

Morfología espermática en felinos domésticos: estudios microscópicos y ultramicroscópicos

Morfologia espermática em felinos domésticos: estudos microscópicos e ultramicroscópicos
Sperm morphology in domestic cats: microscopic and ultramicroscopic studies

María Florencia García¹, Romina Nuñez Favre¹, Susana Jurado², María Alejandra Stornelli²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CONICET

²Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

Abstract

El estudio de la morfología espermática en felinos adquiere gran importancia en la evaluación de la calidad seminal debido a la presencia de un alto número de espermatozoides morfológicamente anormales en eyaculados de gatos fértiles. De esta forma, se consideran normospermicos aquellos eyaculados con más del 60% de espermatozoides morfológicamente normales y teratospermicos aquellos con menor porcentaje. Si bien el microscopio óptico (MO) permite evaluar la morfología celular, la utilización del microscopio electrónico de transmisión (MET) permite evaluar cambios ultraestructurales y estructuras intracelulares no observables al MO. El objetivo fue evaluar el porcentaje y tipo de morfoanomalías mediante microscopía óptica y electrónica en eyaculados teratospermicos y normospermicos de gatos domésticos. Se utilizaron 5 gatos mestizos clínicamente sanos de 2 a 5 años. Se obtuvieron 11 eyaculados mediante electroeyaculación. Las anomalías espermáticas al MO se clasificaron según su localización en anomalías de cabeza (Ca), pieza intermedia (PI) y cola (Co) contando 200 células por muestra bajo objetivo de inmersión, utilizando Tinción 15[®] (Biopur, Argentina). Una vez concluida la evaluación seminal, el semen se centrifugó y las muestras para el MET se fijaron en glutaraldehído 2%, tetróxido de osmio 1% y se incluyeron en resina Epoxi. Los cortes ultrafinos (90 nm) se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo. Se evaluaron 100 cabezas y 100 colas por cada muestra utilizando un microscopio Jeol JEM 1200 EX II (JEOL Ltd., Tokio, Japón). Del total de eyaculados observados al MO, 2 fueron considerados teratospermicos y 9 normospermicos. En los eyaculados teratospermicos se observó mayor porcentaje de anomalías de Ca y menor porcentaje de anomalías de Co en comparación con los normospermicos ($18,54 \pm 1,46$ vs $12,56 \pm 3,41$ $p \leq 0,05$; $68,64 \pm 5,50$ vs $57,84 \pm 0,70$ $p \leq 0,05$ respectivamente). La evaluación ultramicroscópica permitió observar en los eyaculados teratospermicos un mayor porcentaje de anomalías de Ca y de PI comparada con los normospermicos ($27,08 \pm 2,08$ vs $19,95 \pm 3,89$ $p \leq 0,05$ y $30,00 \pm 7,50$ vs $17,43 \pm 3,36$ $p \leq 0,01$). Mientras que las anomalías localizadas en la Co fueron significativamente menores en eyaculados teratospermicos comparado con normospermicos ($42,92 \pm 4,63$ vs $62,61 \pm 2,64$ $p \leq 0,01$). Al comparar las anomalías encontradas al MET con las encontradas al MO, podemos destacar que las anomalías localizadas en la Ca fueron significativamente mayores en el MET comparada con el MO tanto en eyaculados teratospermicos ($27,08 \pm 2,08$ vs $18,54 \pm 1,46$ $p \leq 0,05$) como en normospermicos ($19,95 \pm 3,89$ vs $12,56 \pm 3,41$ $p \leq 0,05$). Las anomalías más frecuentes encontradas al MO en eyaculados teratospermicos fueron cabezas sueltas, macrocefalias, cabezas irregulares, PI dobladas, inserciones excéntricas, colas dobladas y colas enrolladas. Al MET los eyaculados mostraron acrosomas defectuosos (lipping acrosomal), cabezas redondeadas, inmaduras, irregulares, alargadas, dobles, macro y microcefalias, gotas citoplasmáticas proximales y distales, PI dobles, colas enrolladas, dobladas, dobles y, defectos de Dag. De Sousa Barbosa observó al MO un mayor porcentaje de anomalías localizadas en la Co en comparación con la Ca y PI, en eyaculados normospermicos concordando con nuestras observaciones. Asimismo, estudios realizados en un gato teratospermico mostró una alta incidencia de defectos de "Dag" al MET anomalía observada en el estudio. Nuestros resultados muestran gran variedad de anomalías en los eyaculados de gatos domésticos al igual que los descritos previamente en espermatozoides recuperados de la cola del epidídimo. El uso del MET permite observar morfoanomalías espermáticas no detectables al MO, permitiendo aproximar el diagnóstico de afecciones que podrían afectar la fertilidad.

