

ALTERAÇÕES PRODUZIDAS A NÍVEL DE TESTÍCULO E SÊMEN DE CÃES SUBMETIDOS À ADMINISTRAÇÃO DE SULFATO DE VINCRISTINA*

RESULTING ALTERATIONS AT THE LEVEL OF TESTES AND SEMEN IN DOGS SUBMITTED TO VINCRISTINE SULPHATE ADMINISTRATION

Carlos Roberto DALECK¹; Paulo Henrique FRANCESCHINI²; João Guilherme PADILHA FILHO³; Antonio Carlos ALESSI⁴; Joaquim Mansano GARCIA¹; Maria Izabel Mello MARTINS³; João Moreira da COSTA NETO⁴

RESUMO

Foram estudados 14 animais da espécie canina, sem raça definida, machos, adultos, com o objetivo de analisar, laboratorialmente, o sêmen e os aspectos histológicos dos testículos antes e após a administração do sulfato de vincristina. Para tanto, os animais foram divididos em 2 grupos. No grupo I (8 animais), submeteu-se os animais à orquiectomia unilateral e um fragmento do testículo e epidídimo foram analisados histologicamente. Ao término das aplicações, os animais sofreram a orquiectomia do testículo remanescente e foram avaliados histologicamente. No grupo II (6 animais), inicialmente, condicionou-se os animais para colheita de sêmen. Após obtenção do material fecundante, este foi analisado laboratorialmente. No grupo I, todos os animais apresentaram degeneração testicular em grau leve ou moderada. No grupo II, observaram-se alterações espermáticas, principalmente ao nível de peça intermediária e cauda. Entretanto, considerando que em termos de média, as características físicas e morfológicas do sêmen de cães sofreram alterações que são reversíveis à utilização do sulfato de vincristina, como recurso terapêutico, pode ser instituído nesta espécie animal.

UNITERMOS: Cães; Sulfato de Vincristina; Sêmen; Antineoplásicos

INTRODUÇÃO

O aumento contínuo das enfermidades tumorais parece ser uma característica deste século, não só na espécie humana, como também nos animais domésticos. PAREJO¹¹ (1970) assinalou que a ocorrência de tumores nas diferentes espécies animais alcança 71% na espécie canina, 9,3% na bovina, 7% na equina e 5,3% na felina.

O tumor venéreo transmissível (T.V.T.) canino tem uma incidência de 19,4% em relação aos outros tumores ocorrentes na espécie, sendo raro em cães velhos (PAREJO¹¹, 1970) e em jovens, antes dos seis meses de idade (PAREJO¹¹, 1970; AMBER; HENDERSEN¹, 1982). No Brasil, MACHADO et al.¹⁰ (1963) encontraram uma frequência de aproximadamente 6,3% em achados de necropsia. A sua maior ocorrência se dá em animais errantes, em plena atividade sexual, os quais atuam como reservatório da doença (ZARROUCK¹⁸, 1980; BROWN et al.⁴, 1981).

Dentre todas as modalidades de tratamento a quimioterapia é a de eleição para o T.V.T. da espécie canina (BROWN et al.³, 1980; AMBER; HENDERSON¹, 1982; CARLVERT et al.⁵, 1982; THRALL¹⁷, 1982; THACHER; BRADLEY¹⁵, 1982).

ROUSE¹⁴ (1973); JAUREGUI⁸ (1974); McAFEE; McAFEE⁹ (1977); PERES et al.¹² (1978) citaram que os efeitos tóxicos produzidos pelos quimioterápicos tornam o tratamento perigoso e complexo, havendo necessidade de se administrar doses cuidadosamente calculadas. Os quimioterápicos de acordo com seu mecanismo de ação, podem ser divididos em: alquilantes, antimetabólicos, plantas alcalóides, antibióticos, hormônios e outros agentes sintéticos (ROUSE¹⁴, 1973; JAURIGUI⁸, 1974; HESS et al.⁷, 1976).

