

## Espermiogênese alterada em um touro doador de sêmen: relato de caso

*Altered spermiogenesis in a semen donor bull: case report*

Diego Corrêa Silveira<sup>1</sup>, Marcelo Brandi Vieira<sup>1</sup>, Fábio Goularte Barreto<sup>1</sup>; Neimar Corrêa Severo<sup>2,3\*</sup>, Renata Lançoni<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Progen Inseminação Artificial Ltda.; <sup>2</sup>NCSevero Consultoria Técnica; <sup>3</sup>Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (FAMEV - UFU), Uberlândia, MG

### Resumo

A espermiogênese é o processo final da espermatogênese no qual a espermatíde se transforma em espermatozoide. Durante esse processo podem ocorrer alterações espermáticas, especialmente no acrossoma, na morfologia da cabeça, na condensação da cromatina e na formação dos vacúolos nucleares. A diferenciação entre os quadros clínicos é feita com repetições dos exames andrológicos. A avaliação morfológica indica a situação da espermiogênese nas 4 semanas anteriores a coleta do sêmen. Com os resultados do exame andrológico é possível identificar a qualidade seminal naquele período. O presente artigo é o relato de caso de um touro jovem doador de sêmen com 26 meses de idade, no início do regime de coletas de sêmen em um Centro de Coleta e Processamento de Sêmen no Sul do Brasil. A produção espermática deste animal foi avaliada durante 12 meses de coleta, apresentando sempre morfologia espermática muito alterada e motilidade média de 54% no exame imediato. Em 13 coletas seminais, o ejaculado deste animal apresentou em média 86% de defeitos maiores, 10% de defeitos menores e 96% de defeitos totais. Os defeitos maiores, que são os que possuem maior efeito na fertilidade, estão diretamente ligados a espermiogênese e os defeitos menores, que possuem menor efeito na fertilidade, são ocasionados principalmente durante o trânsito pelo epidídimo. O quadro clínico desse animal demonstrou a importância do exame morfológico para avaliar a espermatogênese e principalmente o processo de diferenciação final da espermatíde em espermatozoide. Casos como este devem ser descritos como espermiogênese alterada e o reprodutor deve ser afastado da reprodução, após descartar alterações morfológicas devido a degeneração testicular grave.

**Palavras-chave:** bovino, morfologia espermática, qualidade seminal

### Abstract

Spermiogenesis is the final process of spermatogenesis in which the spermatid transforms into sperm. During this process, sperm alterations may occur, especially in the acrosome, head morphology, chromatin condensation and formation of nuclear vacuoles. Differentiation between clinical conditions is made with repetitions of andrological exams. The morphological evaluation indicates the status of spermiogenesis in the 4 weeks prior to semen collection. With the results of the breeding soundness examination, it is possible to identify the seminal quality in that period. The present article is a case report of a young 26-month-old semen donor bull, that started semen collection routines at a Semen Collection and Processing Center in southern Brazil. The sperm production of this animal was evaluated during 12 months of collection, always showing very altered sperm morphology and average motility of 54% in the immediate examination. In 13 seminal collections, the ejaculate of this animal presented an average of 86% of major defects, 10% of minor defects and 96% of total defects. Major defects, which have the greatest impact on fertility, are directly linked to spermiogenesis and minor defects, which have less effect on fertility, are mainly caused during transit through the epididymis. The clinical conditions of this animal demonstrated the importance of the morphological examination to evaluate spermatogenesis and especially the process of final differentiation of the spermatid into spermatozoa. Cases like this should be described as altered spermiogenesis and the bull should be withdrawn from breeding, after ruling out morphological changes due to severe testicular degeneration.

