

ESTRUTURA MICROSCÓPICA DO COMPLEXO TUBULAR: REDE TESTICULAR E DUCTOS EXCRETORES PROXIMAIS DO TESTÍCULO EM CODORNA DOMÉSTICA (*Coturnix coturnix*)

Antonio Marcos Orsi¹, Karina Simões², Raquel Fantin Domeniconi³,
Selma Maria Michelin Matheus⁴

RESUMO

A rede testicular em codorna constituiu-se de canais e câmaras epiteliais localizadas inicialmente no parênquima testicular do pólo cranial do testículo. Deste, a rede testicular (RT) continuou na estrutura da albugínea, adentrando a parte proximal da região epididimária (RE). Na RE houve continuidade entre os canais da RT e as passagens dos ductos eferentes proximais (DEP). Posteriormente, as passagens dos DEP continuaram-se, na RE, com os ductos eferentes distais (DED). Ambos os ductos eram revestidos por epitélio colunar pseudoestratificado, tendo células principais (P) e ciliadas (C). Proximalmente, na RE formou-se um complexo tubular RT (segmento-extracapsular) e DEP. Diferenças pequenas observaram-se nas estruturas da RT e dos DEP-DED, nas estações do ano. Foram mais marcantes na primavera e outono, eqüivalendo às fases ativa e quiescente do ciclo reprodutivo anual. Nestas fases do ciclo, diferenças significativas notaram-se na ultra-estrutura das células P e nos calibres tubulares, maiores na primavera e menores no outono. Na primavera, no citoplasma apical de células P notou-se maior complexidade organelar, inferindo-se a ocorrência de processos endocitóticos ativos. A quiescência outonal caracterizou-se por redução do calibre tubular dos DEP-DED; luz tubular vazia de espermatozoides; degenerações de organelas citoplasmáticas e “debridamentos” citoplasmáticos apicais em células P e C.

Palavras-chave: Testículos, ductos excretores, estruturas microscópicas, codorna doméstica.

INTRODUÇÃO

A rede testicular (RT), de aves é formada por uma porção intratesticular, às vezes nomeada como túbulos retos do testículo; um segmento intracapsular (intra-albugínea — já ultrapassando os limites do parênquima testicular), o qual consiste de cisternas longitudinais inter-anastomóticas, e uma rede extracapsular (ou extratesticular) dispostas externamente à cápsula testicular, cujas cisternas ultrapassam, constituindo-se predominantemente em canais (ou câmaras) epiteliais com número médio de vinte canais longitudinais em aves ratitas (BUDRAS; MEIER, 1981).

De modo geral, à RT extratesticular de aves seguem-se os ductos eferentes proximais, aos quais continuam-se, seqüencialmente, os ductos eferentes distais; ducto epididimal e ducto deferente (BUDRAS; SAUER, 1975; BUDRAS; MEYER, 1981; STEFANINI, 1997; STEFANINI; ORSI, 1999; STEFANINI *et al.*, 1999a e b; SIMÕES *et al.*, 2004). Tais segmentos, à exceção do ducto deferente foram coletivamente designados como região epididimária (RE), em estudos sobre a via seminífera do pombo doméstico (STEFANINI; ORSI, 1999; STEFANINI *et al.*, 1999 a e b).

¹ Biólogo. Doutor. Professor Titular da UNESP - Departamento de Anatomia. amorsi@ibb.unesp.br

² Bióloga. Doutora. Professora Titular da Fundação Paulista de Tecnologia e Educação, Lins-SP.

³ Bióloga. Doutoranda. Docente em Anatomia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP.

⁴ Bióloga. Doutora. Professora Assistente. UNESP, Botucatu-SP.

Segundo AIRE (1982), embora fosse bem conhecida a estrutura histológica da rede testicular (RT) de codorna da variedade japonesa (AIRE, 1979a), pouco se conhecia, até então, sobre a organização estrutural e histofisiologia da RT de aves (AIRE, 1982). Assim sendo, tendo em vista os estudos micro-estereológicos da via espermática de algumas aves (AIRE, 1979b), a RT nesta classe de vertebrados, vista predominantemente em seu segmento extracapsular caracterizaria uma expressiva proporção volumétrica na região epididimária (AIRE, 1979b e 1982).

As características ultraestruturais do epitélio da RT de aves mostraram as suas células mais ativas principalmente no galo (TINGARI, 1972), embora nenhuma característica ultraestrutural da RT de aves tenha provido evidência conclusiva de papel secretório ao nível do seu epitélio de revestimento tubular (AIRE, 1982). Ademais, o próprio autor considerou que embora a RT de aves garantiria a produção de mais ou menos 65% do fluido seminal, não se saberia, até então, se o processo seria feito por transporte passivo ou por mecanismos de exocitose ou de secreção ativa (AIRE, 1982).

Com base em trabalhos anteriormente realizados em ductos espermáticos de mamíferos (HERMO *et al.*, 1994; ORSI *et al.*, 1998), consideraram a ocorrência de endocitose adsorptiva e de mecanismos de balanceamento da fase fluida do líquido intratubular, nas células epiteliais da RT de mamíferos (MORALES *et al.*, 1984; VIOTTO *et al.*, 1993a; HERMO *et al.*, 1994; BEU *et al.*, 2003). Stefanini *et al.* (1999 a e b) enfatizando, principalmente os ductos eferentes proximais e distais da via espermática do pombo doméstico caracterizaram processos ativos de pinocitose (endocitose de fase fluida), e de fagocitose (endocitose por adsorção), na margem adluminal do citoplasma das células principais, do epitélio de revestimento destes túbulos da via espermática (RE).

Processos similares de internalização citoplasmática de fluidos (pinocitose) e solutos (fagocitose) foram revisitados, de forma geral, na função celular de células de Sertoli (CLERMONT, 1993). Ademais, em células epiteliais da RT de rato albino observou-se uma internalização marcante de traçadores adsorptivos carregados pelas vesículas pequenas e não revestidas em direção à membrana plasmática lateral de células da RT (MORALES *et al.*, 1984). Verificou-se, também, endocitose de transferrina e de outras proteínas nas células epiteliais da RT de alguns mamíferos (HERMO *et al.*, 1994) confirmando a ocorrência de endocitose

adsorptiva, e reforçou-se o conceito da endocitose de fase fluida, denominadas, respectivamente, de fagocitose e de pinocitose (CLERMONT, 1993).

Em vista destas informações, considerou-se neste estudo analisar características morfológicas da RT, dos DEP e dos DED de codorna, enfocados sob aspectos sazonais do ciclo testicular anual, descrito por (ORSI *et al.*, 2005), em que observaram um ciclo testicular *circunanoal* na codorna de variedade italiana, com maior atividade gonadal na primavera e quiescência curta de atividade espermatocitogenética entre meados de março e abril. Assim sendo objetivou-se apresentar a morfologia e considerações sobre a histofisiologia do complexo da RT e ductos eferentes (DEP e DED) de codorna da variedade italiana. Essa é uma pequena ave de corte que, portanto, tem apresentado interesse zootécnico, com uso experimental em biociências.

MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e quatro codornas (*Coturnix coturnix*), da variedade italiana, machos e sexualmente maduros ficaram confinados em criatório de pesquisa, junto à Fazenda Experimental "Edgardia" da Universidade Estadual Paulista em Botucatu-SP, durante os 12 meses do ano. Permaneceram no cativeiro experimental recebendo dieta sólida normal para aves (Purina™, Brasil) e água, administradas "ad libitum", e sob condições de iluminação predominantemente natural. Assim sendo foram submetidas a aproximadamente 12 horas de luz e 12 horas sem luz, permanecendo separadas, em gaiolas vazadas de criatório, de plantéis similares de fêmeas da mesma espécie e variedade, igualmente confinadas. Portanto, as aves de ambos os sexos ficaram em contactos visual e sonoro, neste período, porém sem ocorrência de acasalamento.

Posteriormente, no decorrer do ano seguinte, os machos foram transportados em grupos de 6 codornas, durante os meses mais expressivos de verão (janeiro e meados de fevereiro); outono (meados de março e abril); inverno (junho e meados de julho), e, primavera (meados de outubro e primeira quinzena de novembro), para os laboratórios de Anatomia e Morfologia Microscópica do Instituto de Biociências da UNESP em Botucatu-SP, onde se obteve eutanásia das aves por meio de saturação anestésica com a mistura de *Xylazina-Ketamina*®.

A seguir, fez-se as coletas bilaterais dos testículos e regiões epididimárias (RE) dos animais. Fragmentos dos materiais coletados foram fixados nos fixadores histológicos de formalina tamponada,

em tampão fosfato, pH 7,2, 0.1 M; líquido de Bouin e soluções de Karnovsky e de McDowell. Os dois primeiros fixadores histológicos utilizou-se para os fragmentos de tecidos destinados para estudos de microscopia de luz de materiais processados em *paraplast*TM (Oxford Labware, EUA). Os dois últimos fixadores foram usados para materiais destinados à rotina de historesina (*Historesin*[®], Leica, Alemanha), sendo o material fixado em Karnovsky, usado, a partir de coletas feitas em outras 4 aves, 2 no outono e 2 na primavera, para a rotina de microscopia eletrônica de transmissão (MET), objetivando prosseguimentos subsequentes dos estudos.

As rotinas de microscopia de luz foram as habituais, com inclusões dos materiais em *paraplast*TM e/ou em *historesin*[®]; microtomia (cortes de 1,5 a 5mm) e colorações com HE, tricrômico de Masson-Goldner, PAS/H, hematoxilina/floxina e solução de azul de toluidina a 0,5 % destinando-se estes materiais para estudos em microscópios de pesquisa Olympus BH-2 e BX-40^o (Olympus, Japão). Estudos histomorfométricos da RT e DEP, nas quatro estações do ano, foram realizados com a utilização de sistemas de análise de imagens ("Olympus BX-40 – Media Cybernetics Software System").

Análises histomorfométricas foram tomadas a partir dos dados quantitativos, visando-se obter os valores médios de alturas epiteliais e dos diâmetros tubulares e luminais da RT e DEP. Para as mensurações destes parâmetros utilizou-se três lâminas de cada animal, contendo as lâminas 6 cortes histológicos, com quatro medidas por corte. Os resultados foram agrupados por estações do ano e tratados estatisticamente por métodos paramétricos, ou seja, com cálculos dos valores de médias aritméticas; desvios padrão e análises de variância (MORRISON, 1976).

Nos fragmentos de testículos e RE destinados para estudos em MET da RT, com ênfase em seu segmento extratesticular, e dos DEP realizou-se pós-fixação dos tecidos em tetróxido de ósmio a 1% em tampão fosfato de sódio pH 7,2, 0.1 M, durante 1 hora a 4 °C. Os fragmentos tissulares foram desidratados em série crescente de acetona, incluídos em Araldite[®] (Merck, Alemanha) e submetidos à ultramicrotomia. Os cortes ultrafinos (80 nm) foram montados em grades de cobre, contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e analisados e documentados fotograficamente em ME Philips CEM 100[®] (Philips, Holanda).

RESULTADOS

A rede testicular (RT) de codorna é do tipo misto intralbugínica-extratesticular (ou extracapsular), sendo representada por uma série de canais longos retilíneos, às vezes um pouco tortuosos, e por câmaras, revestidas de epitélio cúbico simples, cujas passagens epiteliais atravessam a estrutura preponderantemente mioconjuntiva da albugínea testicular, nas adjacências da região epididimal, em que penetra (Figura 1a), continuando-se como rede extratesticular (Figura 1b). Este segmento extracapsular da RT, por sua vez, continua-se de forma direta com a parte inicial das passagens epiteliais dos ductos eferentes proximais da região epididimária (RE), com mudança gradual do epitélio cúbico simples e baixo da RT para o epitélio pseudoestratificado colunar dos ductos eferentes proximais (DEP) (Figura 1).

Os canais da RT (segmento intralbugínico) adentram a RE, por meio do estroma, ou matriz tissular, da albugínea testicular e do próprio tecido conjuntivo da RE, nos quais observam-se componentes estruturais deste tecido; pequenos vasos sanguíneos (Figura 1b) e células musculares lisas de difícil visualização em HE. Esta conexão entre o segmento intralbugínico e àquele extracapsular da RT (Figura 1b) faz-se com os canais epiteliais perpassando a albugínea da margem dorso-cranial do testículo.

As passagens epiteliais da RT podem dilatar-se em câmaras ou estreitarem-se em canais epiteliais, com disposição predominantemente retilínea (Figuras 1a e 1b). Seqüencialmente, prosseguem com as passagens epiteliais, freqüentemente mais amplas, dos ductos eferentes proximais da RE, em cujas adjacências fazem relações microscópicas com outros ductos da RE como os ductos eferentes distais e os ductos conectados (Figura 1b). A transição entre o epitélio de revestimento cúbico da RT e o epitélio pseudoestratificado, colunar alto, dos eferentes proximais pode ser abrupta e direta, observando-se na junção epitelial algumas células palidamente eosinófilas, esféricas; com núcleos centralizados e nucléolos evidentes, ou células cúbicas com maior basofilia nuclear e citoplasmática (Figura 1a).

Algumas vezes, a transição epitelial entre unidades seqüentes da RT-ducto-eferente proximal é demarcada pela ocorrência de um aglomerado de células basófilas justaluminais, as quais adentram o lúmen na zona transicional, como se fora um "plug" celular, projetando-se em direção à luz ducto-eferencial (Figuras 1b e 2a).