Efecto del tratamiento con finasteride en la calidad seminal en perros con hiperplasia prostática benigna: Resultados preliminares

*Efeito do tratamento com finasterida na qualidade do sêmen em cães com hiperplasia prostática benigna:
Resultados preliminares*

Effect of finasteride treatment on sperm quality in dogs with benign prostatic hyperplasia: Preliminary results

Maria Florencia Gallelli¹; Cecilia Allera²; Evangelina Moncalvo²; Marcelo Miragaya²; Norma Monachesi²

¹Universidad de Buenos Aires, FVET, INITRA, Cátedra de Teriogenología- CONICET (Buenos Aires).²Universidad de Buenos Aires, FVET, INITRA, Cátedra de Teriogenología (Buenos Aires)

Abstract

La hiperplasia prostática benigna (HPB) es una enfermedad que afecta a perros no castrados, con una prevalencia del 95% en animales mayores de 9 años. Estos pacientes pueden presentar alteraciones en la calidad seminal, entre otras manifestaciones clínicas. El tratamiento de esta patología consiste en la orquidectomía, pero en caso de perros de valor reproductivo, puede optarse por un tratamiento farmacológico como el finasteride. A pesar de ser de utilidad para el control de la enfermedad, son escasos los reportes referidos a su efecto sobre la calidad espermática. Considerando que se trata de un tratamiento crónico y dado la importancia de conservar la fertilidad en estos pacientes, en el presente estudio se propuso evaluar parámetros de rutina, realizar evaluaciones nucleares y de lipoperoxidación de membrana en espermatozoides de perros con HPB bajo tratamiento con finasteride a distintas dosis. Se incluyeron en el estudio 4 perros Beagle machos de 7±0.25 años, con diagnóstico de HPB (en base a la evaluación clínica, tacto rectal y ecografía abdominal). Se obtuvieron eyaculados mediante masaje manual antes de iniciar el tratamiento (t0), a los 2 meses (t2) y a los 4 meses (t4) post-tratamiento; siendo la dosis de finasteride utilizada de 0.1 mg/Kg. En base a los resultados obtenidos y luego de un descanso de tratamiento de 2 meses, el mismo se retomó a la dosis máxima sugerida de 5 mg totales por perro. Nuevamente, se obtuvieron eyaculados antes de iniciar el tratamiento (t0b), a los 2 meses (t2b) y a los 4 meses (t4b) post-tratamiento. En todas las instancias, se evaluaron los siguientes parámetros seminales de rutina: volumen, PH, color, motilidad progresiva (CASA, Androvision™, Minitub Alemania), concentración y morfología. Además, se evaluó la condensación de la cromatina (Azul de Toluidina, AT), fragmentación de la cromatina (Técnica de dispersión de la cromatina espermática-SCD) y peroxidación lipídica de membrana (mediante la sonda C11-BODIPY). Todas las variables fueron analizadas mediante ANOVA, excepto el porcentaje de espermatozoides negativos a la prueba de AT (cromatina compactada), que fue analizado mediante el test de Kruskal Wallis (Infostat, Argentina). El nivel de significación se fijó en $P < 0.05$. Antes del inicio del tratamiento (t0), el volumen, PH, color, motilidad progresiva y morfología fueron normales de acuerdo a lo descripto para la especie en todos los perros. Si bien no se cuenta con valores de referencia para una población sin patologías reproductivas, el porcentaje de espermatozoides con lipoperoxidación de membrana y fragmentación y condensación de la cromatina no presentaron diferencias respecto a muestras obtenidas de perros sanos (datos no presentados). Ninguna de las variables estudiadas presentó diferencias a lo largo del tiempo (t2 y t4), por lo que posteriormente, se implementó una dosis de finasteride mayor. Tampoco se observaron diferencias significativas en las variables estudiadas en t2b y t4b respecto a t0b. En base a los resultados obtenidos, se puede concluir que el tratamiento con finasteride tanto a dosis baja (0.1 mg/Kg) como alta (5 mg totales) no afecta la calidad espermática, al menos durante los primeros 4 meses de tratamiento; siendo una estrategia terapéutica adecuada en pacientes con valor reproductivo.

Expresión de CD13 y CD26 en plasma seminal canino de vesículas extracelulares

Expressão de CD13 e CD26 em vesículas extracelulares no plasma seminal canino

Expression of CD13 and CD26 on extracellular vesicles in canine seminal plasma

Marcelo Martínez-Barbitta¹, Angela Polisca², Alessandro Troisi³, Bellezza Ilaria⁴, Fallarino Francesca⁴, Marilena Bazzano³, Sara Pastore², John Versteegen⁵, Camillo Pieramati², Alessandro di Michele³, Nicola Talesa Vincenzo², Riccardo Orlandi⁶

