

BAIXA RESISTÊNCIA DAS CÉLULAS GERMINATIVAS EM TOUROS COM RECORRÊNCIA FAMILIAR¹

JORGE FONSECA DA SILVA², JOSÉ CARLOS FERRUGEM MORAES³,
LUIZ HENRIQUE SCHUCH⁴ E SÍLVIO C. RAMOS MARTINS²

ABSTRACT.- Silva J.F., Moraes J.C.F., Schuch L.H. & Martins S.C.R. 1982. [Low germ cell resistance, bulls family recurrence.] Baixa resistência das células germinativas em touros com recorrência familiar. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 2(4):155-160. Depto Inseminação Artificial, COSULÂ, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100.

Clinical examination of the genital system and semen analysis were performed on six bulls, a sire and five of its offspring, during periods that varied between 3 and 38 months. Tissue sections of the testicles of three of the offspring were evaluated histologically. In a total of 22 semen evaluations performed on the sire, eight years old at the last testing, total sperm pathology ranged from 38 to 100%. During three years artificial insemination indexes were studied and showed 13.79% less pregnancies than the mean in four herds of the same region over the same period. Two of the five offspring studied showed at least one semen sample with acceptable levels of sperm anomalies. Histological examination revealed alterations in the seminiferous tubules with the presence of giant multinucleated cells in the lumen, vacuolization and pyknosis of primary spermatocytes. All results obtained in this study were indicative of testicular hypoplasia with low germ cell-resistance, characterized by low fertility, probably hereditary in origin.

INDEX TERMS: Pathology of reproduction, testicular hypoplasia, low fertility, bulls.

SINOPSE.- Visando a ampliar os conhecimentos sobre o complexo hipoplasia testicular em bovinos, entidade patológica ainda não completamente esclarecida, foram estudados andrológicamente seis touros, sendo o genitor e cinco de seus filhos, com exames clínicos do sistema genital e de sêmen durante períodos que variaram de 3 a 38 meses. Entre os filhos, três tiveram um testículo estudado histologicamente. Em 22 espermogramas realizados no genitor, com oito anos de idade no momento do último exame, a patologia espermática total oscilou entre 38 e 100%. Em três anos o percentual de vacas prenhas através de inseminação artificial foi 13,79% abaixo da média de quatro outras propriedades da região no mesmo período. Entre os cinco filhos estudados, apenas dois apresentaram alguma amostra de sêmen com níveis aceitáveis de patologia espermática. Exames histológicos revelaram alterações nos túbulos seminíferos em diversos níveis, com a presença de

células gigantes multinucleadas no lúmen, vacuolização e picnose de espermatócitos primários. Todas as características neste estudo foram indicativas de um quadro de hipoplasia testicular com baixa resistência das células germinativas, deixando explícitos dois fatos: a subfertilidade e a provável origem hereditária.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Patologia da reprodução, hipoplasia testicular, baixa fertilidade, bovinos, touro.

INTRODUÇÃO

Expressiva parcela de reprodutores que apresentam diminuída sua eficiência reprodutiva são portadores de alterações, de origem hereditária, na espermatogênese. Entre estes processos destaca-se, nos bovinos, o complexo hipoplasia testicular, que ocorre com frequências variáveis em diferentes raças e locais onde são criados animais desta espécie. (Gledhill 1973, Humphrey & Ladds 1975)

Uma classificação compreensiva de hipoplasia testicular é apresentada por McEntee (1979), caracterizando a síndrome em pelo menos cinco tipos distintos. Entre estes, encontra-se um tipo especial, descrito pela primeira vez por Lundgren (1972), na Suécia, em um touro que apresentava fertilidade

¹ Aceito para publicação em 16 de junho de 1982.

² COSULÂ, Departamento de Inseminação Artificial, Pelotas, Rio Grande do Sul 96100.

³ Instituto José Ghisolfi, Faculdades Unidas de Bagé, Bagé, RS 96400.

⁴ Departamento de Patologia Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS 96100.

em torno de 5% abaixo da dos demais reprodutores utilizados em inseminação artificial na região e de cujos filhos aproximadamente 50% tiveram de ser retirados da reprodução por apresentarem sêmen de má qualidade. Os animais gravemente afetados por esta síndrome podem apresentar sêmen aquoso e testículos pequenos; em casos menos graves, os touros jovens apresentam sêmen normal, seguindo-se um quadro de degeneração testicular alguns meses após.