A vincristina é um alcalóide extraído da planta "vinca rósea LINN" e determina um efeito antitumoral por precipitação das proteínas citoplasmáticas microtubulares, inibindo assim a formação do fuso mitótico e interrompendo a divisão celular em metáfase (HESS et al.⁷, 1976; THEILEN; MADWELL¹⁶, 1979; ROSENTHAL¹³, 1981). O número de aplicações da droga, administrada uma vez por semana, para se obter resposta completa, varia de 2 a 7, segundo DALECK et al.⁶ (1988). Com relação à dosagem de vincristina, DALECK et al.⁶ (1987) utilizaram a citada por HESS et al.⁷ (1976) ou seja, 0,025 mg/kg de peso corporal.

1 - Professor Assistente Doutor - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal - SP

2 - Professor Adjunto - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal - SP

3 - Médico Veterinário Residente - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP, Jaboticabal - SP

4 - Professor Auxiliar de Ensino - Universidade Federal de Patos - PB

*Financiado por: FUNDUNESP e CNPq

Segundo ROSENTHAL¹³ (1981) a supressão da espermatogênese é um dos efeitos colaterais que a vincristina pode causar nos animais.

Dentro deste contexto os objetivos previamente delineados para o presente trabalho foram de analisar, laboratorialmente, o sêmen e os aspectos histológicos dos testículos de cães submetidos à administração de vincristina.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 14 animais da espécie canina, sem raça definida, machos, com idade entre 1 e 3 anos, com peso médio de 10 kg, fornecidos pelo Biotério do Hospital Veterinário Governador Laudo Natel da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - UNESP.

GRUPO I (8 animais): Os animais foram submetidos à orquiectomia unilateral e um fragmento do testículo e epidídimo (cabeça, corpo e cauda) foram coletados e fixados em formalina. Após 24 horas, o material foi processado, segundo as técnicas histológicas de rotina, para obtenção de secções de 7µm de espessura, que foram coradas pela hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio óptico comum.

Após 10 dias do ato cirúrgico, os animais foram avaliados clinicamente e considerados aptos a iniciar o tratamento com sulfato de vincristina**, na dose de 0,025 mg/kg de peso corporal, via intravenosa, semanalmente, perfazendo um máximo de 7 aplicações.

Ao término das aplicações, os animais foram submetidos à orquiectomia do testículo remanescente. A seqüência para análise histológica foi a mesma estabelecida antes do início do tratamento.

GRUPO II (6 animais): Os animais deste grupo foram treinados para colheita de sêmen, seguindo a técnica preconizada por MacPHERSON; PENNER (1967) que pode ser assim descrita: o macho, doador de sêmen, foi colocado frente a uma fêmea, em cio, e estimulado através de masturbação manual até apresentar ereção completa. A seguir, o operador fixava o bulbo peniano estimulando-o através de contrações rítmicas manuais de que a ejaculação se efetuasse. Obtido o sêmen, este foi avaliado laboratorialmente quanto aos seguintes aspectos:

a) **Volume (ml)**: foi efetuada leitura direta no corpo coletor da quantidade de sêmen colhido.

b) **Motilidade (%)**: uma pequena gota foi colocada entre

lâmina e lamínula e a motilidade analisada por leitura direta. Este parâmetro foi determinado sempre pela mesma pessoa.

c) **Vigor**: a intensidade do movimento progressivo dos espermatozoides vivos foi observada da mesma forma que a motilidade, porém classificada em escala de 0 - 5 (0: todos parados e 5: movimento progressivo máximo).

d) **Concentração espermática**: após diluição prévia, o sêmen foi colocado em câmara de Neubauer para contagem dos espermatozoides. Posteriormente procedeu-se ao cálculo da concentração espermática total do ejaculado.

e) **Patologia espermática**: uma alíquota do sêmen colhido foi fixada em uma pequena quantidade de formol salina tamponada e com auxílio de um microscópio de contraste de fase, determinavam-se as patologias presentes nos espermatozoides.