O alargamento transicional entre as passagens epiteliais, notado na junção de passagens da RT aos ductos eferentes proximais (DEP), já na intimidade da RE permite pressupor que os ductos eferentes proximais apareçam, com maior frequência, alargados e com aspecto de câmaras epiteliais (Figuras 1b e 2a). Este padrão é observado, predominantemente, na primavera (Figura 3a) e no inverno (Figura 2b). Entretanto, no verão e outono os calibres tubular e luminal decrescem (Figuras 3b e 3c), dada a parada relativa da espermatogênese no outono (ORSI *et al.*, 2005), e recesso no verão, o qual precede a quiescência outonal. A altura epitelial das células principais dos DEP não variou de forma significativa em todas as estações do ano, e os calibres tubulares decrescidos no verão e outono são melhores visualizados através dos dados histomorfométricos (Figura 4).

Na primavera, talvez devido à necessidade de aumento da área útil de trânsito de espermatozoides, espermiados em maior quantidade nos testículos, os eferentes proximais aparecem com muitos pregueamentos longitudinais de seu epitélio de revestimento. Estes formam, simultaneamente, “vilos” ou pregas epiteliais altas e “criptas” fundas, havendo suporte conjuntivo da lâmina própria subjacente aos “vilos” (Figura 3b). Isso tende a mascarar ligeiramente o aspecto das câmaras epiteliais primaveris, cuja amplitude é freqüente nas outras estações do ano (Figuras 2b e 3b).

No verão a disposição das unidades seqüenciais de RT-DEP mostra-se predominantemente, com forma de câmaras (Figuras 2a e 3b), havendo uma transição continua entre os epitélios cúbico da RT e o colunar dos DEP coexistirem em trechos relativamente amplos destes dois segmentos da via espermática (Figuras 1a e 1b). A luz das câmaras está preenchida de esfoliados celulares e alguns espermatozoides (Figura 2a).

As observações ultraestruturais das células epiteliais cúbicas, na RT de codorna, mostram que a margem luminal das células é irregular, sendo a membrana plasmática apical desprovida de cílios e havendo alguns raros microvilos, muito curtos. Na fase ativa do ciclo testicular anual (primaveril), o citoplasma das células da RT exhibe grande quantidade de vesículas, predominantemente claras, com formas e dimensões variadas; entremeadas com um elevado número de mitocôndrias, e poucas lamelas do retículo endoplasmático. Algumas vesículas variadas com características, inclusive, de endossomos, e, também alguns lisossomos são vistos, distribuindo-se preponderantemente nas áreas citoplasmáticas apical e lateral (Figura 5a).

Na fase quiescente, ou inativa de outono, no ciclo testicular de codorna italiana (ORSI *et al.*, 2005), as células epiteliais da RT mostram, no geral, menor eletrondensidade citoplasmática, presença de recortes no envelope nuclear, ausência de vesículas claras e pequeno número de mitocôndrias, corpos eletrodensos e lamelas do retículo endoplasmático. Algumas lamelas aparentam estar em degeneração no nível citoplasmático apical, onde também podem ser notadas curtas expansões citoplasmáticas apicais (Figura 5b). Em outras estações do ano, ou seja, no inverno e verão, não foram notadas modificações expressivas na ultraestrutura do epitélio da RT, relativamente às observações de primavera ou de outono, aqui descritas.

A ultraestrutura das células principais (P) e ciliadas (C) dos DEP de codorna italiana, na primavera, por outro lado mostram características de células epiteliais com intensa atividade metabólica, verificando-se no citoplasma supranuclear de células P: mitocôndrias, dictiossomos do aparelho de Golgi com microvesículas revestidas adjacentes, tendo conteúdos claro e escuro respectivamente; relação do Golgi com cisternas lamelares do retículo endoplasmático e lisossomos. Ao nível apical do citoplasma supranuclear das células P observa-se, ainda, uma elevada concentração de microvesículas revestidas de conteúdo escuro, que aparentam dirigir-se à margem apical de microvilos, onde as vesículas pequeninas parecem coalescer na base dos microvilos (Figura 6a).

A luz ducto-eferencial é margeada por muitos microvilos das células P e também por cinetocílios presos em corpos radiculares ou livres na luz, a partir da margem em escova das células C. No citoplasma das células C, aos níveis perinuclear e apical verificam-se vesículas claras de superfície lisa ou revestidas, corpos multivesiculares, endossomos e lisossomos interassociados. Estas organelas, a partir das vesículas eletrólucidas estão associadas a atividades endocitóticas, bem evidentes em células C (Figura 6a).

Nas células epiteliais dos DEP de codorna, na fase quiescente de outono, ambos os tipos de células, P e C, mostram características de degeneração citoplasmática supranuclear. Assim notam-se: extensas áreas apicais eletrólucidas, desgarramento de cinetocílios da margem apical em escova das células C, áreas citoplasmáticas apicais com eletrondensidade variável mostrando “debrimentos” de partes expressivas do citoplasma apical, acompanhada também de “desgarramento” de microvilos. Estes, juntamente, com os cílios verdadeiros são cindidos próximo de suas origens

“adluminais”, sendo liberados na luz tubular. (Figura 6b).

DISCUSSÃO

Na codorna doméstica da variedade italiana, os canais e câmaras epiteliais das RT cavitária e labiríntica recordaram, resguardadas certas características espécie-específicas, a histoarquitetura geral da RT humana (BUSTOS-OBREGON; HOLSTEIN, 1976; ROOSEN-RUNGE; HOLSTEIN, 1978), e da RT de cobaia (BEU *et al.*, 2003), quanto ao seu caráter misto, ou seja, contendo, predominantemente, os segmentos: (1) intracapsular albuginico e (2) extratesticular (extracapsular) epididimário. Todavia, a rede extratesticular, peculiar também a alguns mamíferos domésticos (ORSI *et al.*, 1984; VIOTTO *et al.*, 1991; VIOTTO *et al.*, 1993a), e a algumas aves (BUDRAS; MEIER, 1981; AIRE, 1982; STEFANINI, 1997; STEFANINI; ORSI, 1999; STEFANINI *et al.*, 1999 a e b), foi denegada no touro europeu, onde caracterizou-se uma “cúpula da RT”, ao invés de um segmento extratesticular de RT (HEES *et al.*, 1987).

A continuidade direta dos canais e câmaras epiteliais da RT de codorna, já na intimidade da região epididimária (RE), diretamente com os ductos eferentes proximais (DEP) foi notada também noutras aves (BUDRAS; SAUER, 1975; BUDRAS; MEYER, 1981; AIRE, 1979 a e b; 1982; 2000; STEFANINI, 1997; STEFANINI; ORSI, 1999; STEFANINI *et al.*, 1999 a; STEFANINI *et al.*, 1999 b; SIMÕES *et al.*, 2004). Também foram descritas em aves, as interligações seqüentes dos eferentes proximais com os eferentes distais e destes com o ducto epididimário, via os ductos conectados (BUDRAS; SAUER, 1975; BUDRAS; MEYER, 1981; AIRE, 1982 e 2000), e do ducto epididimário com o ducto deferente, já externamente à RE, no pombo doméstico (STEFANINI, 1997).