Tendo em vista que o complexo hipoplasia ainda não se encontra totalmente esclarecido, é importante que sejam incorporadas à literatura informações sobre alterações na espermatogênese em touros com características similares e de difícil diagnóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

A genitália de seis touros da raça Santa Gertrudis foi examinada segundo a metodologia descrita por Larson (1980) durante períodos que variaram de 3 a 38 meses. Os seis animais derivam de uma mesma família, sendo o genitor caracterizado por "M" e cinco de seus filhos identificados de "F1" a "F5".

O probando M teve seu sêmen examinado durante 38 meses, tendo sido efetuadas 30 coletas, das quais 22 foram estudadas quanto à morfologia espermática. As coletas de sêmen nos seis touros foram realizadas com vagina artificial ou eletroejaculador em função da libido dos animais. No exame imediato do sêmen e classificação das anormalidades espermáticas foi utilizada a metodologia de Blom (1950, 1972), tomando-se como valores máximos aceitáveis para os defeitos espermáticos os recomendados por Vale Filho et al. (1978).

As informações sobre a fertilidade do sêmen congelado do probando e o desempenho reprodutivo de 11 filhas deste foram colhidas através dos índices de não retorno e diagnóstico de gestação ao longo de um período de seis anos.

Três dos filhos do genitor M, com três anos de idade, após terem tido seu sêmen colhido e examinado, foram submetidos a orquiectomia unilateral direita, para exame histológico, e as porções testiculares coletadas foram embebidas em solução de Bouin por 76 horas e logo após processadas pela técnica usual de inclusão em parafina, sendo os cortes corados com hematoxilina e eosina.

No que se refere ao sêmen congelado dos animais em estudo, foi utilizado o teste de termorresistência, que consistiu na incubação das amostras de sêmen em um mililitro de solução fisiológica durante um período de cinco horas. Neste exame, o critério adotado para considerar uma amostra de sêmen como razoável foi o de que a amostra deveria apresentar, no final do teste, motilidade igual ou superior a 5% (Fleitas et al. 1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1 são apresentadas as médias de ocorrência de anomalias espermáticas no probando e também o número de ejaculados em que estas apareceram. Observa-se que entre os considerados defeitos maiores tiveram maior importância

as seguintes formas anormais: cabeça solta anormal, delgado na base, gota citoplasmática proximal e cauda dobrada com gota distal. Da mesma forma, os defeitos menores que acusaram percentagens médias elevadas foram cauda dobrada ou enrolada e gota citoplasmática distal.

Quadro 1. Características dos espermogramas do touro M em 22 exames durante um período de 38 meses

| Anormalidade espermática | x ± s | Nº de coletas em que ocorreu o defeito |
|---------------------------|--------------|--|
| Acrossoma | 1,50 ± 0,97 | 11 |
| Subdesenvolvido | 1,26 ± 0,83 | 11 |
| Cabeça solta anormal | 4,46 ± 4,03 | 17 |
| Delgado na base | 3,85 ± 3,90 | 22 |
| Piriforme | 1,48 ± 0,80 | 11 |
| G.C.P. | 7,93 ± 6,63 | 22 |
| Pequeno anormal | 1,00 ± 0,66 | 9 |
| Contorno anormal | 1,64 ± 0,98 | 11 |
| Formas teratológicas | 0,75 ± 0,29 | 4 |
| Peça intermediária | 3,80 ± 4,28 | 22 |
| Cauda fortemente dobrada | 6,40 ± 8,34 | 2 |
| Cauda dobrada com gota | 7,97 ± 3,91 | 15 |
| Delgado | 3,88 ± 4,21 | 22 |
| C.L.G.P. | 2,39 ± 1,16 | 19 |
| Cabeça solta normal | 5,78 ± 4,98 | 17 |
| Abaxial | 1,83 ± 2,14 | 17 |
| Cauda dobrada ou enrolada | 12,87 ± 7,47 | 22 |
| G.C.D. | 10,02 ± 8,40 | 22 |

Observando-se associadamente estes resultados e as variações no quadro espermático deste touro representadas na Figura 1, fica bem evidenciado que o probando M apresenta distúrbio com características irreversíveis na espermatogênese.