**Keywords:** bovine, seminal quality, sperm morphology

\*Correspondência: ncsevero@gmail.com

Recebido: 11 de julho de 2022

Aceito: 15 de abril de 2023



## Introdução

A importância da avaliação andrológica completa de touros destinados tanto para monta natural quanto para doação de sêmen em centros de coleta e processamento de sêmen (CCPS) é evidenciada quando os veterinários andrologistas encontram alterações clínicas graves tais como: degeneração testicular, disfunção do epidídimo, maturidade sexual tardia, imaturidade sexual ou espermiogênese alterada. A espermiogênese é o processo final da espermatogênese no qual a espermátide se transforma em espermatozoide (Staub & Johnson, 2018). No final desse processo podem ocorrer as alterações espermáticas, especialmente no acrossoma, na morfologia da cabeça, na condensação da cromatina nuclear e na formação dos vacúolos nucleares (Barth, 2013). A diferenciação entre os quadros clínicos é feita com exames andrológicos repetidos e com o estudo do histórico reprodutivo do animal.

O exame andrológico completo abrange tanto a avaliação imediata do sêmen: volume, cor, turbilhão, motilidade/vigor, vitalidade espermática e pH, como a avaliação mediata: morfologia e concentração espermática (CBRA, 2013). A avaliação morfológica indica a situação da espermiogênese nas 4 semanas anteriores à coleta do sêmen (Barth, 2013). A espermiogênese completa dura em torno de 17 dias no touro e o trânsito dos espermatozoides pelo epidídimo dura em torno de 11 dias, independente da frequência de coletas (Staub & Johnson, 2018). Com os resultados do exame andrológico completo é possível identificar a qualidade do sêmen e suas alterações.

Embora a maioria das alterações morfológicas no sêmen sejam de origem ambiental, alterações graves durante a espermiogênese podem estar relacionadas a um gene autossômico recessivo (Vierula *et al.*, 1987). As anormalidades de acrossoma podem ser induzidas pela maturação incompleta de uma determinada população de espermatozoides. Entretanto, há casos em que ocorrem como o principal ou mesmo único defeito significativo no ejaculado e com uma frequência constante, tendo sido diagnosticado no touro como espermiogênese imperfeita (Silva *et al.*, 1977). Esse quadro clínico caracteriza subfertilidade em touros. Alguns autores descrevem a espermiogênese imperfeita como uma hipoespermatogênese de natureza congênita podendo, em alguns casos, estar acompanhada de redução do volume testicular (Pimentel, 2001). Segundo alguns pesquisadores, trata-se de um quadro clínico hereditário que causa infertilidade severa podendo atingir a esterilidade (Vierula *et al.*, 1987; Chenoweth, 2005). Não há tratamento e os portadores devem ser eliminados da reprodução para não disseminar o problema aos seus descendentes (Pimentel, 2001).

Este artigo descreve o caso de um touro jovem doador de sêmen em um CCPS, com graves alterações na morfologia espermática ao longo de 12 meses de acompanhamento. Discute-se as prováveis causas das alterações morfológicas dos espermatozoides e a classificação do quadro clínico baseado na revisão da literatura.

## Metodologia e Resultados

O presente relato de caso é de um touro jovem, cruza Angus x Brangus, doador de sêmen com 26 meses de idade no início das coletas no regime de produção em um CCPS no Sul do Brasil. O animal recebia uma dieta balanceada com volumoso e ração concentrada, com água e sal mineral *ad libitum*. Era manejado em piquete individual com 600m<sup>2</sup>. No exame clínico dos genitais externos apresentou testículos e epidídimos normais e perímetro escrotal com 40 cm. As colheitas foram realizadas com vagina artificial. A produção espermática deste animal foi avaliada durante 12 meses e não ocorreu melhora no quadro, apresentando sempre morfologia espermática muito alterada. Foram realizadas as seguintes avaliações nos ejaculados: volume pela observação do ejaculado no tubo de colheita graduado, concentração espermática pelo espectrofotômetro calibrado para sêmen bovino, motilidade e vigor avaliados de maneira subjetiva sob microscopia de luz e morfologia espermática com a técnica de câmara úmida em microscopia de contraste de fase, contando-se 200 células e classificando-as em defeitos maiores e menores segundo Blom (1973). As características físicas de 39 ejaculados avaliados são mostradas na figura 1 e apresentaram a média de volume = 8,8 ml ( $\pm 2,60$ ), motilidade inicial = 54% ( $\pm 12,09$ ) e concentração de espermatozoides = 997 milhões/ml ( $\pm 0,41$ ), com concentração total no ejaculado = 8,68 bilhões de espermatozoides ( $\pm 4,23$ ). As características de volume e concentração total estavam dentro dos padrões para taurinos e suas cruzas. A motilidade encontrava-se abaixo do percentual mínimo de 60% recomendado para congelamento (CBRA, 2013).