Na codorna “italiana”, ora estudada, notou-se ainda, que a transição entre o epitélio predominantemente cúbico da RT e os epitélios pseudo-estratificado e colunar alto dos ductos eferentes proximais (DEP) se fez de modo abrupto ou gradual, neste caso devido à coexistência simultânea dos dois tipos de epitélio nas junções intertubulares. Nessas havia, geralmente, uma dilatação tubular e luminal ao se passar dos canais da RT para os ductos proximais, bem como se pôde notar a formação de um “*plug*” (ou “rolha”) transicional de células epiteliais entre os conductos da RT e os dos DEP, na RE de codorna. “*Plug*” epitelial transicional, similar ao comentado, fora evidenciado na

transição entre túbulos seminíferos e túbulos retos, no segmento intratesticular da RT de gato (VIOTTO *et al.*, 1991).

A formação de um “*plug*” celular transicional RT-ductos eferentes, proximais no caso das aves, ou intratesticular no caso de mamíferos (ORSI *et al.*, 1984; VIOTTO *et al.*, 1991), teria o papel de controle de fluxo seminal na luz da RT, sempre orientado para frente, isto é, aos ductos eferentes e outros túbulos seqüenciais da via espermática extratesticular, sem possibilidade de retrocesso, ou retorno, de fluido seminal e espermatozóides para as passagens da via espermática intratesticular. Pressupõe-se, portanto, um papel de “válvula” ou “barreira” de controle de fluxo seminal (anti-refluxo), sediada, a princípio, na parte extratesticular da RT (ROOSEN-RUNGE; HOLSTEIN, 1978; ORSI *et al.*, 1980; ORSI *et al.*, 1984; VIOTTO *et al.*, 1991). Tal mecanismo parece ser extensivo à RT das aves, segundo as observações aqui feitas e suporte prévio de Aire (1982).

Ao longo das estações do ano, no entanto, não se notaram variabilidades apreciáveis na morfometria da RT da codorna italiana, à microscopia de luz, quanto aos parâmetros: diâmetros tubular e luminal de suas passagens epiteliais, bem como aos valores médios de altura do epitélio de revestimento da RT, não sendo, portanto, considerados dados quantitativos apreciáveis para análises. Porém, Aire (2000) observou pequenas variações na forma das células epiteliais da RT em outras aves, vistas mais altas — entre cúbicas e colunares — em aves sexualmente imaturas, e mais baixas — entre aplanadas e cúbicas — em aves sexualmente ativas. Na codorna italiana predominou a forma celular epitelial cúbica, ao longo de todas as estações do ano.

Concernente à seqüência do sistema de ductos excretores do testículo, em codorna “italiana”, os ductos eferentes proximais (DEP) mostraram morfometricamente os maiores valores médios para os diâmetros tubular e luminal, especialmente na etapa ativa (primaveril) do ciclo testicular anual. O calibre mais largo dos DEP, relativamente aos ductos eferentes distais (DED), aqui visto, foi observado também no peru, galo, pombo e pato doméstico (HESS *et al.*, 1976; AIRE, 1979 b; STEFANINI *et al.*, 1999 a; SIMÕES *et al.*, 2004), talvez visando conter, nos DEP, o grande volume de fluido seminal produzido na RT (AIRE, 1982).

Em contrapartida ao afirmado, discute-se que ambos os ductos (DEP e DED) na RE de aves são segmentos histofisiologicamente ativos, especialmente na reabsorção de fluido seminal (STE-

FANINI, 1997; STEFANINI; ORSI, 1999; SIMÕES *et al.*, 2004). Acrescenta-se aqui, face às observações ultraestruturais no citoplasma supranuclear (apical) de células P, nos respectivos ductos (DEP e DED) de codorna, que estas células teriam efetivo engajamento em processos de endocitose adsorptiva (fagocitose), e em endocitose de fase fluida (pinocitose). A endocitose decorreria de características citoplasmáticas supranucleares de células P, tais como a presença de RER vesicular-lamelar bem desenvolvido; ocorrência de complexos vesiculares variados com cavéolas apicais, endossomos e lisossomos e muitas mitocôndrias — interassociados conforme os resultados obtidos, e com base ultraestrutural comparativa em células P dos túbulos do sistema excretor seminífero de mamíferos (HERMO *et al.*, 1994).

As características de pseudoestratificação epitelial, ocorrência de pregas longitudinais no epitélio, presença de células epiteliais basais ciliadas e não-ciliadas, e outros aspectos histo-citológicas dos DEP - DED de aves foram relatadas com as quais concordamos em termos da estruturação geral dos ductos eferentes de codorna “italiana”. Entretanto, em termos de comparação com as etapas da ciclagem testicular anual em codorna (ARTONI, 1993; ARTONI *et al.*, 1997; ORSI *et al.*, 2002; ORSI *et al.*, 2005), observaram alguns aspectos morfológicos e morfométricos nos DEP, e mesmo nos DED e ducto deferente, que permitiram correlacioná-los com aspectos da morfologia e histofisiologia cíclica dos testículos (ORSI *et al.*, 2005), sendo extensivos à morfologia dos ductos excretores do testículo. Para comparação vide Aire (1979 a e b; 2000), objetivando referência geral a outras aves, embora sem que o autor tivesse caracterizado aspectos quantitativos em seus relatos.

Os menores valores médios dos diâmetros tubulares dos DEP e DED observaram-se no outono, o período quiescente (de repouso) do ciclo testicular anual, no qual ocorre uma parada do processo espermatocitogenético (ORSI *et al.*, 2005). Na fase recessiva de verão que precede o outono o calibre tubular dos DEP também mostrou-se reduzido. Estas observações sazonais teriam reflexos sobre a histofisiologia destes ductos na codorna “italiana”. Os DEP, relativamente mais largos do que os DED têm comparativamente maiores diferenças nos diâmetros tubular e luminal na fase outonal, sendo os seus calibres maiores notados no inverno e primavera, estando correlacionados às fases de recrudescência e proliferação, respectivamente, de um ciclo testicular anual típico em codorna, e noutras aves (WINGFIELD *et al.*, 1994).

O epitélio não mostrou variabilidade de altura nas diferentes estações do ano, havendo variabilidade do calibre tubular em decorrência da elasticidade da lâmina própria, constituída predominantemente por fibras colágenas, como nos ductos espermáticos do pato doméstico (SIMÕES *et al.*, 2004), mas também possuindo alguma quantidade de músculo liso, à semelhança do que foi descrito para a RT e ductos eferentes de gato (VIOTTO *et al.*, 1993b), embora não fosse o enfoque deste trabalho averiguar especificamente o estroma miocnectivo tubular de RE de codorna.