O sêmen colhido do touro M, no sétimo exame, mostrou-se em boas condições no exame imediato e foi congelado em "pellets" a fim de evidenciar sua taxa de fertilidade. Esta amostra apresentava motilidade espermática de 70%, concentração de 700.000 espermatozóides por mm³ e 53% de anormalidades totais, e entre estas, individualmente, apenas gotas citoplasmáticas proximal e distal estavam acima dos valores de referência. No Quadro 2 foram reunidos os percentuais de vacas prenhas em três anos de estudo, resultando em 65,67% de prenhez, dado este que, comparado com 79,46% de quatro propriedades tomadas ao acaso, na mesma região do Estado e nos mesmos períodos, incluindo 1.446 vacas inseminadas, foi significativamente menor ($X^2 = 24,18$; 1 G.L.; $P < 0,001$).

No que se refere aos descendentes do touro M, os resultados referentes a tamanho testicular e espermograma foram con-

densados no Quadro 3. Os valores médios dos exames de sêmen revelaram que os cinco animais, com idades bem inferiores à do pai e com testículos de tamanho médio, também apresentavam alteração na espermatogênese. Na Figura 2 é possível notar que apenas os touros F2 e F4 alcançaram, em alguma amostra de sêmen, níveis aceitáveis de patologia espermática.

Quadro 2. Avaliação da eficiência reprodutiva do touro M, através de inseminação artificial

| Período | Nº vacas inseminadas | Nº vacas prenhez | % prenhez |
|---------|----------------------|------------------|-----------|
| 75/76 | 10 | 9 | 90,00 |
| 76/77 | 117 | 84 | 71,79 |
| 77/78 | 141 | 83 | 58,59 |
| Total | 268 | 176 | 65,67 |

A Figura 3 mostra a correspondência dos defeitos espermáticos com níveis acima dos aceitáveis (médias individuais acima de 5% para defeitos maiores e acima de 10% para os defeitos menores) entre o genitor M e seus cinco filhos considerados. Mesmo que estes resultados não tenham muito significado quanto à herança dos tipos de anomalias, é interessante salientar-se a repetição destas anomalias em níveis elevados na segunda geração.

A eficiência reprodutiva de 11 filhas do touro M em cinco anos de observação foi de 38,71%, ou seja, a razão entre o número de diagnósticos positivos de prenhez e o número de vezes que entraram em serviço de inseminação artificial. Embora subestime a capacidade reprodutiva destas vacas, este dado evidencia nelas uma eficiência inferior à média geral do Estado do Rio Grande do Sul, a qual, para o mesmo período, foi estimada em 47,67% pelo Ministério da Agricultura, Delegacia Federal do Rio de Grande do Sul (1981).

Os touros F3, F4 e F5, quanto ao exame histológico dos testículos, mostraram lesões características de hipoplasia e/ou degeneração testicular (McEntee 1970). A Figura 4 apresenta