A administração do sulfato de vincristina nos animais deste grupo, foi iniciada após treinamento e obtenção do primeiro ejaculado. Em seqüência, os animais foram submetidos à colheita de sêmen e administração do citostático semanalmente durante 7 semanas.

Os animais destes grupos continuaram a ser submetidos à colheita de sêmen por um período de 120 dias com intervalos de 15 dias, correspondendo às colheitas de números 9 a 14.

RESULTADOS

GRUPO I: dos oito animais analisados histologicamente, verificou-se que todos apresentavam degeneração testicular em grau severo (Fig. 1).

Essa degeneração era representada por vacuolização e descamação de células do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, diminuição da luz tubular e, em um dos casos, presença de células gigantes (Fig. 2). No epidídimo e no cordão espermático não foram observadas lesões.

Após o tratamento, a histologia do testículo contralateral mostrou que aquela degeneração testicular estava presente em nível semelhante ao encontrado anteriormente. Somente em dois animais houve exacerbação do processo.

GRUPO II: as médias obtidas, das avaliações do sêmen colhido dos animais pertencentes a este grupo, estão expressas nas Tab. 1 e 2.

Na Tab. 1 estão relacionadas as médias relativas às características físicas do ejaculado, em 14 colheitas realizadas. As características analisadas (volume,

** Oncovin - Ely Lilly do Brasil Ltda.

TABELA 1

Características físicas do ejaculado proveniente de 06 cães submetidos a tratamento com sulfato de vincristina. Médias obtidas de 14 colheitas realizadas na UNESP, Jaboticabal - SP, 1993.

Características físicas do ejaculado	ORDEM DA COLHEITA													
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a	14 ^a
Volume* (ml)	2,02	1,96	1,03	2,33	2,58	2,71	2,58	2,58	1,75	1,61	2,00	1,50	2,50	1,75
Mortalidade (%)	40,00	40,00	37,50	32,50	50,00	56,66	66,66	58,33	40,00	45,00	50,00	46,66	60,00	75,00
Vigor (0 -5)	3,16	2,83	2,83	2,50	3,33	2,66	3,66	3,00	2,33	2,83	2,66	2,33	3,50	3,33
Concentração (x 10 ³ /mm ³)	371,33	187,16	246,16	406,66	231,33	216,33	319,50	259,33	153,50	107,33	168,66	209,83	267,58	304,08
N ^o total de espermatozóides no ejaculado (x 10 ⁶)	677,16	341,83	272,16	1042,16	429,83	496,83	847,16	724,83	341,25	219,66	357,83	358,04	742,25	444,50

* Apenas a fração rica do ejaculado

TABELA 2

Características morfológicas dos espermatozóides provenientes de 06 cães submetidos a tratamento com sulfato de vincristina. Médias obtidas de 14 colheitas realizadas na UNESP, Jaboticabal - SP, 1993.

Características morfológicas dos espermatozóides	ORDEM DA COLHEITA													
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a	14 ^a
Defeitos maiores (%)	12,16	21,25	10,50	24,58	15,58	16,33	13,50	18,25	10,75	14,00	12,08	8,83	10,83	22,58
Defeitos menores (%)	12,50	15,08	7,83	15,16	10,25	9,00	12,75	12,33	10,16	19,50	19,92	13,33	15,75	15,92
Total de Defeitos (%)	24,66	36,33	18,33	39,74	25,83	25,33	26,25	30,58	20,91	33,50	32,00	22,16	26,58	38,50

Classificação segundo BLOOM² (1972)

motilidade, vigor, concentração e número total de espermatozóides no ejaculado) demonstram a existência de variações entre si e também em relação à ordem das colheitas efetuadas. Ressalta-se uma variação mais acentuada entre as características concentração e número total de espermatozóides no ejaculado. Relativamente aos valores expressos na Tab. 2, os defeitos maiores (BLOOM², 1972) apresentaram valores variáveis, semelhante ao que ocorreu quanto aos defeitos menores, porém com percentagens altas e constantes desde o início do experimento.