A recrudescência invernal, por outro lado, talvez seja um período relativamente fugaz, já que a espermatocitogênese, exceto no período outonal de março a maio, porém mais incidente em meados de março e de abril, não cessou completamente. Ademais, se viu que a espermatogênese continuou inclusive no verão (ORSI *et al.*, 2005), onde valores médios baixos para os diâmetros tubular e luminal dos DEP foram vistos. Isto talvez se caracterizasse como uma possível preparação preliminar aos eventos recessivos de outono.

Os aspectos referentes à continuidade da espermatogênese, e espermição de espermatozoides se confirmaram com a verificação de muitos espermatozoides presentes na luz tubular do ducto deferente, nas fases primaveril e de inverno (ORSI *et al.*, 2002). O conjunto destas observações levou à proposição de um modelo, aparentemente, cíclico “circannual”, cujos eventos se repetem a cada ano, com parada outonal na cinética da espermatogênese, e atividades relativamente contínuas nas outras estações (ORSI *et al.*, 2005). As atividades de espermatogênese são mais marcantes na primavera conforme se relatou para a própria codorna da variedade japonesa (ARTONI *et al.*, 1997), cuja amostragem de dados foram obtidas exclusivamente de plantéis isolados de machos (ARTONI, 1993). Por outro lado, existem estudos que questionam na própria codorna, e em algumas outras espécies de aves, uma ciclagem testicular anual típica, principalmente em condições de clima temperado. Assim sendo, o desenvolvimento testicular ocorreria, eventualmente, também em dias mais curtos (predominantes no inverno) e sempre em ausência constante de luz (SHARP; STERLING, 1985; GUYOMARC’H; GUYOMARC’H, 1992).

CONCLUSÃO

Em vista dos resultados obtidos conclui-se que em codorna de variedade italiana ocorre um padrão intermediário entre o comportamento cíclico

e o comportamento contínuo de ciclo reprodutivo anual. A curta parada, ou quiescência outonal do ciclo reprodutivo é uma característica marcante nesta variedade de ave, conforme as observações feitas sobre a morfologia e histomorfometria dos ductos excretorios do testículo.

Microscopic structure of the tubular complex: the proximal rete testis and excurrent ducts of the testis in domestic quail (*Coturnix coturnix*)

ABSTRACT

Rete testis (RT) of quail was formed by epithelial passageways localized initially into the albuginea layer that recover the cranial pole of the testis passing afterwards to the related proximal epididymal region (ER). At the ER occurred a continuance of RT passageways with the mainly shaped chambers of the proximal efferent ducts (PED). PED had continuance with the distal efferent ducts (DED), forming an anastomotic tubular complex of RT–efferent ducts inside the ER. Small differences were noted on the RT-DEP-DED histologic structure along the year, being more evident in spring and autumn, respectively the active and quiescent phases of the annual testis cycle. More expressive variability was noted between the principal (P) epithelium cells and in tubular diameters of DEP-DED, during the two focused seasons. Spring features of RT-DEP-DED were characterised by relative enlargement of the passageways and marked organelle development in the apical cytoplasm of P cells, allowing conclude presence of active processes of endocytoses. Fall quiescence was marked by an enfolding pattern of all the tubular passageways, lacking of spermatozoa and small amount of heterogeneous material inside their luminal compartments, followed by presence of ultrastructural degenerative features in apical cytoplasm of P cells and ciliated cells of the DEP-DED complex.

Keywords: Testis, excurrent ducts, microscopic structure, Italian domestic quail.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (Proc. 30.1242/80 RN) e à FAPESP (Processos 03/00879-0 e 04/05578-1) pelos auxílios concedidos à pesquisa.

REFERÊNCIAS

AIRE, T.A. The epididymal region of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Acta Anat.**, Basel, v. 103, p. 305-312, 1979a.

AIRE, T.A. Microstereological study of the avian epididymal region. **J. Anat.**, London, v. 129, p. 703-706, 1979b.

AIRE, T.A. The Rete testis of birds. **J. Anat.**, London, v. 135, p. 97-110, 1982.

AIRE, T.A. Aspects of the functional morphology of the ductus epididymidis in domestic anseriform and galliform birds. **Anat. Histol. Embryol.**, Berlin, v. 29, p. 179-191, 2000.

ARTONI, S.M.B. **Considerações sobre a morfologia e histofisiologia do testículo da codorna (*Coturnix coturnix japonica*)**. Tese de Doutorado – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1993, 73 p.

ARTONI, S.M.B.; ORSI, A.M.; CARVALHO, T.L.L.; LOPES, R.A. The annual testicular cycle of the domestic quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Anat. Histol. Embryol.**, Berlin, v. 26, p. 337-339, 1997.

BEU, C.C.L.; ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; MORENO, M.H. The ultrastructure of the guinea pig Rete testis. **J. Submicr. Cytol. Pathol.**, Siena, v. 35, p. 141-146, 2003.

BUDRAS, K.D.; MEYER, U. The epididymis and its the development in ratite birds (Ostrich, Emu, Rhea). **Anat. Embryol.**, Heidelberg, v. 162, p. 281-299, 1981.

BUDRAS, K.D.; SAUER, T. Morphology of the epididymis of the cock (*Gallus domesticus*) and its effect upon the steroid sex hormone synthesis. Ontogenesis, morphology, and distribution of the epididymis. **Anat. Embryol.**, Heidelberg, v. 148, p. 175-196, 1975.

BUSTOS-OBREGON, E.; HOLSTEIN, A.F. The Rete testis in man: ultrastructural aspects. **Cell Tiss. Res.**, Heidelberg, v. 175, p. 1-15, 1976.

CLERMONT, Y. Introduction to the Sertoli Cell. In: RUSSEL, L.; GRISWOOD, M.D. (eds.) The Sertoli Cell. **Clearwater**, Cache River Press, 1993, 899 p.