% ANORM. ESPERMÁTICAS

* VALORES MÁXIMOS ACEITÁVEIS

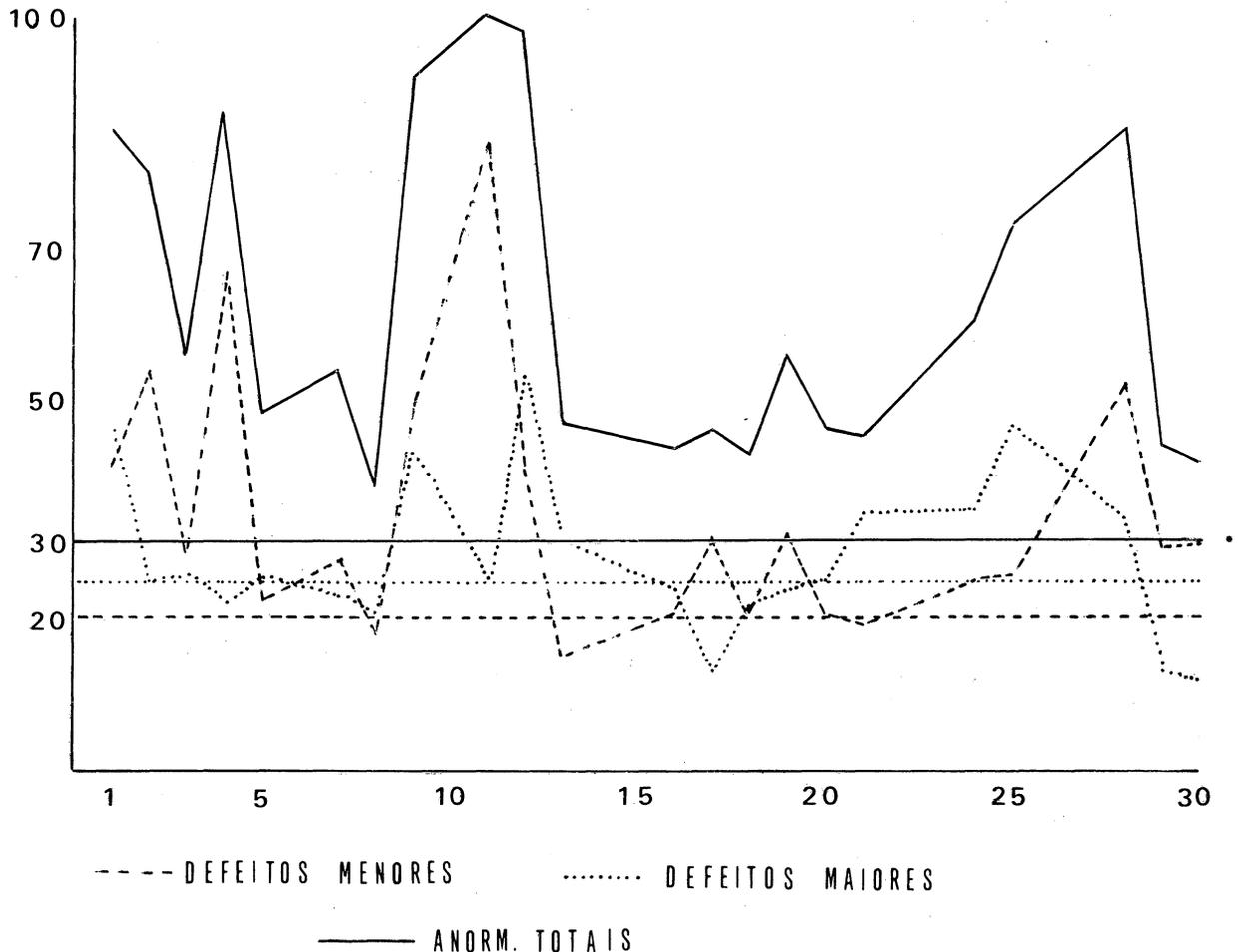


Fig. 1. Variações no quadro espermático do touro M.

