MINISTERIO DE GANADERIA, AGRICULTURA Y PESCA
DIRECCION GENERAL DE LOS
SERVICIOS VETERINARIOS

DPTO. DE REPRODUCCION
ANIMAL

IICA
INSTITUTO INTERAMERICANO DE
COOPERACION PARA LA AGRICULTURA
OFICINA EN URUGUAY

APTITUD REPRODUCTIVA DEL TORO

CALIDAD SEMINAL

TEMA II

SERIE DE REPRODUCCION ANIMAL

SERIE DE PUBLICACIONES MISCELANEAS
Nº A 4/UY 86-005
ISSN - 0534 - 5391

INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA

MINISTERIO DE GANADERIA, AGRICULTURA Y PESCA

MGAP

APTITUD REPRODUCTIVA DEL TORO

CALIDAD SEMINAL

TEMA II

Editores: Luis Queirolo
Dante Geymonat
Germán Gómez

SERIE DE REPRODUCCION ANIMAL

IICA
MONTEVIDEO, URUGUAY
DICIEMBRE 1986

Serie de Publicaciones Misceláneas
N° A4/UY - 86 - 005
ISSN - 0534 - 5391

P R O L O G O

Se entrega este segundo número de la Serie Reproducción Animal, con el material correspondiente al Simposio sobre: "Aptitud reproductiva en el toro: calidad seminal", que se realizó en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República. El presente trabajo se enmarca dentro de las acciones de capacitación y actualización profesional que está ejecutando la Dirección General de los Servicios Veterinarios del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, a través de su Departamento de Reproducción Animal, con el apoyo del Programa de Salud Animal del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) de la Oficina de Uruguay.

Se entiende que es un paso adecuado para proseguir en el contínuo adiestramiento y conocimiento de las tecnologías reproductivas, cuya vinculación integral con los problemas de manejo de las explotaciones ganaderas constituye factor importante en el mejoramiento de los índices productivos de los rodeos.

Las interrelaciones existentes entre problemas sanitarios, alimenticios, genéticos, de manejo y de administración ganadera, deben ser comprendidos en su verdadera magnitud. Se pretende dar a conocer a la profesión veterinaria informaciones sobre ensayos y experiencias realizadas en el país, que a veces están reservadas a una audiencia muy selecta.

Por otro lado, y como función directriz de la Dirección General de los Servicios Veterinarios, se espera continuar con el esfuerzo de publicar estas informaciones actualizadas que sin duda contribuyen a mejorar el acervo técnico de los Servicios así como para poner a disposición de cualquier usuario, de las acciones que se encuentran en marcha actualmente.

Algunas imperfecciones que puedan existir en el texto así como la falta de observancia estricta de algunas normas de publicación científica en lo atinente a referencias bibliográficas, son resultado de dar a publicidad a la mayor brevedad el contenido de las exposiciones en el evento. Por lo tanto, esta publicación ha sacrificado estos aspectos formales en beneficio de una más pronta difusión del contenido temático del mismo.

El esfuerzo de preparación de este tema debe agradecérsele a los disertantes en el Simposio, quienes manifestando un gran espíritu de trabajo, dieron lo máximo de sus conocimientos para proveer la información que cada autor posee sobre la materia.

Este agradecimiento lo hacemos extensivo a los Técnicos y Administrativos del Departamento de Reproducción Animal.

Esperamos que esta entrega sea de la utilidad práctica deseada para la aplicación de tecnologías que ayuden a mejorar el desarrollo ganadero uruguayo.

GERMAN GOMEZ
Especialista en Salud Animal
Oficina IICA en Uruguay

LUIS E. QUEIROLO
Jefe de Departamento
Reproducción Animal

GG:LEQ:hdsg

MINISTERIO DE GANADERIA, AGRICULTURA Y PESCA

DIRECCION GENERAL DE LOS SERVICIOS VETERINARIOS
Departamento de Reproducción Animal

Personal Técnico

Doctor Luis E. Queirolo Monteverde
Doctor Dante H. Geymonat Andreón
Doctor Leandro Fernández Requena
Doctora Ma. del Rodario Guerrero Halty
Doctor Niel Rodríguez Lamela
Semitécnica Mónica Bertacchi Pepe

Personal Administrativo

Hilda Devincenzi Semblat
Antonio López Larrosa
Gladys Domínguez Ruibal

Montevideo, OCTUBRE 1986

I N D I C E

ALGUNOS ASPECTOS DE LA FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL TORO

DANIEL CAVESTANY

ALGUNOS ASPECTOS DE LA FISIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL TORO

DANIEL CAVESTANY *

INTRODUCCION

En el macho normal, el testículo es una glándula par, de doble función: endócrina (producción de hormonas) y exócrina (elaboración de células sexuales o gametos masculinos). Ambas funciones han sido reconocidas desde mucho tiempo atrás, ya que desde varios siglos antes de Cristo existía la práctica de castrar los machos destinados a la producción de carne para el consumo humano. Asimismo, antiguas prácticas orientales consistían en la castración de niños destinados luego a cuidar los harenes (eunucos). Los primeros reportes científicos son más recientes y posiblemente comiencen con el descubrimiento del espermatozoo por el holandés Antoni Van Leeuwenhoek (1685), quien comunicó su hallazgo a la Real Sociedad de Medicina de Inglaterra en los siguientes términos:

"... cuando un hombre es incapaz de engendrar hijos con su mujer, aunque su virilidad esté intacta, se dice -en la jerga popular- que tiene naturaleza fría. En mi parecer, sin embargo, sería más apropiado decir que no se encontrarían animáculos vivos en la semilla de ese hombre o que, si se encontraran, son muy débiles para sobrevivir lo suficiente en el útero."