- GUYOMARC'H, C.; GUYOMARC'H, J.C. Sexual development and free-running period in quail kept in constant darkness. **Gen. Comp. Endocrinol.**, Cambridge, v. 86, p.103-110, 1992.
- HESS, R.A.; THURSTON, R.J.; BIELLIER, H.V. Morphology of the epididymal region and ductus deferens of the turkey (*Meleagris gallopavo*). **J. Anat.**, London, v. 122, p. 241-252, 1976.
- HEES, H.; WROBEL, K.H.; KOHLER, T.; LEISER, R.; ROTHBACHER, I. Spatial topography of the excurrent duct system in the bovine testis. **Cell Tiss. Res.**, Heidelberg, v. 248, p. 143-151, 1987.
- HERMO, L.; OKO, R.; MORALES, C. Secretion and endocytosis in the male reproductive tract: a role in sperm maturation. **Int. Rev. Cytol.**, New York, v.154, p. 105-189, 1994.
- MORALES, C.R.; HERMO, L.; CLERMONT, Y. Endocytosis in epithelial cells lining the rete testis of the rat. **Anat. Rec.**, New York, v. 209, p. 185-195, 1984.
- MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. Tokio: Kogakusha, 1976.
- ORSI, A.M.; MELO, V.R.; FERREIRA, A.L. Algumas considerações sobre a morfologia da *Rete testis* em mamíferos. **Ciênc. Cult.**, São Paulo, v. 32, p. 725-728, 1980.
- ORSI, A.M.; CARVALHO, I.M.; MOREIRA, M.M.; VALENTE, M.M.; GUAZZELLI-FILHO, J. Morfología de la red testicular em el caprino doméstico (*Capra hircus*). **Zbl. Vet. Med. C**, Berlin und Hamburg, v. 13, p. 42-49, 1984.
- ORSI, A.M.; MATHEUS, S.M.M.; GREGORIO, E.A.; BEU, C.C.L. Morphological investigations of the surface epithelium of Ductulli efferentes of black isogenic mice (*Mus musculus*). **Anat. Histol. Embryol.**, v. 27, p. 215-218, 1998.
- ORSI, A.M.; CRUZ, C.; VIEGAS, K.A.S.; MACHADO, M.R.F.; DOMENICONI, R.F.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. O ducto deferente de codorna: estrutura e possíveis variações morfológicas sazonais. **Anais: XX Congresso Brasileiro de Anatomia**. Maceió, AL, 06 a 11-10-2002, p. 159.
- ORSI, A.M.; STEFANINI, M.A.; VEIGAS, K.A.S.; SIMÕES, K.; ARTONI, S.M.B. Aspectos morfológicos do ciclo testicular anual de codorna doméstica (*Coturnix coturnix*) da variedade italiana. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 42, p. 163-170, 2005.
- ROOSEN-RUNGE, E.C.; HOLSTEIN, A.F. The human Rete testis. **Cell. Tiss. Res.**, Heidelberg, v. 189, p. 409-433, 1978.
- SHARP, P.J.; STERLING, R.J. Photoperiodic requirement for the dissipation of scotorefractoriness in Japanese quail. **Gen. Comp. Endocrinol.**, Cambridge, v.58 p. 169-173, 1985.
- SIMÕES, K.; ORSI, A.M.; ARTONI, S.M.B.; DA CRUZ, C.; SCHIMMING, B.C.; PINHEIRO, P.F.F. Structural features of the epididymal region of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 41, p. 92-97, 2004.
- STEFANINI, M.A. **Estrutura da via espermática extratesticular do pombo doméstico (*Columba livia*)**. Tese de Doutorado – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1997, 66 p.
- STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M. Características morfológicas da região epididimária do pombo doméstico (*Columba livia*). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v. 36, p. 66-71, 1999.
- STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; GREGORIO, E.A.; VIOTTO, M.J.S.; ARTONI, S.M.B. Morphologic study of the efferent ductules of the pigeon (*Columba livia*). **J. Morphol.**, New York, v. 242, p. 247-255, 1999a.
- STEFANINI, M.A.; ORSI, A.M.; CROCCI, A.J.; PADOVANI, C.R.; VICENTINI, C.A.; AIRES, E.D. La región epididimaria de la paloma (*Columba livia*): análisis morfológico y morfométrico. **Rev. Chil. Anat.**, Santiago, v. 17, p. 21-25, 1999b.
- TINGARI, M.D. The fine structure of the epithelial lining of the excurrent duct system of the testis of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). **Qt. J. Exp. Physiol.**, Cambridge, v. 57, p. 271-295, 1972.
- VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; MELLO-DIAS, S.; NEWMANN, H.K. Struktur des Hodennetzes der Katze (*Felis domestica*, L.). **Anat. Anz.**, Jena, v. 172, p. 341-349, 1991.
- VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; MELLO-DIAS, S.; GREGORIO, E.A. Ultrastructure

of the Rete testis in the cat (*Felis domestica*, L.). **Anat. Histol. Embryol.**, Berlin, v. 22, p. 114-122, 1993a.

VIOTTO, M.J.S.; ORSI, A.M.; VICENTINI, C.A.; CAMILLI, J.A. Ultra-estrutura do tecido circundante da rede extratesticular e dos dútulos eferentes no gato (*Felis domestica*, L.). **Rev. Brasil. Biol.**, Rio

de Janeiro, v.53, p.555-560, 1993b.

WINGFIELD, J.C.; WHALING, C.S; MARLER, P. Communication in vertebrate: aggression and reproduction: The role of hormones (male-male interactions in birds). In: KONOBIL, E. Y., J.D. NEILL (eds.). **The Physiology of Reproduction**. New York: Raven Press, 2th, v. 1, p. 310-312, 1994.

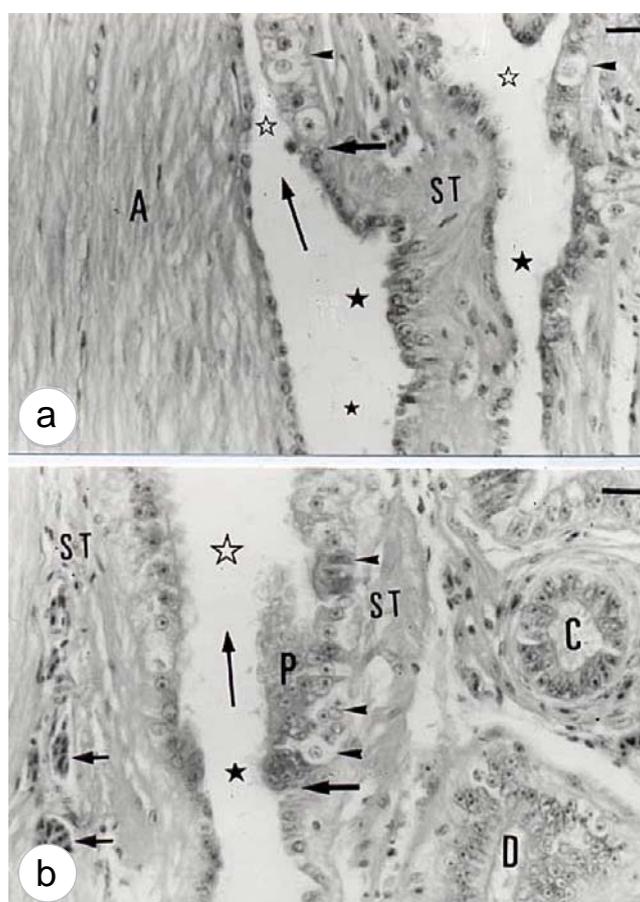


Figura 1. Fotomicrografia ao nível da transição morfológica entre o pólo cranial do testículo e a parte proximal, adtesticular da região epididimária (RE) de codorna doméstica da variedade italiana. Indicados: albugínea testicular (A) seqüente ao estroma conectivo (ST) da RE, vasos sangüíneos (setas curtas), passagens epiteliais da rede testicular (RT: estrelas, a menor representando o segmento intra-albugínico, e as maiores o segmento extracapsular); passagens epiteliais dos ductos eferentes proximais (DEP: estrelas vazadas); sentido de fluxo seminal nas passagens (seta longa); transição RT – DEP (setas médias); “plug” (P) transicional; células claras e escuras (cabeças de setas) do epitélio tubular-eferencial; e adjacentes à RT – DEP: ducto eferente distal (D) e ducto conectado (C). HE, barras = 25mm.

