

Peso, histometria tubular e alterações histopatológicas testiculares em rufiões eqüinos da raça Mangalarga

(Weight, tubular histometry and histopathology changes of the testis in Mangalarga breed stallion teasers)

L.A.F. Silva¹, M.C.S. Fioravanti¹, L.R. França², E.G. Araújo³, A.P. Marques Júnior³

¹Departamento de Clínica - EV/UFG
Caixa Postal 131

CEP: 74001-970 – Goiânia, GO

²Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

³Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias - EV/UFG

RESUMO

Foram utilizados 15 eqüinos machos, da raça Mangalarga, divididos em três grupos, sendo o grupo I controle e os grupos II e III transformados em rufiões. Após orquiectomia, os testículos foram pesados e processados histologicamente para histometria dos túbulos seminíferos e estudo de alterações histopatológicas. Não houve diferença estatística significativa para peso e histometria entre garanhões e rufiões. As características estudadas sugerem que os animais dos três grupos estavam aptos para a detecção do cio e não se verificou variação que pudesse ser considerada sazonal.

Palavras-Chave: Testículo, histometria tubular, rufião eqüino

ABSTRACT

Fifteen Mangalarga stallions were divided into three groups. Group I was formed by stallions and groups II and III by stallion teasers. After orchiectomy, weight, tubular histometry and histopathology of the testis were performed. Results indicated no significant differences between stallion and stallions teasers for weight and histometry. It is concluded that all animals were capable of detecting estrus and none of the changes observed were attributed to seasonality.

Keywords: Testis, tubular histometry, stallion, stallion-teaser

INTRODUÇÃO

Os testículos do garanhão adulto são ovóides e têm, aproximadamente, 10 a 12cm de comprimento, 6 a 7cm de espessura, 5cm de largura e pesam entre 225 e 300g. Além do tamanho ser variável entre raças e mesmo entre indivíduos, o testículo esquerdo é geralmente maior do que o direito (Sisson & Grosman, 1981).

O parênquima testicular é formado por um sistema de túbulos denominados túbulos

seminíferos, túbulos retos, rede testicular e por um tipo de célula que se encontra no interstício intertubular chamada célula intersticial ou de Leydig. Os túbulos seminíferos são formados por um epitélio estratificado especializado, que consta de dois tipos celulares, as células de sustentação (Sertoli) e as da linhagem espermatogênica. As células intersticiais testiculares são poliédricas e seu número depende da espécie, assim como da idade do animal (González et al., 1992). Este tipo celular é abundante no garanhão (Dellman & Brown, 1982).

Recebido para publicação em 06 de fevereiro de 1996.

Muitos fatores podem afetar o rendimento e a produção espermática e sua compreensão é essencial no manejo de garanhões. A idade influi no tamanho do testículo e este, em um garanhão normal, continua a crescer, mesmo após os cinco anos de idade. A produção máxima de espermatozoides por grama de testículo ocorre em torno de dois a quatro anos (Voss et al., 1979). O tamanho dos testículos de garanhões de dois a três anos é semelhante ao de garanhões de quatro a seis anos, mas menor do que os de idade igual ou superior a sete anos (Thompson et al., 1979).

Diferença significativa entre os pesos dos testículos direito e esquerdo foi observada, fora da estação reprodutiva, em equinos com idade entre quatro e cinco anos, isto é, pesos médios de 125,0 e 144,8g, respectivamente. Durante a estação de reprodução, os pesos encontrados para os animais da mesma idade foram de 149,3g para o testículo direito e de 152,6g para o esquerdo (Johnson & Thompson Jr., 1983).

Há certa influência da idade e da estação do ano sobre o comportamento reprodutivo de garanhões, bem como sobre as variações dos níveis plasmáticos de testosterona, porém, pouco se sabe sobre a variação da estrutura testicular em função dessas duas variáveis (Berndtson et al., 1977).

O objetivo desse trabalho foi descrever o peso, a histometria dos túbulos seminíferos e as possíveis alterações histopatológicas do testículo de rufiões equinos da raça Mangalarga.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 15 equinos machos, inteiros, da raça Mangalarga, com idade inicial entre 38 e 55 meses, separados, ao acaso, dentro do plantel, em três grupos de cinco animais cada, sendo o grupo I usado como controle. Os grupos II e III foram transformados em rufiões pela técnica de circuncisão com encurtamento do pênis, utilizando metodologia similar à de Colahan et al. (1991).