A Fig. 3 ilustra as principais patologias detectadas nos animais envolvidos no experimento.

DISCUSSÃO

As neoplasias, nas diferentes espécies animais, apresentam altos índices de ocorrências, sendo a espécie canina uma das mais atingidas (PAREJO¹¹, 1970). Dentre os tipos de tumores que acometem esta espécie animal, o tumor venéreo transmissível (T.V.T.) merece destaque especial por sua alta incidência. As formas de disseminação deste tipo de tumor, bem como a alta incidência de cães errantes são, provavelmente, fatores determinantes da elevada prevalência desta patologia nesta espécie animal (ZARROUCK¹⁸, 1980; BROWN et al.⁴, 1981).

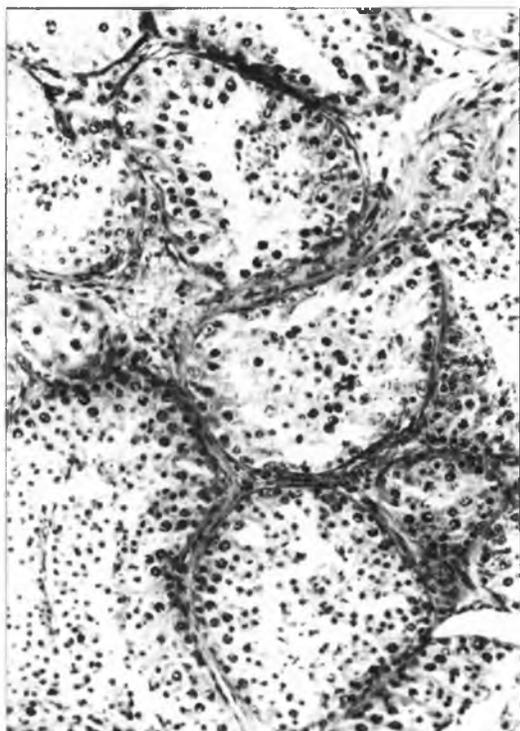


FIGURA 1

Testículo de cão tratado com vincristina. Notar severa degeneração testicular. HE. Obj. 25 x.

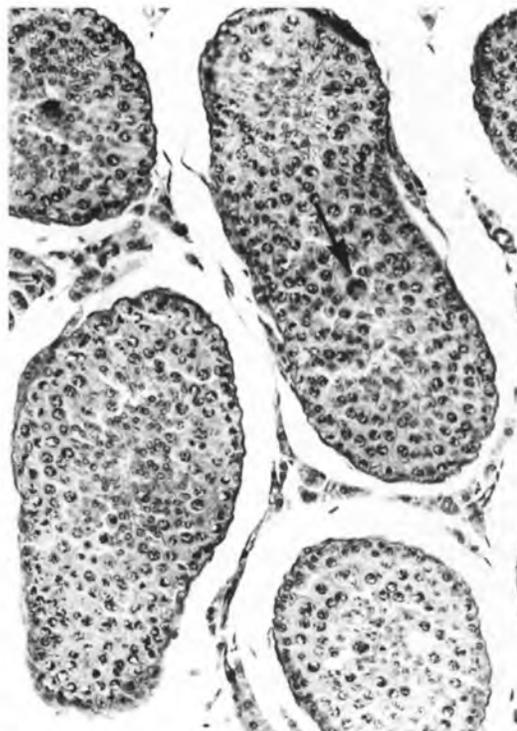


FIGURA 2

Testículo de cão tratado com vincristina. Notar degeneração testicular com diminuição da luz tubular e presença de célula gigante (seta). HE, Obj. 25 x.