### Características Físicas dos Ejaculados

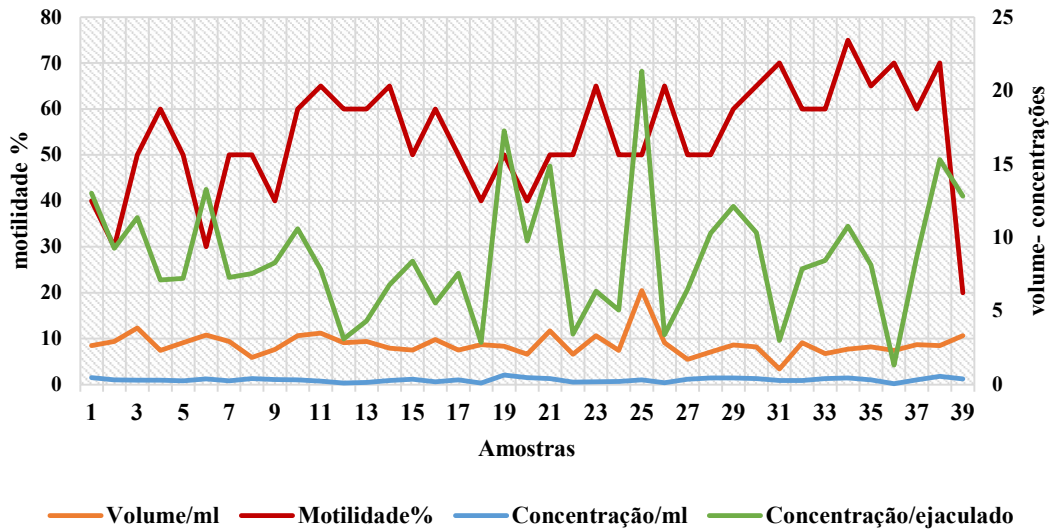


Figura 1. Características físicas dos ejaculados do touro com espermiogênese alterada ao longo de 12 meses de colheitas de sêmen.

A figura 2 apresenta os principais defeitos maiores encontrados em 13 amostras de sêmen do touro com espermiogênese alterada. Os defeitos de acrossoma e cabeças anormais se destacaram ao longo do tempo. Os vacúolos se mantiveram altos, porém em menor percentual do que os defeitos anteriores.