% ANORM
ESPERMÁTICAS

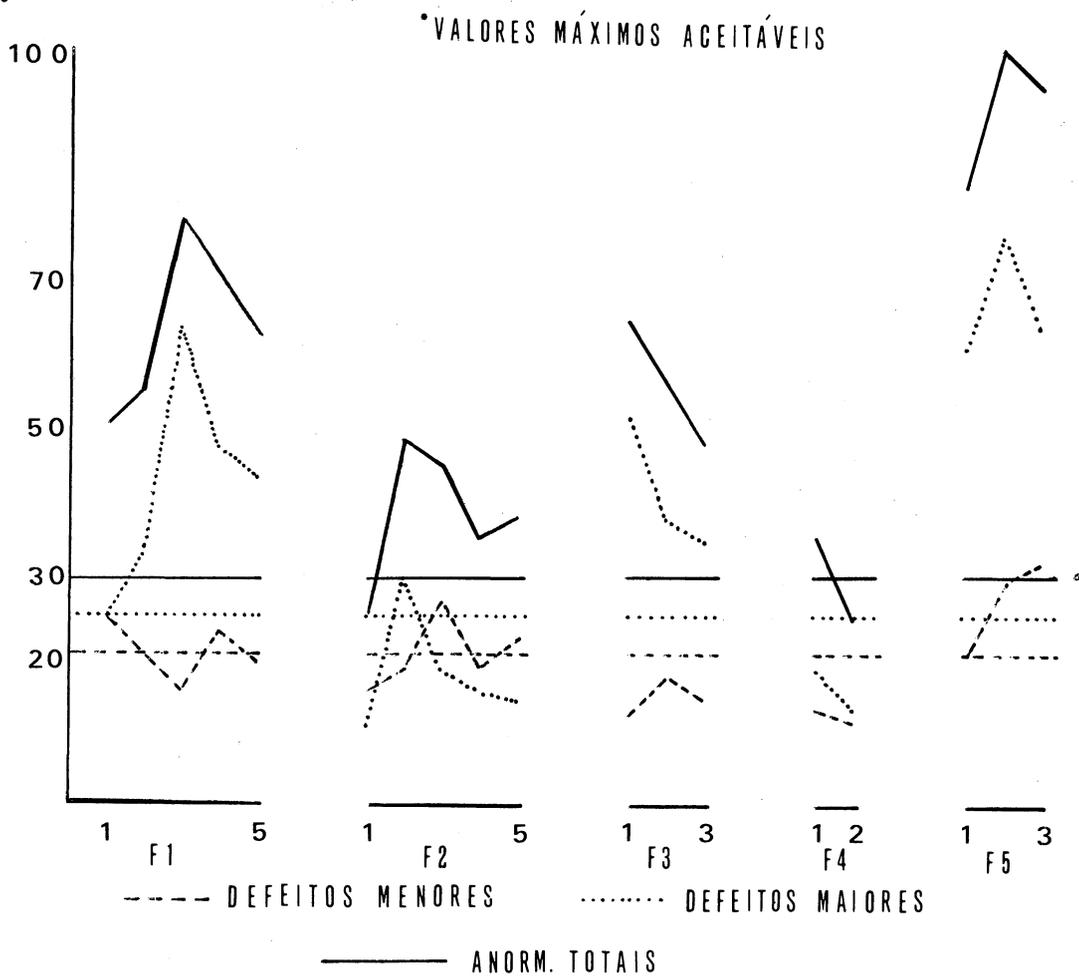


Fig. 2.

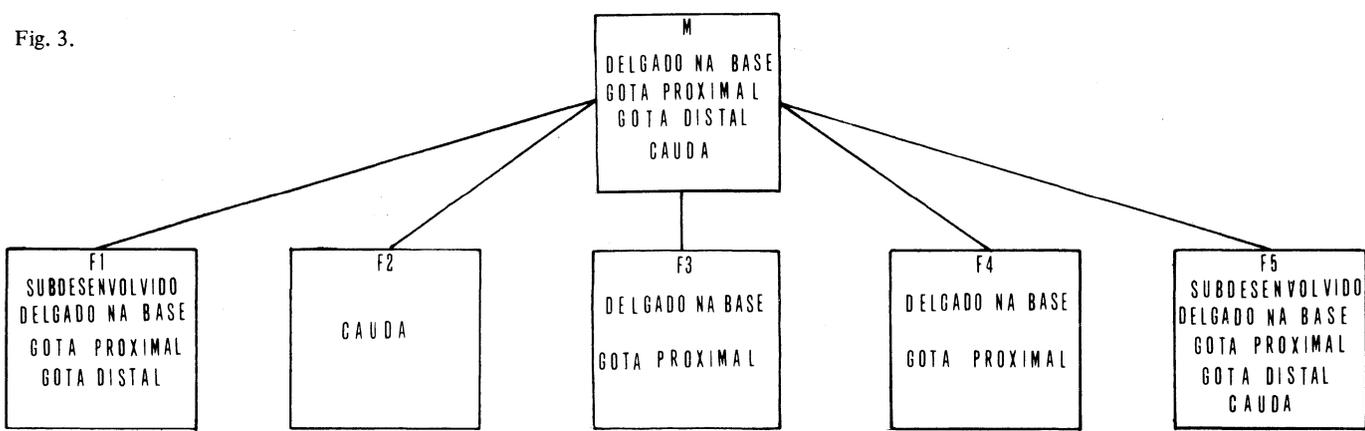


Fig. 2. Variações no quadro espermático em cinco filhos do touro M.

Fig. 3. Aparecimento dos defeitos espermáticos em níveis acima dos aceitáveis no genitor M e em cinco de seus descendentes.