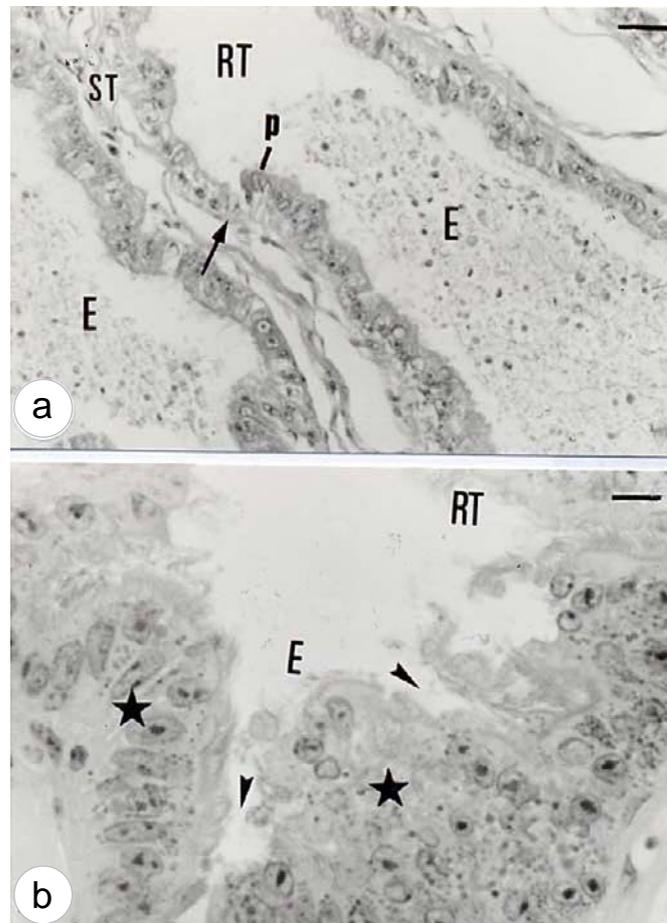


Figura 2. Ductos eferentes proximais (E) de codorna doméstica da variedade italiana, tendo transição (seta) com passagem da RT; "plug" (p) transicional de células epiteliais e estroma (ST) da região epididimária (em **a**, material histológico de verão, HE, barra = 25mm). Em **b** vê-se uma ampliação de transição RT – E (material histológico de inverno, HE, barra = 10mm), sendo apontados "vilos" (elevações, estrelas) e criptas (cabeças de setas), formadas no epitélio de E.

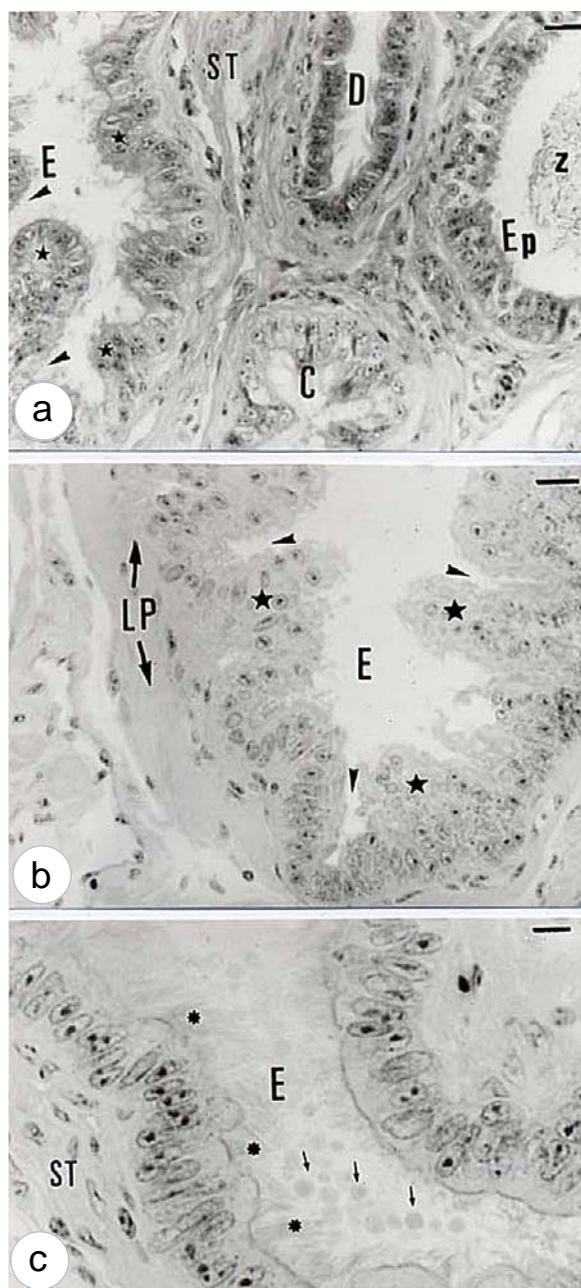


Figura 3. Ductos eferentes proximais (E) de codorna doméstica da variedade italiana, observados: na primavera (a, HE, barra = 25mm), verão (b, HE, barra = 10mm) e outono (c, HE, barra = 10mm). Notar o aspecto anfractuoso de E sendo indicados: vilos (estrelas) e criptas (cabecinhas de setas) no epitélio (em a e b); lâmina própria (LP) tubular (em b); o estroma (ST) da região epididimária (em a e c); microvilos (*) apicais em células principais, e material intraluminal (em c). Em a circunjacente ao E, são caracterizados: ducto eferente distal (D); ducto conectado (C) e ducto epididimário (Ep), este estocando espermatozoides (z) intraluminais.