### PRINCIPAIS DEFEITOS MAIORES

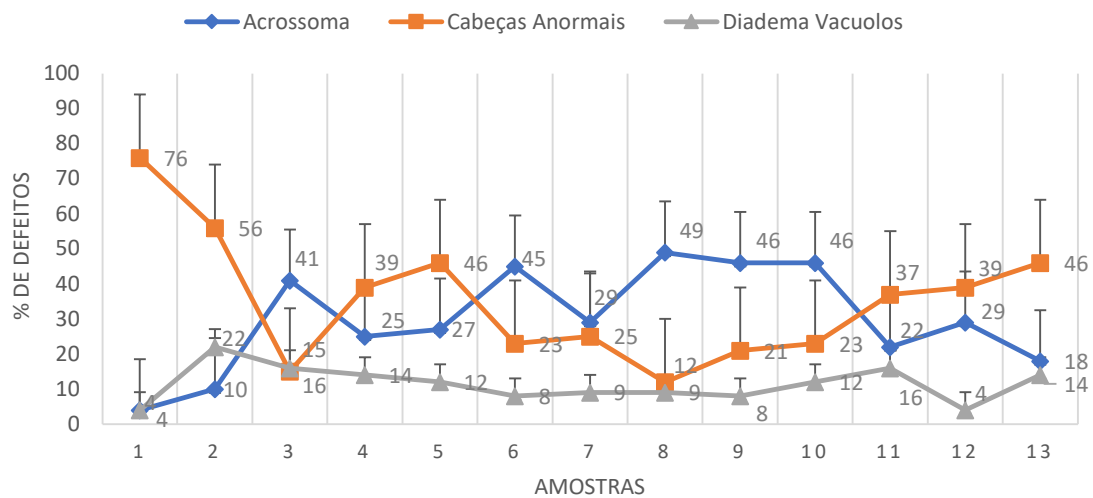


Figura 2. Principais defeitos maiores (%) presentes nas amostras de sêmen do touro com espermiogênese alterada. Legenda: Defeitos de Acrossoma – acrossoma rompido, enrugado ou dobrado, destacado e “*Knobbed acrossome*” ou grânulo persistente do acrossomo; cabeças anormais – piriformes, estreitas na base, subdesenvolvidas, cauda enrolada na cabeça, cabeça isolada patológica, contorno anormal da cabeça.

A figura 3 mostra os percentuais de defeitos maiores, menores e totais encontrados nas 13 amostras de sêmen do touro. Tais defeitos foram classificados segundo Blom (1973) que considerou como “Defeitos maiores” qualquer tipo de anormalidade correlacionada com prejuízos na fertilidade ou com uma condição

patológica do testículo ou epidídimo, dentre elas: subdesenvolvimento, formas duplas, Knobbed sperm, decapitado, diadema, piriforme, estreito na base, contorno anormal, cabeça pequena anormal, cabeça destacada anormal, peça intermediária em saca-rolhas, outros defeitos de peça intermediária, gota proximal, cauda fortemente dobrada ou enrolada. Analogamente, classificou como “Defeitos menores” outros desvios de forma, aparentemente de menor importância, como cabeça delgada, cabeça pequena normal, cabeça gigante, curta e achatada, cabeça normal destacada, acrossomo destacado, inserção abaxial, gota distal, cauda dobrada ou enrolada, e cauda enrolada na extremidade (Arruda *et al.*, 2015). Estes percentuais de defeitos são muito altos e demonstram que o touro estava com a espermiogênese comprometida em grau elevado. Poucos espermatozoides apresentavam morfologia normal. O reprodutor apresentou em média 86% de defeitos maiores e 96% de defeitos totais, muito acima dos limites aceitáveis sugeridos pelo Manual do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013) de 20% de defeitos maiores e 30% de defeitos totais.