Os equinos dos grupos I e II foram submetidos à orquiectomia, um ano após o início do experimento, enquanto nos do grupo III, este procedimento foi executado ao final de seis

meses de observação. Imediatamente após a castração, cada testículo, depois de separado do respectivo epidídimo, foi pesado e seccionado longitudinalmente em duas metades. No terço médio de uma delas, junto à albugínea, efetuou-se a colheita de fragmentos, com cerca de um centímetro quadrado.

Os fragmentos foram fixados em Bouin durante 24 a 36 horas. Depois de desidratado e diafanizado, o material foi incluído em parafina, procedendo-se à obtenção de secções com cinco micrômetros de espessura, coradas pela hematoxilina e eosina, montadas com Entellan (MERCK) e examinadas ao microscópio óptico. Para determinar o diâmetro médio dos túbulos seminíferos de cada testículo, utilizaram-se 20 secções transversais, de contorno o mais circular possível, medidos por varredura horizontal (França, 1987). Ainda nestas secções mediu-se a altura do epitélio seminífero, registrando-se o valor médio resultante de medidas em lados opostos de cada túbulo. As determinações do diâmetro tubular e da altura do epitélio seminífero foram feitas utilizando-se ocular micrométrica Zeiss KPL-W10x e objetiva 16x e 40x. Este estudo avaliou as células da linhagem espermática, estabelecendo se os machos estavam produzindo espermatozoides.

Além da análise histométrica, os cortes histológicos foram também utilizados para verificar alterações testiculares mais comuns (McEntee, 1979).

Para analisar o peso dos testículos, o diâmetro dos túbulos seminíferos e a altura do epitélio seminífero utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso. A eventual associação entre as variáveis estudadas foi verificada através da correlação de Pearson. Utilizou-se o teste de Tukey para comparar diferenças entre médias (Snedecor & Cochran, 1967).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O valor médio encontrado para o peso dos testículos direito e esquerdo foi de 274,4±49,2, 266,0±29,9 e 260,2±49,0g, para os animais dos grupos I, II e III, respectivamente (Tab. 1). Observou-se pouca variação no peso médio dos testículos nos diferentes grupos. Em 73,3% dos casos, o testículo esquerdo era maior do que o

direito, porém, a diferença entre ambos não foi estatisticamente significativa. Na Tab. 2 verifica-

se que a correlação entre peso dos testículos e idade à castração foi positiva.

Tabela 1. Idade (meses) à castração (média±DP), peso (gramas) e dados histométricos dos testículos (micrômetros) de eqüinos da raça Mangalarga

Grupo	Eqüino	Idade à castração	Peso dos testículos			Diâmetro dos túbulos seminíferos	Altura do epitélio seminífero
			Direito	Esquerdo	Total		
I	1	60	148	150	298	142,9 ± 15,1	43,3 ± 9,2
	2	52	131	130	261	130,8 ± 13,2	41,5 ± 7,9
	3	62	170	175	345	156,2 ± 17,5	43,9 ± 6,0
	4	50	105	110	215	129,0 ± 9,2	40,6 ± 4,5
	5	53	125	128	253	124,9 ± 11,2	41,7 ± 6,6
Média ± DP		55,4±5,1	135,8±24,5	138,6±24,8	274,4±49,2	136,7 ± 12,7	42,6 ± 1,9
II	6	56	115	115	230	153,5 ± 15,3	45,1 ± 6,4
	7	54	130	134	264	133,6 ± 15,8	36,4 ± 3,7
	8	60	158	155	313	137,0 ± 18,2	36,6 ± 11,7
	9	53	126	132	258	157,2 ± 17,2	49,6 ± 11,2
	10	52	132	133	265	139,2 ± 10,5	40,5 ± 7,4
Média ± DP		55,0±3,1	132,2±15,8	133,8±14,2	266,0±29,9	144,1 ± 10,5	41,6 ± 5,7
III	11	61	130	145	275	142,6 ± 17,9	44,3 ± 9,4
	12	44	137	140	277	132,4 ± 16,1	45,1 ± 8,9
	13	48	161	162	323	135,5 ± 17,6	42,5 ± 8,9
	14	45	96	98	194	123,4 ± 10,4	42,4 ± 6,6
	15	46	117	115	232	127,1 ± 8,9	42,9 ± 5,8
Média ± DP		48,8±6,9	128,2±24,1	132,0±25,4	260,2±49,0	132,2 ± 7,5	42,9 ± 5,8
Média geral		53,1±5,8	132,1±20,5	134,8±20,6	266,8±40,9	137,6 ± 10,9	42,5 ± 3,4