Quadro 3. Características médias do exame andrológico do touro M e de cinco de seus filhos

| Touro | Perímetro escrotal | Volume ml | Motilidade % | Concentração (esp./mm ³) · 10 ⁵ | Defeitos espermáticos | | Nº de coletas de sêmen | Período meses | Idade ^(a) anos |
|-------|--------------------|-------------|---------------|--|-----------------------|---------------|------------------------|---------------|---------------------------|
| | | | | | Maiores % | Menores % | | | |
| M | 43 | 8,05 ± 4,67 | 46,40 ± 13,84 | 5,23 ± 3,46 | 28,57 ± 10,89 | 34,20 ± 17,31 | 22 | 38 | 8 |
| F1 | 40 | 6,75 ± 5,33 | 50,00 ± 6,32 | 2,12 ± 2,34 | 46,80 ± 18,28 | 23,90 ± 4,26 | 6 | 18 | 3 |
| F2 | 35 | 3,20 ± 1,30 | 62,00 ± 4,47 | 4,04 ± 0,55 | 14,25 ± 1,85 | 24,80 ± 5,26 | 5 | 3 | 2 |
| F3 | 32 | 5,83 ± 2,02 | 46,67 ± 11,55 | 4,50 ± 2,65 | 41,67 ± 8,69 | 14,33 ± 2,84 | 3 | 12 | 4 |
| F4 | 34 | 5,50 ± 0,71 | 75,00 ± 7,07 | 6,70 ± 1,98 | 19,00 ± 7,78 | 12,00 ± 1,41 | 2 | 12 | 4 |
| F5 | 36 | 7,00 ± 2,65 | 11,67 ± 7,64 | 3,50 ± 1,41 | 66,50 ± 7,86 | 27,00 ± 5,57 | 3 | 12 | 4 |

(a) Idade no momento do último espermograma.

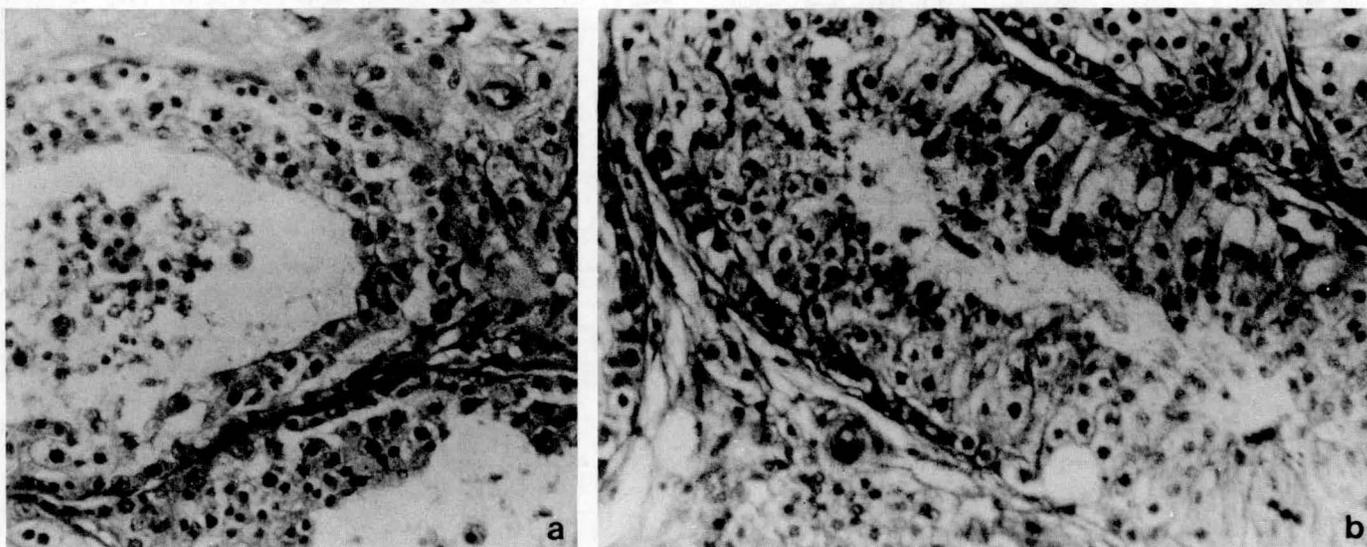


Fig. 4. Aspecto dos túbulos seminíferos de descendentes do touro M. Em (a) observa-se aumento do interstício e células gigantes na luz do túbulo. Em (b) salienta-se a vacuolização e picnose dos espermatócitos secundários.

estas lesões, que vão desde a maior quantidade de interstício, e células gigantes multinucleadas na luz dos túbulos seminíferos (a), até à vacuolização e picnose dos espermatócitos primários (b).