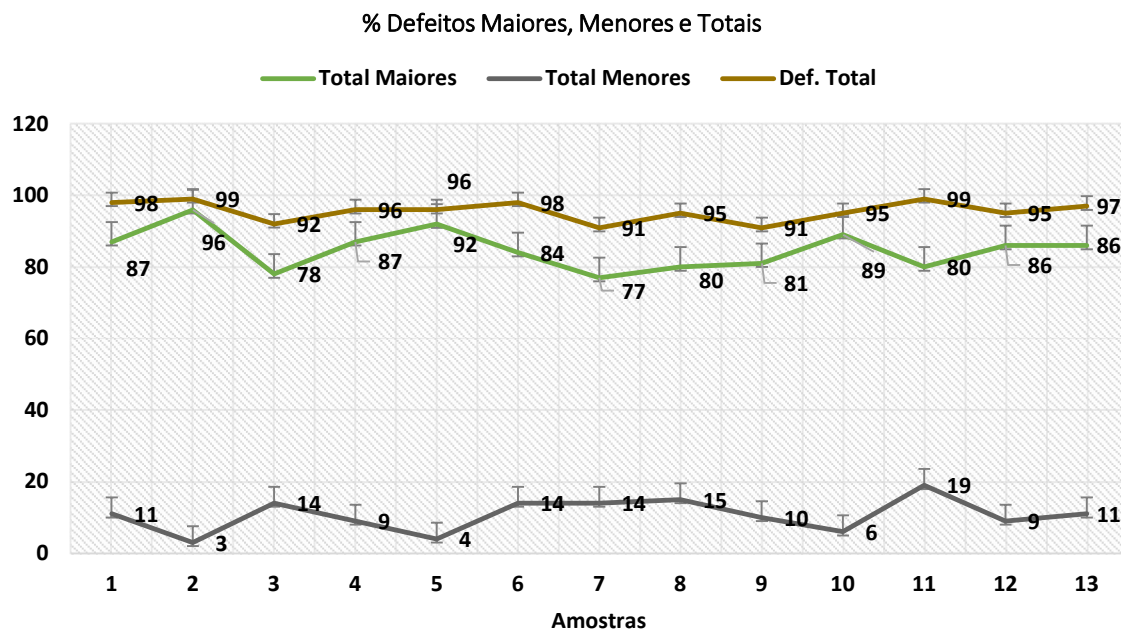


Figura 3. Percentuais de defeitos maiores, defeitos menores e defeitos totais encontrados em 13 amostras de sêmen do touro com espermiogênese alterada. Legenda: defeitos maiores - subdesenvolvimento, formas duplas, Knobbed sperm, decapitado, diadema, piriforme, estreito na base, contorno anormal, cabeça pequena anormal, cabeça destacada anormal, peça intermediária em saca-rolhas, outros defeitos de peça intermediária, gota proximal, cauda fortemente dobrada ou enrolada; defeitos menores - cabeça delgada, cabeça pequena normal, cabeça gigante, curta e achatada, cabeça normal destacada, acrossomo destacado, inserção abaxial, gota distal, cauda dobrada ou enrolada, e cauda enrolada na extremidade (Blom, 1973).

A figura 4 mostra alguns dos tipos de defeitos encontrados nos 13 ejaculados do touro com espermiogênese alterada, sendo difícil encontrar uma célula com características morfológicas normais.

### Discussão e Considerações Finais

Silva *et al.* (1977) descreveram o caso de um touro que apresentava agenésia da peça intermediária induzida pela maturação incompleta de uma determinada população de espermatozoides, ocorrendo como o principal ou mesmo único defeito significativo no ejaculado e com uma frequência constante, tendo sido diagnosticado como espermiogênese imperfeita. Vierula *et al.* (1987) descreveram três casos de touros com transtornos da espermiogênese ligados a um gene autossômico recessivo após o estudo do pedigree dos animais. Moura e Erikson (2001) descreveram a parada espermatogênica em touros e não descobriram deficiência hormonal no estudo do desenvolvimento testicular, histológico e perfis hormonais em três

touros Angus jovens. Isso aponta para outros fatores relacionados com as alterações espermáticas. Esses quadros caracterizam a subfertilidade em touros.