¹Integral Veterinary Reproductive Service (SRVI_UY) - Department of Veterinary Medicine, University of Perugia (Italy) - Department of Veterinary Medicine, University of Republic (Uruguay).²Department of Medicine Veterinary - University of Perugia (Italy).³School of Biosciences and Veterinary Medicine, University of Camerino (Italy).⁴Department of Medicine and Surgery - University of Perugia (Italy).⁵TherioExpert LLC. and College of Veterinary Medicine, University of Nottingham, Nottingham. ⁶Tyrus Veterinary Clinic, Via Aldo Bartocci, Terni, Italy

Abstract

The seminal plasma can be considered not only as a passive carrier for spermatozoa but also a rich source of bioactive and immunomodulatory factors involved in some reproduction processes. Extracellular vesicles (EVs) are secreted into the extracellular space or fluids by all mammalian cell and they are also abundant in mammalian semen. The Executive Committee of the International Society of Extracellular Vesicles defined EVs as particles ranging from 30 to 2000 nm in diameter and include exosomes, endosomes and apoptotic bodies. Canine seminal plasma is a complex fluid containing proteins, peptides, enzymes, hormones as well as extracellular vesicles that are involved in many physiological and pathological processes including reproduction. We examined the expression of the EVs surface antigens Aminopeptidase-N (CD13) and Dipeptidyl peptidase IV (CD26) by flow cytometry. For this study, third fraction of the ejaculate, from nine fertile adult male German Shepherd dogs, was manually collected twice, two days apart. Flow cytometric analysis revealed that CD13 and CD26 are co-expressed on the $69.3 \pm 3.7\%$ of extracellular vesicles and only a $2.0 \pm 0.5\%$ of extracellular vesicles express CD26 alone. On the other hand, $28.6 \pm 3.6\%$ of EVs express CD13 alone. Our results agree with the hypothesis that CD26 needs to be co-expressed with other signal-transducing molecules, while CD13, can perform functions independently of the presence or co-expression of CD26. Our results also showed that CD13 and CD26 expression decreased with age. The results obtained in normal fertile dogs could represent physiological expression of these enzymes. Therefore, it would be interesting to carry out further studies to evaluate the expression of CD13 and CD26 on extracellular vesicles as biomarker for prostate pathological condition in dogs.

Comparación de técnicas de orquiectomía en planes de manejo de la población canina

Comparação de técnicas de orquiectomia em planos de manejo populacional de cães

Comparison of orchietomy techniques in dog population management plans

Marcelo Martínez-Barbitta¹, Laura Celentano Comba²

¹Integral Veterinary Reproductive Service (SRVI_UY) - Department of Veterinary Medicine, University of Perugia (Italy)
Department of Veterinary Medicine, University of Republic (Uruguay).²Integral Veterinary Reproductive Service
(SRVI_UY)

Abstract

Castration is one of the most common surgical procedures performed on dogs in clinical veterinary medicine. This elective surgery is performed for the following purposes: prevention of hormone-related diseases, behavior modification, and population control. While castration surgery is performed for therapeutic purposes, it is more frequently used for prophylactic purposes at an early age. A sutureless scrotal castration approach (SLSC) has been proposed in prepuberal dogs, and for castrating adult dogs of any age. This approach may offer advantages that include improved cosmesis, decreases in anesthetic and surgical times, smaller incision length and less surgical trauma, decreased postoperative discomfort, less self-trauma and decreased likelihood of formation of scrotal hematoma. Severe complications of orchietomy are rare, but may include scrotal swelling and bruising, hemorrhage, scrotal hematoma, abscess, granuloma, incisional problems (swelling, seroma formation, cellulitis, infection, automutilation, dehiscence), urinary incontinence, endocrine alopecia, behavioral changes and eunuchoid syndrome. The scrotal technique, although not well-documented, is considered by many veterinarians working at high-quality high-volume spay-and-neuter clinics to be quicker and less invasive than the traditional prescrotal approach (TPSC). This work was designed to compare the effectiveness and postoperative adverse effects in SLSC and TPSC performed in canines older than 1 year of age. 80 healthy adult male dogs (18.43 ± 0.58 kg, mean \pm SEM) were used in this study, which were monitored for ≥ 24 hours after surgery to identify surgery-related complications. Dogs with signs of disease or cryptorchidism were excluded. Both techniques were performed a parietal tunic intact. In relation to the time of surgery, the SLSC approach was 30.8% faster than TPSC ($p \leq 0.01$). The presence of postoperative adverse effects (automutilation, dehiscence and hemorrhage) was 10% in SLSC, and 15% in TPSC ($p \leq 0.08$). Results suggested that SLSC was safe and significantly faster than TPSC when performed in healthy dogs. The SLSC technique has the potential to improve morbidity and mortality rates as well as financial costs associated with castration, particularly in high-quality, high-volume spay and neuter programs. Procedures that reduce anesthetic time and expedite the surgical procedure by even a few minutes can be of great benefit for massive canine sterilization programs.