No que tange à avaliação *in vitro* do sêmen congelado, foram efetuados, no total, 11 testes de termorresistência, dos quais oito do touro M e três de seu filho F2, sem que, em nenhuma oportunidade, houvesse sobrevivência espermática após as cinco horas de incubação.

As descrições das alterações patológicas no quadro espermático e biópsia testicular dos touros estudados são coincidentes com diversos autores (McEntee 1970, 1979, Kenney 1971, Lundgren 1972, Galloway 1976), desta maneira permitindo incluir esta anormalidade no complexo hipoplasia testicular; este fato é ainda reforçado por Kenney (1971), que levanta a hipótese de que as células germinativas poderiam ter

proliferação suficiente porém entrariam em degeneração após a puberdade dos animais, o que caracterizaria um quadro de baixa resistência das células germinativas, corroborado ainda pelo fato de, no presente estudo, a população de células da linhagem espermática ser baixa nos três animais cujos testículos foram analisados histologicamente.

No presente estudo, dois fatos são bem claros: a eficiência reprodutiva do touro M é 13,79% inferior à média da região, persistindo com espermograma alterado por longo período de tempo sem perspectivas de recuperação, e, como em outros estudos, existe recorrência familiar, tornando cada vez mais evidente a origem hereditária. Tendo em vista que os animais afetados, em inúmeras situações, apresentam espermograma normal e ausência de alterações clínicas quando jovens, torna-se necessário determinar a correta forma de herança deste tipo de hipoplasia testicular, já que a frequência do gene ou genes

responsáveis pode ser muito aumentada através do emprego de reprodutores afetados em inseminação artificial.

REFERÊNCIAS

- Blom E. 1950. On the evaluation of bull semen with special reference to its employment for artificial insemination. Thesis, Editor Carl F. Mortensen, Copenhagen.
- Blom E. 1972. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. Atti VII Simp. Int. Zootechnia, Milano, p. 125-139.
- Fleitas A., Bonifacino L., Aragunde M., Ferraris A. & Carba A. 1976. Fecundidad del semen congelado en pellet por el test de termoresistencia. Boln Soc. Med. Vet. Uruguay 12:117-122.
- Gledhill B.L. 1973. Inherited disorders causing infertility in the bull. J. Am. Vet. Med. Assoc. 162:979-982.
- Galloway D.B. 1976. Factors affecting fertility in Bulls. Anais II Simp. Nac. Reprod. Anim., Belo Horizonte, 2:102-122.
- Humphrey J.D. & Ladds P.W. 1975. Pathology of the bovine testis and epididymis. Vet. Bull. 45:787-797.
- Kenney R.M. 1971. Selected diseases of the testicle and epididymis of the bull. Proc. VI Int. Conf. on Cattle Diseases, Oklahoma, U.S.A., p. 295-314.
- Larson L. 1980. Physical examination of the reproductive system of the bull. p. 307-330. In: Morrow D.A. (ed.) Current therapy in theriogenology. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Lundgren B. 1972. A preliminary report on hypoplasia of the gonads in the Swedish Red-and-white cattle. Proc. VII Int. Congr. Anim. Reprod. Insem. Artificial, p. 1957.
- McEntee K. 1970. The male genital system. In: Jubb K.V. & Kennedy P.C. (ed.) Pathology of domestic animals. vol. 1. 2nd edition. Academic Press, New York.
- McEntee K. 1979. Pathology of the testis of the bull and stallion. Proc. Fall Conf. Soc. Theriogenology, U.S.A., p. 80-91.
- Ministério da Agricultura, Delegacia Federal do Rio Grande do Sul. 1981. Alguns dados sobre a agropecuária do Estado do Rio Grande do Sul. 31p.
- Vale F^o V.R., Pinto P.A., Fonseca J. & Soares L.C.V. 1978. Patologia do sêmen. Trabalho do II Prêmio Dow de Veterinária. 54p.