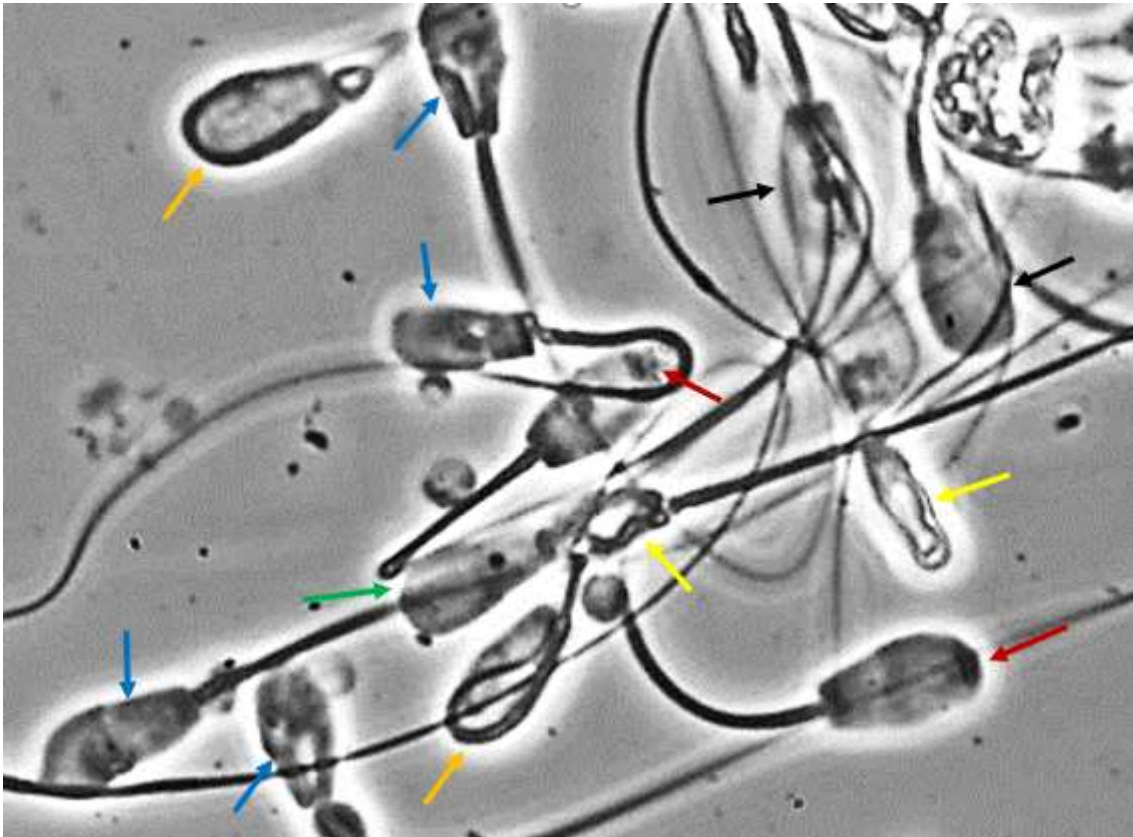


Figura 4. Espermatozoides com defeitos morfológicos avaliados pela técnica de câmara úmida em microscopia de contraste de fase com aumento de 1000x. Classificação de acordo com Blom (1973) - Seta verde: cabeça piriforme; Seta azul: cabeças com contorno anormal; Seta vermelha: grânulo no acrossoma; Seta amarela: subdesenvolvido; Seta laranja: caudas fortemente dobrada; Seta preta: células normais.

Pimentel (2001) descreveu a espermiogênese imperfeita como uma hipo-espermatogênese de natureza congênita, acompanhada as vezes de testículos de tamanho reduzido. Segundo aquele pesquisador, trata-se de um quadro clínico hereditário, que causa infertilidade severa podendo atingir a esterilidade e segundo as avaliações realizadas no touro deste relato de caso, entende-se que a alteração que ele possui é similar. Não há tratamento e os portadores devem ser eliminados da reprodução para não disseminar o problema aos seus descendentes. Os defeitos maiores estão diretamente ligados a espermiogênese e os defeitos menores são ocasionados principalmente durante o trânsito pelo epidídimo (Barth & Oko, 1989), demonstrando neste relato, que o touro possuía grande quantidade de alterações relacionadas à espermiogênese.

Chenoweth (2005) descreveu vários casos de alterações morfológicas no espermatozoide bovino ligados a transmissão genética. Dentre eles estão as alterações de acrossoma (grânulo, enrugado e incompleto); defeitos de cabeça (condensação anormal, decapitado, cabeça redonda, cabeça enrolada, crista nuclear); defeitos de peça intermediária (defeito semelhante ao Dag, defeito em saca-rolha, pseudo-gota); defeitos de cauda (coto de cauda – “tail stump”, discinesia ciliar primária). Chenoweth (2005) também recomendou que touros que possuem estes defeitos em seus ejaculados em percentagem elevada devem ser descartados da reprodução para não transmitir esses genes para as próximas gerações.

Revay *et al.* (2009) citaram que a macrocefalia nos espermatozoides de touro está associada a vacúolos nucleares, diploidia e alteração da condensação de cromatina, indicando parada na primeira divisão meiótica. Nessa fase onde ocorre a primeira divisão meiótica, muitas células aparecem com a formação cromossômica XY e seu desenvolvimento celular segue até o final da espermiogênese com essa alteração. Esse é o primeiro artigo que ressalta a importância da diploidia na formação de alterações dos



espermatozoides durante a espermatogênese.