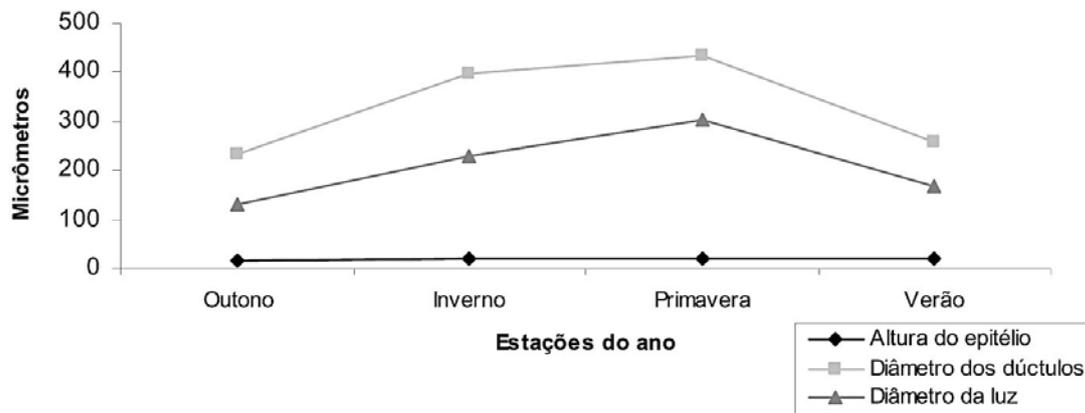


Figura 4. Gráfico representativo da altura do epitélio, diâmetro da luz e dos ductos eferentes proximalis de codorna doméstica da variedade italiana durante o ciclo reprodutivo anual.

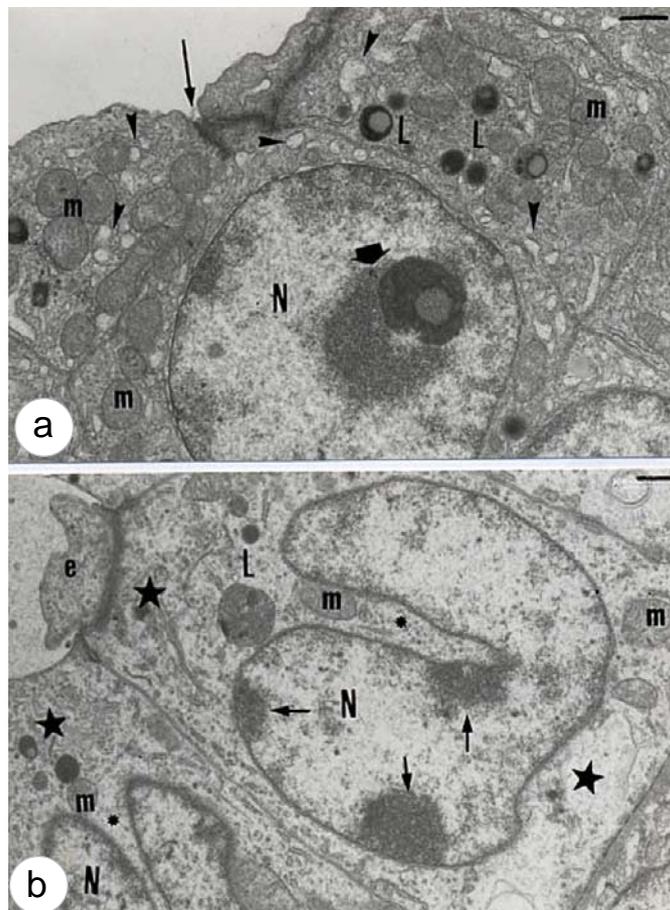


Figura 5. Eletromicrografias do epitélio de revestimento da rede testicular (RT) de codorna doméstica da variedade italiana na primavera (a, barra = 0,65mm) e no outono (b, barra = 0,65mm). Indicados, em a, na célula epitelial da RT: um diminuto microvilo apical (seta longa), mitocôndrias (m), vesículas variadas (cabeças de setas) e lisossomos (L); núcleo (N) e nucléolo (seta espessa). Em b são indicados em duas células epiteliais adjacentes da RT (outonal), núcleo (N) com material heterocromatínico aderente ao envelope nuclear (setas curtas); mitocôndrias; um profundo recorte do envoltório nuclear; um lisossomo e sinais de degeneração citoplasmática caracterizando-se expansão citoplasmática (e) apical; atipicidade das lamelas do RE e áreas claras (pauci-organelares), aos níveis citoplasmáticos apical e basal (estrelas) e “debris” citoplasmáticos intraluminais.

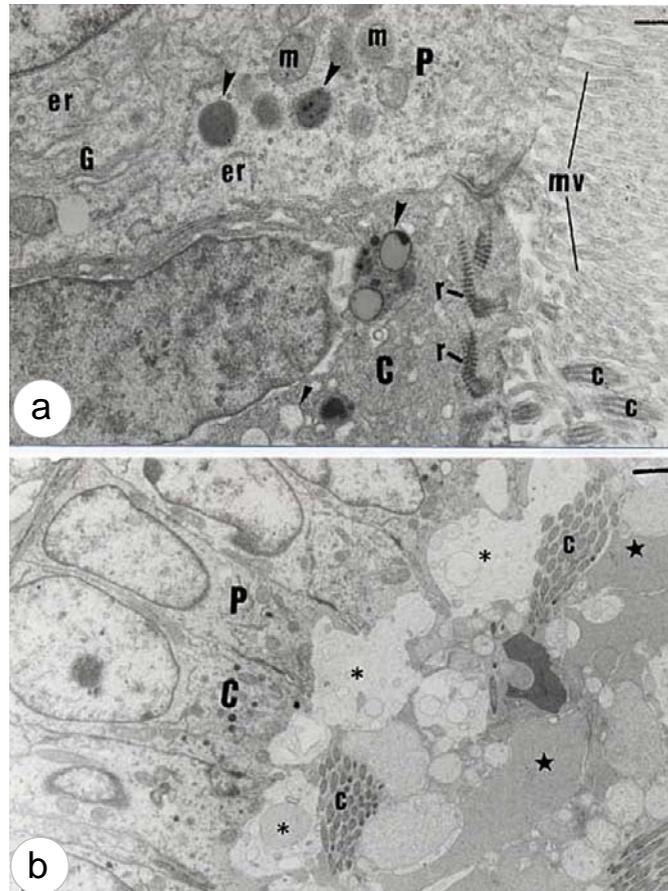


Figura 6. Ultraestrutura de células principais (P) e ciladas (C) em ductos eferentes proximais de codorna doméstica da variedade italiana, na primavera (a, barra = 0,85mm), e no outono (b, barra = 0,36mm). Assinalados mitocôndrias (m), RE granular, lamelar – vesicular (er); complexo de Golgi (G); lisossomos (cabeças de setas) em diferentes graus de compactação (eletrodensidades); microvilos (células P); corpos radiculares e cílios (células C). Em b vêm-se características de degeneração das células C e P (fase outonal), como a presença de extensas áreas de ruptura e extrusão para o lúmen tubular de extensas áreas de citoplasma apical (*) e de cílios (c) e presença de “debris” citoplasmáticos (estrelas) intraluminais.