparative Study of Absorbable na Nonabsorbable Suture Material in Rats. *Scand J Urol Nephrol* 1996; 30: 15-8.
13. Pakyz RE, Heindel RM, Kallish M, Cosentino MJ. Spermatic cord torsion: effects of cyclosporina and prednisone on fertility and the contralateral testis in the rat. *Journal of Andrology* 11(5): 401-8, 1990.
14. Kogan BA, Gupta R, Juenemann KP. Fertility in cryptorchidism: improved timing of fixation and treatment in an experimental model. *J Urol* 1987; 138: 1046-47.
15. Heindel RM, Pakyz RE, Reinking LN, Cosentino MJ. The effect of various degrees of unilateral spermatic cord torsion on fertility in the rat. *J Urol* 1990; 144: 366-9.
16. Kamada K, Takihara H, Shirataki S, Ishizu K, Baba Y, Naito K. Flow cytometric DNA analysis demonstrates contralateral testicular deterioration in experimental unilateral testicular torsion of prepubertal rats. *Androl* 1993; 25: 239-44.

17. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histopatology of prepubertal rat testes subjected to various durations of spermatic cord torsion. *J Androl* 1986; 7: 23-31.
18. Cosentino MJ, Nishida M, Rabinowitz R, Cockett ATK. Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *J Urol* 1985; 133: 906-11.
19. Heindel RM, Pakyz RE, Cosentino MJ. Spermatic cord torsion. Contralateral testicular degeneration at various ages in the rat. *J Androl* 1990; 11(6): 506-1
20. Stewart RJ, Brown S. Fertility in experimental unilateral cryptorchidism. *J Pediatr Surg* 1990; 25(6): 672-4.
21. Cosentino MJ, Rabinowitz R, Valvo JR, Cockett ATK. The effect of prepubertal spermatic cord torsion on subsequent fertility in rats. *J Androl* 1984; 5: 93-8.
22. Abasiyanik A, Güvenç H, Yavuzer D, Peker Ö, Ince Ü. The Effect of Vas Deferens Injury on Fertility in na Experimental Rat Model. *J Pediatr Surg* 1997; 32 (8) 1144-46.
23. Young JA, Kwok-Sing C, Lang DJ. Infection and fertilization of mice after artificial insemination with a mixture of sperm and murine cytomegalovirus. *The Journal of Infectious Diseases* 135(5): 837-40, 1977.
24. Ricker DD, Crone JK, Chamness SL, Klinefelter GR, Chang TS. Partial sympathetic denervation of the rat epididymis permits fertilization but inhibits embryo development. *J Androl* 18 (2): 131-8, 1997.
25. Howards SS, Johnson A, Jessee S: Micropuncture and microanalytic studies of the rat testis and epididymis. *Fert Steril* 1975; 26: 13-19.

26. Araujo EJ. Efeitos da torção do cordão espermático sobre os parâmetros seminais do testículo contralateral em ratos pré-puberais [Tese Doutorado]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, 1998. 56p.
27. Santos Lima EA. Estudo dos parâmetros seminais para avaliação da função exócrina do testículo do rato – Comunicação pessoal - Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 1998.
28. Manual para técnicos em animais de laboratório. Fundação Fio Cruz. Rio de Janeiro, 1994.
29. Robb GW, Amann, RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of puberal and adults rats. J Reprod Fert 1978; 54: 103-7.
30. Durant G. A Bioética: natureza, princípios, objetivos. São Paulo: Paulus; 1995. p .102.

NORMAS ADOTADAS

1. Normatização dos trabalhos científicos do curso de graduação em medicina. Resolução no. 001 / 97 do colegiado do curso de graduação em medicina da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1997.
2. International Committee of Medical Journal Editors. Uniforme requirements for manuscripts submitted to biomedical journal. *Ann Intern Med* 1997: 126:36-47.
3. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Os princípios éticos da experimentação animal.
4. INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE – Nomina anatomica veterinaria. 3 ed., New York, Ithaca, 1983. 216p.
5. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD- Manual de laboratorio para el exame del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. Cambridge University Press, 1987. 80p.

RESUMO

Fertilidade no homem é avaliada pelas características seminais através do espermograma. Experimentalmente, o teste de fertilidade consagrou-se ser o mais confiável, porém inexequível clinicamente. A técnica de microaspiração de espermatozoides simplificada, tornou-se prática. É necessário entretanto verificar se os parâmetros seminais obtidos mantêm correlação com o teste do acasalamento. Esse foi o objetivo do estudo. Utilizou-se 20 ratos e 20 ratas da linhagem Wistar, com idade de 70 dias durante o teste do acasalamento. Utilizou-se o método de Pooley, observando-se o número de gestações e o de filhotes. Aos 160 dias procedeu-se à técnica de microaspiração de espermatozoides da cauda do epidídimo na obtenção do espermatozoides, observando-se a motilidade e concentração espermática. O coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado na avaliação dos parâmetros seminais. Realizou-se a correlação entre o número de filhotes com a motilidade e a concentração espermática com probabilidade de significância de 0,5 ($\alpha = 0,05$). Não houve diferenças estatísticas no número de gestações, número de filhotes, motilidade e concentração espermática. Conclui-se que, não há associação entre os parâmetros seminais do rato (motilidade e concentração de espermatozoides) e sua capacidade prolífica.