Severo & Zandonaide (2022) descrevem o caso de um touro doador de sêmen em um CCPS onde a motilidade espermática foi marcadamente afetada pelo processo de congelamento, demonstrando a fragilidade das estruturas da peça intermediária devido ao aumento de lesões ao longo da bainha mitocondrial. No exame morfológico realizado após a congelamento os espermatozoides apresentavam elevado percentual de alterações na peça intermediária, principalmente pequenas fendas ao longo da bainha mitocondrial e fraturas na peça intermediária. A hipótese para o aumento das alterações na bainha mitocondrial é a fragilidade da estrutura da peça intermediária. No teste de exaustão não ocorreram alterações na motilidade e na morfologia espermática, sugerindo uma provável origem testicular para esses defeitos.

O touro ficou alojado durante todas as análises em CCPS no sul do Brasil, com clima temperado, descartando diagnóstico diferencial de degeneração testicular por calor. Além disso, apresentou esse quadro desde as primeiras colheitas de sêmen, mantendo baixa qualidade das primeiras às últimas colheitas, sugerindo ainda mais uma alteração genética.

O quadro clínico do reprodutor deste relato demonstra a importância do exame morfológico para avaliar a espermatogênese e principalmente o processo de diferenciação final da espermátide em espermatozoide. Também mostra o elevado percentual de defeitos maiores de acrossoma, cabeças anormais e vacúolos nucleares que podem ser de origem genética de acordo com a literatura. Casos como este devem ser descritos como espermiogênese alterada e o reprodutor deve ser afastado da reprodução, após descartar alterações morfológicas devido a degeneração testicular grave.

### Referências Consultadas

- Arruda, R. P.** et al. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.39, p.47-60, 2015.
- Barth AD, Oko RJ.** *Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa*. Ames, IA: Iowa State University Press, 1989.
- Barth AD.** *Bull Breeding Soundness*. 3<sup>rd</sup> ed., Saskatoon: Western Canadian Association of Bovine Practitioners; 2013.
- Blom E.** The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. *Nord Vet Med*, v.25, p.383-339, 1973.
- Chenoweth PJ.** Genetic Sperm Defects. *Theriogenology*, v.64, p.457-468, 2005.
- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal.** Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3<sup>a</sup> edição. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
- Moura AA, Erickson BH.** Testicular development, histology, and hormone profiles in three yearling Angus Bulls with spermatogenic arrest. *Theriogenology*, v.55, p.1469-1488, 2001.
- Pimentel CA.** Infertilidade no Touro, pp. 382-399. In: Riet-Correa, F; Schild, A.L.; Méndez, M.C.; Lemos, R.A.A. *Doenças de Ruminantes e Equinos*, v.2, 2001.
- Revay T, Nagy S, Kopp C, Flyckt A, Rens W, Rath D, et al.** Macrocephaly in bull spermatozoa is associated with nuclear vacuoles, diploidy and alteration of chromatin condensation. *Cytogenet Genome Res*, v.126, p.202-9, 2009.
- Silva JF, Moraes JCF, Schuch LH.** Agenesia de peça intermediária do espermatozoide: Um defeito de espermiogênese. *Pesq. Agropec. Bras.* 12(1), p.247-250, 1977.
- Severo NC, Zandonaide JPB.** Defeitos na peça intermediária e baixa congelabilidade do espermatozoide bovino: Relato de caso. *PubVet*, 16(07), a1169, p.1-5, Jul., 2022.
- Staub C, Johnson L.** Review: Spermatogenesis in the bull. *Animal*, p.1-9, 2018.
- Vierula M, Alanko M, Andersson M, Vanha-Perttula T. Tail stump sperm defect in Ayrshire bulls: Morphogenesis of the defect. *Andrologia*, v.19, p.207-216, 1987.
-