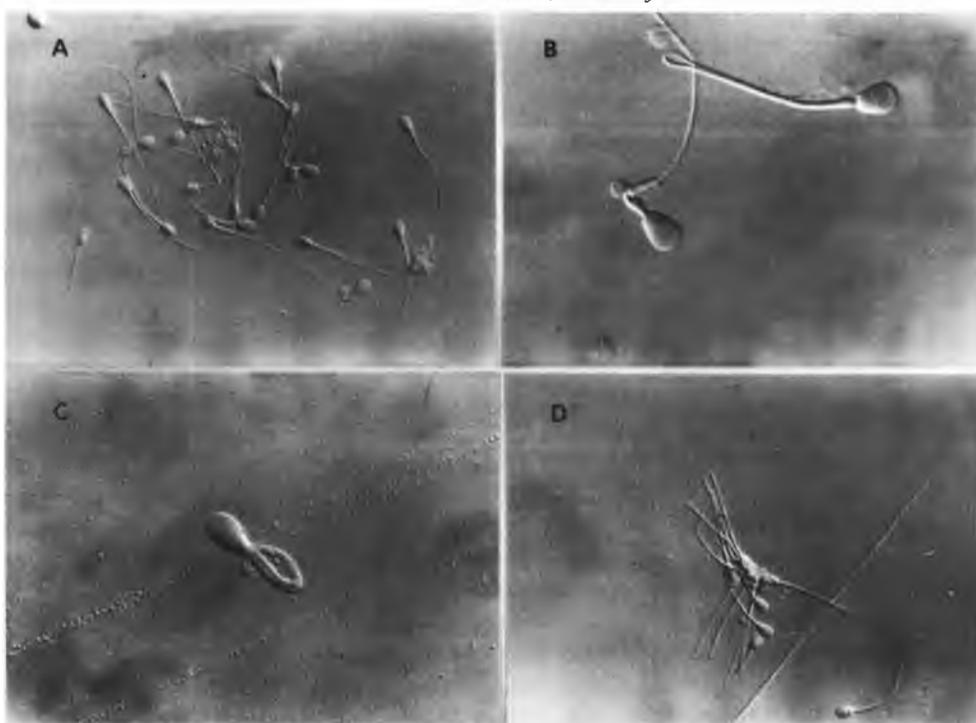


FIGURA 3

- A - Foto panorâmica dos espermatozoides do cão nº 3, mostrando as principais alterações morfológicas.
- B - Bainha da peça intermediária interrompida e cauda dobrada com gota.
- C - Cauda fortemente enrolada.
- D - Aspecto da aglutinação cabeça-cabeça.

A vincristina, um alcalóide que inibe a formação do fuso mitótico, interrompendo a divisão celular (HESS et al.⁷, 1976; THEILEN; MADWELL¹⁶, 1979; ROSENTHAL¹³, 1981), foi utilizada com sucesso por HESS et al.⁷, 1976; DALECK et al.⁶ (1987) para o tratamento do T.V.T. no cão.

Um dos efeitos colaterais que a vincristina pode causar nos animais é a supressão da espermatogênese (ROSENTHAL¹³, 1981). Desta forma, animais submetidos ao tratamento com sulfato de vincristina podem, temporariamente, sofrer alterações do seu potencial reprodutivo.

As avaliações histopatológicas dos testículos de animais submetidos ao tratamento revelaram que a degeneração testicular, em grau leve ou moderado, esteve presente em cães, mesmo antes de se iniciar o experimento. Não pode ser descartada a hipótese de uma possível interferência do trauma cirúrgico sobre o aparecimento da degeneração testicular, nos cães submetidos a orquiectomia unilateral. Por outro lado, a exacerbação do processo foi encontrada em apenas dois animais, o que pode indicar uma resposta individual frente ao tratamento instituído. Esta assertiva foi confirmada quando a avaliação do sêmen foi conduzida nos animais e analisada individualmente. Assim, os animais 01, 02 e 03 que apresentavam baixa percentagem de espermatozóides com alterações morfológicas, tiveram um aumento moderado na percentagem de espermatozóides alterados por volta da 8ª e da 9ª colheitas em diante (15 e 30 dias após o início do tratamento com vincristina). Nestes animais, as patologias permaneceram variáveis entre os limites de 20% a 40%, até a última colheita de sêmen (120 dias após a aplicação da última dose de sulfato de vincristina).