DMS para peso dos testículos = 72,26g
 DMS para diâmetro dos túbulos seminíferos = 17,67 micrômetros
 DMS para altura do epitélio seminífero = 6,02 micrômetros
 Diferença não significativa (P > 0,05) entre as médias.

Tabela 2. Coeficiente de correlação entre idade à castração, peso dos testículos (PT), diâmetro dos túbulos seminíferos (DTS) e altura do epitélio seminífero (AES)

	PT	DTS	AES
Idade à castração	0,54*	0,62*	0,01
Peso dos testículos		0,44	0,01
Diâmetro dos túbulos seminíferos			0,55*

*P < 0,05

Os valores médios encontrados para o peso dos testículos dos eqüinos foram semelhantes nos diversos grupos de animais estudados, demonstrando, assim, uma homogeneidade entre eles. Tais valores foram ligeiramente superiores àqueles descritos para eqüinos da raça Mangalarga (Canabrava et al., 1986), ressaltando que os animais aqui pesquisados eram mais velhos à época da castração. Porém, ao contrário do observado por Johnson & Thompson Jr. (1979), não se verificou alteração no peso dos testículos durante os períodos reprodutivo e não reprodutivo, possivelmente devido à sazonalidade ser menos evidenciada em regiões tropicais.

Apesar de a diferença encontrada não ter sido estatisticamente significativa, verificou-se que o testículo esquerdo foi mais pesado do que o direito na maioria dos casos. Tal observação está de acordo com França (1987, 1991), que afirma

que a predominância de um antímero sobre outro, sem ocorrer diferença significativa, é um achado comum em mamíferos domésticos. A preponderância do testículo esquerdo foi citada por Nishikawa (1959) como uma especificidade nos eqüinos.

A variação individual encontrada no peso dos testículos dos animais do presente trabalho confirma os achados de Nishikawa (1959) e Canabrava et al. (1986). Além dos aspectos sazonais, atribui-se esta variação, em mamíferos, àqueles fatores relacionados com idade, peso corporal e, ainda, fatores genéticos (França, 1987, 1991; Castro, 1988; Parreira, 1990). Assim, a correlação positiva observada entre peso dos testículos e idade à castração mostra que, além da relativa variação da faixa etária, os eqüinos do presente estudo encontravam-se, ainda, em fase de crescimento testicular, aspecto mencionado por França (1991).

À época da maturidade sexual, aproximadamente aos dois anos de idade, os eqüinos apresentam peso dos testículos entre 150 e 170 gramas (Hafez, 1988). Nesse estudo, o peso do testículo foi maior, porém a idade dos animais também era maior. Estas observações, somadas ao fator raça e, à parte, ao exame histológico dos testículos,

sugerem que muitos eqüinos deste experimento encontravam-se no período pós-púbere.

O diâmetro médio encontrado dos túbulos seminíferos (Tab. 1) foi de $136,7 \pm 12,7$, $144,1 \pm 10,5$ e $132,2 \pm 7,5$ micrômetros, para os grupos I, II e III, respectivamente.

A altura do epitélio seminífero foi de $42,6 \pm 1,9$ micrômetros para o Grupo I, $41,6 \pm 5,7$ micrômetros para o Grupo II e de $42,9 \pm 5,8$ micrômetros para o grupo III. Não houve diferença significativa no diâmetro tubular e na altura do epitélio seminífero entre os três grupos, porém, verificou-se correlação positiva entre diâmetro tubular e idade à castração e entre altura do epitélio seminífero e diâmetro tubular (Tab. 2).

Apesar de não ter sido estudada a proporção volumétrica dos componentes do testículo, a análise histológica permite afirmar que as células de Leydig apresentaram-se em pequena quantidade, discordando do citado por Dellmann & Brown (1982), como característica da espécie.