SUMMARY

Man's fertility is assessed by seminal features through spermogram. Experimental, fertility test is accepted as the most reliable, being achieved through marriage which is impossible to reproduce clinically. Simplified microaspiration technique of sperm became practical, however it's important to know if has any correlation with matting test. The main purpose of this paper. Wistar rats were used (20 male and 20 female), aging 70 days during the time of matting test. Pooley method used in order to establish the number of pregnancies and litter. During microaspiration technique, animals were 160 days old. Microaspiration technique of sperm from the epididymis tail was done to study sperm mobility and concentration. Pearson's correlation coefficient was used to assess seminal parameters correlation the number of litters of rat with spermatoc motility and concentration ($\alpha = 0.05$). There was no association between the number of litter with the spermatoc motility and concentration. It was possible to conclude that there was no association between seminal parameters in rats with fertility.

APÊNDICE 1

COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO E MOTILIDADE ESPERMÁTICA COM A FECUNDAÇÃO

Espécie	Nascimento	Número	Data da Coleta	Peso

Data Nascimento	Número de Prole		Concentração	Motilidade
		Direito		
		Esquerdo		

ANEXO 1

LEI FEDERAL N.º 6.638 de 8 de maio de 1979.

ESTABELECE NORMAS PARA A PRÁTICA DIDÁTICO-CIENTÍFICA DA VIVISSECÇÃO DE ANIMAIS E DETERMINA OUTRAS PROVIDÊNCIAS.

ART. 1.º

Fica permitida, em todo o território nacional, a vivissecção de animais, nos termos desta Lei.

ART. 2.º

Os Biotérios e os Centros de Experiências e demonstrações com animais vivos deverão ser registrados em órgão competente e por ele autorizados a funcionar.

ART. 3.º

A vivissecção não será permitida:

- I - Sem o emprego de anestesia;
- II - Em Centros de Pesquisas e estudos não registrados em órgãos competentes;

- III – Sem a supervisão de técnico especializado;
- IV – Com animais que não tenham permanecido mais de 15 dias em Biotérios legalmente autorizados;
- V – Em estabelecimentos de ensino de primeiro e segundo graus e em quaisquer locais frequentados por menores de idade.

ART. 4.º

O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos das experiências que constituem a pesquisa ou os programas de aprendizado cirúrgico quando, durante ou após a vivisseccção, receber cuidados especiais.

- * 1.º Quando houver indicação, o animal poderá ser submetido a eutanásia sob estrita obediência às prescrições científicas.
- * 2.º Caso não sejam submetidos a eutanásia, os animais utilizados em experiência ou demonstrações somente poderão sair do Biotério trinta dias após a intervenção, desde que destinados a pessoas ou entidades idôneas que por eles queiram responsabilizar-se.

ART. 5.º

Os infratores desta Lei estão sujeitos:

- I – Às penalidades cominadas no artigo 64, caput, do Decreto Lei n.º 3.688 de 3.10.1941, no caso de ser a primeira infração;
- II – À interdição e cancelamento do registro do Biotério ou do Centro de Pesquisa, no caso de reincidência.

ANEXO 2

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (COBEA), entidade filiada ao INTERNATIONAL COUNCIL FOR LABORATORY ANIMAL SCIENCE (ICLAS), recomenda:

OS PRINCÍPIOS ÉTICOS DA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.

POSTULA-SE:

Artigo I

Todas as pessoas que pratiquem experimentação biológica devem tomar consciência de que o animal é dotado de sensibilidade, memória e que sofre sem poder escapar à dor;

Artigo II

O experimentador é moralmente responsável por suas escolhas e por seus atos na experimentação animal;

ARTIGO III

Procedimentos que envolvam animais devem prever e serem desenvolvidos considerando-se sua relevância para a saúde humana e animal, a aquisição de conhecimentos ou o bem da sociedade;

ARTIGO IV

Os animais selecionados para um experimento devem ser de espécie e qualidade apropriadas e apresentar boas condições de saúde , utilizando-se o número mínimo necessário para se obter resultados válidos. Ter em mente a utilização de métodos alternativos tais como modelos matemáticos, simulação por computador e sistemas biológicos *In Vitro*;

ARTIGO V

É imperativo que se utilizem animais de maneira adequada, incluindo aí evitar o desconforto, angústia e dor. Os investigadores devem considerar que os processos determinantes de dor ou angústia em seres humanos, causam o mesmo em outras espécies.

ARTIGO VI

Todos os procedimentos com animais que possam causar dor ou angústia precisam se desenvolver com sedação, analgesia ou anestesia adequada. Atos cirúrgicos ou outros atos dolorosos não podem se implementar em animais não anestesiados e que estejam apenas paralisados por agentes químicos e/ou físicos.

ARTIGO VII

Os animais que sofram dor ou angústia intensa ou crônica, que não possam se aliviar e os que não serão utilizados, devem sofrer eutanásia por método indolor e que não cause sofrimento ou estresse;

ARTIGO VIII

A utilização de animais em procedimentos didáticos e experimentais pressupõe a disponibilidade de alojamento que proporcione condições de vida adequada às espécies, contribuindo para sua saúde e conforto. O transporte, a acomodação, a alimentação e os cuidados com os animais criados ou utilizados para fins biomédicos devem ser dispensados por técnico qualificado (veterinário).

ARTIGO IX

Os investigadores e funcionários devem ter qualificação e experiência adequadas para exercer procedimentos em animais vivos. Deve-se criar condições para seu treinamento no trabalho, incluindo aspectos de trato e uso humanitário dos animais de laboratório.

O conteúdo destes artigos encerra três princípios básicos:

- sensibilidade, bom senso, boa ciência.

**TCC
UFSC
CC
0211**

N.Cham. TCC UFSC CC 0211

Autor: Weber, Alexandre L

Título: Comparação entre os valores semi



972806359

Ac. 253033

Ex.1

Ex.1 UFSC BSCCSM