As alterações espermáticas observadas com maior frequência foram associadas à peça intermediária e cauda. Este fato se deve, provavelmente, ao efeito do sulfato de vincristina de proporcionar a precipitação de proteínas citoplasmáticas microtubulares e atuar como perturbador da formação de fusos e microtúbulos (HESS et al.⁷, 1976; THEILEN; MADWELL¹⁶, 1979; ROSENTHAL¹³, 1981).

Detectaram-se também variações individuais nas características físicas do ejaculado nos animais de números 01, 03, 05 e 06 enquanto no animal de número 02 estes parâmetros permaneceram constantes.

As observações das características físicas e morfológicas dos ejaculados (Tabelas 1, 2) demonstraram que, em relação aos primeiros parâmetros, a motilidade declinou entre a terceira e a quarta semana após iniciado o tratamento, elevando-se na semana seguinte e permanecendo em níveis

variáveis, porém aceitáveis, até o final do tratamento. O vigor apresentou uma tendência semelhante, porém com dois pontos de declínio, sendo o primeiro entre a segunda e a terceira e o segundo entre a nona e a décima segunda semana após iniciado o tratamento. Considerando que as principais alterações espermáticas concentram-se na peça intermediária e na cauda dos espermatozóides, os declínios nos parâmetros mencionados anteriormente estão plenamente justificados.

A concentração e o número total de espermatozóides sofreram uma queda acentuada a partir da nona até a décima primeira semana após ter sido iniciado o tratamento. Estes parâmetros, provavelmente, foram influenciados pelos efeitos do sulfato de vincristina sobre o epitélio germinativo dos túbulos seminíferos, fonte produtora do espermatozóide. Estes resultados corroboram os achados histopatológicos que detectaram exacerbação do processo de degeneração testicular em dois animais.

Relativamente às características morfológicas, as médias obtidas demonstraram elevação da percentagem de defeitos maiores entre a segunda e a quarta semana após o tratamento ter sido iniciado. Quanto aos defeitos menores, estes se concentraram entre a segunda e a quarta, a décima primeira e décima a quarta semana após o início do tratamento. Estes resultados refletem, provavelmente, o efeito do alcalóide utilizado sobre os túbulos seminíferos e mais especificamente alguma forma de interferência do sulfato de vincristina sobre a espermatogênese.

CONCLUSÕES

Considerando os objetivos propostos e a metodologia utilizada conclui-se que:

1. O sulfato de vincristina quando utilizado em cães pode, individualmente, determinar uma degeneração testicular de grau leve e moderada.
2. Este tratamento induz alterações espermáticas, principalmente ao nível de peça intermediária e da cauda, que, por sua vez, acarretará, temporariamente, diminuição da motilidade e do vigor.
3. Considerando que em termos de médias obtidas, as características físicas e morfológicas do sêmen de cães sofrem alterações que são reversíveis, o sulfato de vincristina, como recurso terapêutico, pode ser utilizado nesta espécie animal.

SUMMARY

Sperm analysis and testicular histological studies were performed before and after vincristine sulphate treatment, in fourteen male dogs. In group I (n = 8), unilateral orchiectomy was carried out before and after mitostatic treatment, and testicular and epididymal biopsies were examined histologically. All histological examinations showed a slight to moderate degeneration of testicular tissue. In group II (n = 6) semen was collected and was submitted to laboratorial analysis. After vincristine treatment, middle piece and tail abnormalities were found. However, as physical and morphological abnormalities showed to be reversible, vincristine sulphate therapy may be used in such species.