Os valores médios do diâmetro tubular foram menores do que os citados por Arighi et al. (1987) e Penzhorn & Merwe (1988), em eqüinos de outras raças, ao mencionarem variação entre 175 e 242 micrômetros. Porém, o diâmetro médio dos túbulos seminíferos nos animais do presente experimento foi semelhante àqueles encontrados por Berndtson et al. (1983) e Jones & Berndtson (1986) em eqüinos estudados fora do período reprodutivo e em regiões com sazonalidade evidente. O menor diâmetro tubular aqui observado deveu-se, provavelmente, à retração dos componentes testiculares durante o processamento histológico, fato também observado por Berndtson et al. (1977) e Amann (1981), além do fato de muitos dos animais estudados no presente experimento ainda se encontrarem no período pós-púbere. Para França & Cardoso (1988), nesta fase os túbulos seminíferos ainda não atingiram seu diâmetro máximo.

A não diferença no diâmetro tubular e na altura do epitélio seminífero demonstra sua homogeneidade, semelhante ao que já discutido para peso dos testículos.

A correlação positiva entre diâmetro tubular e altura do epitélio seminífero confirma as observações feitas por Parreira (1990), em estudos com roedores silvestres em diferentes épocas do ano. A correlação positiva entre idade à castração e diâmetro dos túbulos seminíferos encontrada nos eqüinos desse experimento é tida como pouco comum em animais sexualmente maduros (França, 1991), mas o inverso ocorre quando os testículos estão ainda em fase de crescimento (França & Cardoso, 1988). Assim, a correlação positiva, a exemplo do verificado para o peso dos testículos, demonstra que vários animais estudados encontravam-se ainda no período pós-púbere. Portanto, a análise desses resultados sugere que a idade média para se estudar características relacionadas com a atividade e a maturidade sexual, em eqüinos da raça Mangalarga, poderia ser alguns meses mais elevada, pelo menos nas condições em que este experimento se desenvolveu.

Embora poucos fragmentos de testículo tenham sido analisados nos diferentes animais de cada grupo, algumas alterações foram encontradas, dentre elas a redução de células da linhagem espermatogênica, focos inflamatórios com predomínio de células mononucleares e discreta degeneração.

A discreta degeneração testicular verificada no animal de nº 8, e alguns focos inflamatórios com predominância de linfócitos e plasmócitos, encontrados nos animais de nºs 3 e 10, provavelmente não interferiram no processo espermatogênico, uma vez que nestes animais o diâmetro médio dos túbulos seminíferos e a altura do epitélio seminífero apresentaram valores próximos aos dos outros eqüinos estudados. O fato de alguns túbulos seminíferos dos animais aqui analisados terem menor população celular, ou mesmo discreta degeneração, é tido como achado comum em mamíferos (Kumi-Diaka et al., 1983; França, 1991).

Os cruzamentos consangüíneos, muitas vezes utilizados na espécie eqüina, podem contribuir para o aumento na incidência de patologias testiculares (McEntee, 1979). Os focos inflamatórios e degenerativos encontrados no estudo histológico, possivelmente, são achados

freqüentes em eqüinos, ou mesmo atribuídos ao manejo ao qual os animais possam ser submetidos. Porém, para McEntee (1979), apesar dessas alterações serem freqüentes, elas não podem ser consideradas como um processo normal.

CONCLUSÕES

Nas condições em que o estudo foi realizado pode-se concluir que: 1 - o peso médio encontrado para os testículos e as dimensões dos túbulos seminíferos sugeriram que os rufiões e garanhões estavam aptos para detectar o cio; 2 - a influência sazonal sobre o peso dos testículos dos rufiões e garanhões e os dados histométricos não ficou caracterizada; 3 - não houve diferença no peso e na histometria testicular entre garanhões e rufiões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANN, R.P.A. Critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *J. Androl.*, v.2, p.37-58, 1981.
- ARIGHI, M., SINGHI, A., BOSU, W.T.K. et al. Histology of the normal and retained equine testis. *Acta Nat.*, v.29, p.127-130, 1987.
- BERNDTSON, W.E., SQUIRES E. L., THOMPSON, D. L. Reproductive physiology of the stallion. IV. Seasonal changes in the testosterone concentrations of perineal plasma. *J. Reprod. Fertil.*, v.39, p.115, 1977.
- BERNDTSON, W.E., SQUIRES, E.L., THOMPSON, D.L. Spermatogenesis testicular composition and the concentration of testosterone in the equine testis as influenced by season. *Theriogenology*, v.20, p.449-457, 1983.
- CANABRAVA, H.A.N., GODINHO, H.P., CARDOSO, F.M. Biometria testicular e reserva gonádica de cavalos Mangalarga. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 6, 1985, Belo Horizonte. *Anais...* Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.417-418.
- CASTRO, A.C.S. *Reservas espermáticas testicular e epididimária de suínos Piau, da puberdade à maturidade sexual*. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1988. 61p. (Tese, Mestrado).
- COLAHAN, P.T., MAYHEW, I.G., MERRIT, A.M. et al. *Equine medicine and surgery*. 4.ed. Goleta: American Veterinary, 1991. v.2, 1859 p.
- DELLMANN, H.O., BROWN, E.M. *Histologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 397 p.
- FRANÇA, L.R., CARDOSO, F.M. Desenvolvimento testicular de suínos Piau. II - Análise histométrica. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.40, p.181-192, 1988.
- FRANÇA, L.R. *Análise morfofuncional da espermatogênese de suínos adultos da raça Piau*. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1991, 185p. (Tese, Doutorado).
- FRANÇA, L.R. *Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade*. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1987. 79p. (Tese, Mestrado).
- GONZÁLEZ, R.H., ARCE, S.R.A., DOMINGUEZ, L.D.Z. et al. *Embriología e histología funcional del aparato reprodutor de los animales domésticos*. México: Ofi. Tesis, 1992. 114p.
- HAFEZ, E.S.E. *Reprodução animal*. 4.ed. São Paulo: Manole, 1988. 720 p.
- JOHNSON, L., THOMPSON Jr., D.L. Seasonal variation in the total volume of Leydig cells in stallions is explained by variation in cell number rather than animal size. *Biol. Reprod.*, v.35, p.971-79, 1979.
- JOHNSON, L., THOMPSON Jr., D.L. Age-related and seasonal variation in the Sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions. *Biol. Reprod.*, v.29, p.777-789, 1983.
- JONES, L.S., BERNDTSON, W.E. A quantitative study of Sertoli cell and germ cell populations as related to sexual development and aging in the stallion. *Biol. Reprod.*, v.35, p.138-148, 1986.
- KUMI-DIAKA, J., OSORI, D.I.K., NJORU, C.O. et al. Qualitative estimation of spermatogenesis in bulls (*Bos indicus*) in tropical environment of Nigeria. *Vet. Res.*, v.6, p.215-222, 1983.
- McENTEE, K. Reproductive pathology. In: INTERNATIONAL POST GRADUATED COURSE ON ANIMAL REPRODUCTION, 13, Stockholm, v.3, p.26-55, 1979.
- NISHIKAWA, Y. *Studies on reproduction in horses*. Tokyo: Shiba Tamuracho Minatoku, 1959.
- PARREIRA, G.G. *Morfologia e variação sazonal da atividade dos testículos e órgãos genitais acessórios de Bolomys lasinrus Lund, 1841 (Rodentia, cricetidae)*. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1990. 97p. (Tese, Mestrado).
- PENEZHORN, B.L., MERWE, N.J. Testis size and onset of spermatogenesis in cape mountain zebras (*Equus zebra zebra*). *J. Reprod. Fertil.*, v.83, p.371-375, 1988.

Silva et al.

SISSON, S., GROSMAN, J.M. *Anatomia dos animais domésticos*. 5.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. v.1, 1134p.

SNEDECOR, G.W., COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6.ed. Iowa: Iowa State University, 1967. 593p.

THOMPSON, D.L., PICKETT, B.W., SQUIRES, E.L. et al. Testicular measurements and reproductive

characteristics in stallions. *J. Reprod. Fertil.* (Supl.), v.27, p.13-17, 1979.

VOSS, J.L., SQUIRES, E.L., PICKETT, B.W. et al. Factors affecting reproductive performance of the stallion. *Proc. Am. Assoc. Equine Practitioners*, v.25, p.33-39, 1979.