UNITERMS: Dogs; Vincristine sulphate; Semen; Antineoplastic agents

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - AMBER, E.I.; HENDERSON, R.A. Canine transmissible venereal tumor: evaluation of surgical excision of primary and metastatic lesions in Zaria - Nigeria. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.18, n.2, p.350-2, 1982.
- 02 - BLOOM, E. The ultrastructure of some characteristics sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermogram. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL DI ZOOTECHNY, 7., Milão, 1972. p. 125-39.
- 03 - BROWN, N.O.; CALVERT, C.; MacEWEN, E.G. Chemotherapeutic management of transmissible venereal tumors in 30 dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.176, n.10, p.983-6, 1980.
- 04 - BROWN, N.O.; MacEWEN, E.G.; CALVERT, C. Transmissible venereal tumor in the dog (a review). *California Veterinarian*, v.35, n.3, p.6-10, 1981.
- 05 - CALVERT, C.A.; LEIFER, C.E.; MacEWEN, E.G. Vincristine for treatment of transmissible venereal tumor in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.181, n.2, p.163-4, 1982.
- 06 - DALECK, C.L.M.; DALECK, C.R.; FERREIRA, H.I.; SANTANA, A.E. Novos estudos sobre o tratamento do tumor venéreo transmissível canino (T.V.T.). *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, v.3, n.2, p.203-9, 1987.
- 07 - HESS, P.W.; MacEWEN, E.G.; McLELLAND, A.J. Chemotherapy of canine and feline tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, v.12, n.3, p.350-8, 1976.
- 08 - JAUREGUI, P.H. Effects of a combination of cyclophosphamide and prednisone on transmissible venereal in dog. Clinical and histological study. *Veterinaria Mexico*, v.5, n.1, p.3-9, 1974.
- 09 - McAFEE, L.T.; McAFEE, J.T. Transmissible venereal tumor: surgery and chemotherapy (a case report). *Veterinary Medicine. Small Animal Clinician*, v. 72, n.2, p.199-3, 1977.
- 10 - MACHADO, A.V.; SILVA, J.M.L.; CURIAL, D.; TREIN, E.J.; SALIBA, A. M.; MARTINS, E.O.; CAVALCANTI, M.I.; SANTOS, J.A.; TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; FARIA, J.F.; NOOLOSKI, G.; PEREIRA, E.C.G. Incidência de blastomas em animais do Brasil. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, v.15, p.327-31, 1963.
- 11 - PAREJO, J.S. Estudio experimental de la contagiosidad del linfosarcoma de Sticker. *Archivos de Zootecnia*, v.19, n.74, p.167-211, 1970.
- 12 - PEREZ, L.; VERGARA, K.; VENTURA, J.; LETELIER, I. Surgical and drug treatment of transmissible venereal tumor localized in the nasal cavity in dogs. *Archivos de Medicina Veterinária*, v.10, n.2, p.149-52, 1978.
- 13 - ROSENTHAL, R.C. Clinical applications of Vinca Alkaloids. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.179, n.11, p.1084-6, 1981.
- 14 - ROUSE, B.T. Neoplasia - what are prospects of immunological intervention. *Canadian Veterinary Journal*, v.16, n.9, p.201-5, 1973.
- 15 - THACHER, C.; BRADLEY, R.L. Vulvar and vaginal tumors in dogs: a retrospective study. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.183, n.6, p.690-2, 1982.
- 16 - THEILEN, G.H.; MADEWELL, B.R. *Veterinary cancer medicine*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1979. p. 171-8: Tumors of the skin.
- 17 - THRALL, D.E. Orthovoltage radioterapy of canine transmissible venereal tumors. *Veterinary Radiology*, v.23, n.5, p.217-9, 1982.
- 18 - ZARROUCK, K. Transmissible venereal tumor of the dog (Sticker's sarcoma). *Point Veterinaire*, v.11, n.52, p.73-9, 1980.

Recebido para publicação em 22/09/93
Aprovado para publicação em 05/07/94