Van Leeuwenhoek, no solamente descubre el espermatozoo, lo asocia a la fertilidad, y además, aventura sobre la vitalidad necesaria de los mismos para sobrevivir en el tracto genital femenino (22).

La función del testículo como glándula endócrina, ya sospechada antes del descubrimiento de la hormona masculina, puede ser sintetizada en la frase de Brown-Sèquard (1889):

" No puede ser dudado por nadie ... los testículos dan al hombre sus más nobles y útiles atributos." (22)

El investigador se refería, indudablemente, en el contexto de una sociedad chauvinista, a la virilidad y los caracteres sexuales secundarios del hombre.

La presente revisión, no tiene por objetivo abarcar exhaustivamente todos los aspectos de la fisiología reproductiva del macho, sino repasar algunos aspectos más importantes de la espermatogénesis y su control hormonal, en el intento que sirva de introducción y recuerdo de estos aspectos para los siguientes temas abordados en esta publicación.

II. RECUERDO EMBRIOLOGICO

En el feto en desarrollo, las gónadas indiferenciadas se forman a partir de un engrosamiento del epitelio celómico, situado medialmente al riñón primitivo (mesonefros), en lo que se denomina cresta genital. Posteriormente se produce la migración de las células germinales primordiales (día 26) a partir del mesénquima. Las células germinales primordiales llevan la información con respecto al futuro sexo de la gónada.

---

* Médico Veterinario, M.Sc. Profesor Adjunto de la Cátedra de Teriogenología de la Facultad de Veterinaria de la República. Montevideo-URUGUAY.

En el caso del macho, la presencia del antígeno H-Y es esencial (28).

Dos agentes activos se producen en el testículo fetal y son responsables del desarrollo del aparato reproductor masculino y su comportamiento posterior:

a. Andrógeno fetal producido por los testículos y causa el desarrollo del sistema de ductos

b. Sustancia inhibidora Müllerianа que inhibe el desarrollo de los conductos de Müller.

A nivel del sistema nervioso central (SNC), los andrógenos destruyen el Centro Cíclico hipotalámico (19).

III. EL TESTICULO ADULTO

El testículo es una glándula tubular, compuesta de túbulos seminíferos (TS) (90%) y tejido intersticial (10%) que los rodea, donde se encuentran las células de Leydig y los vasos sanguíneos y linfáticos. La glándula está recubierta por el escroto, formado por varias capas, de las cuales para la presente revisión interesa principalmente la túnica albugínea.

a. La Cápsula Testicular:

El testículo está recubierto por una gruesa cápsula fibrosa que rodea el parénquima glandular y se denomina túnica albugínea, aunque ésta sea solamente una de las tres capas que componen la cápsula (7, 14). Esta cápsula, emite delgados tabiques que penetran el parénquima testicular (trabéculas) y se extienden radialmente desde el mediastino á la túnica albugínea, dividiendo el órgano en unos 250 compartimentos, los lóbulos testiculares. Cada lóbulo está compuesto de 1 á 4 muy convolucionados TS de 150 á 250 micras de diámetro y 30 á 70 centímetros de longitud. La cápsula se ensancha en el borde anterior del testículo, dando el mediastino testicular. Este sirve para contener los canales de la rete testis, así como las porciones iniciales de los conductos eferentes. Esta cápsula contiene músculo liso, fibras de colágeno y numerosos fibroblastos (14).

La cápsula sufre contracciones y relajaciones periódicas, lo que significa que está en estado constante de movimiento, ejerciendo presión sobre los TS. Estas contracciones rítmicas sirven de "masaje", ejerciendo una acción de bombeo que ayuda al transporte de los espermatozoos no motiles de los TS a los conductos eferentes, fuera del testículo hacia el epidídimo.

Además de ciertos agentes químicos (cadmio, etc.) la función de la cápsula está alterada por el calor. Un aumento de temperatura de 32°a 38C resulta en una marcada y constante contracción de la cápsula. Esto explicaría la disminución de tamaño testicular en animales criptórquidos (14).

b. La Barrera sanguíneo-testicular:

Para que una sustancia pase del torrente sanguíneo al interior de los túbulos seminíferos debe primero cruzar las paredes de los capilares y luego penetrar las paredes de los túbulos. La pared capilar representa la primera barrera que las sustancias deben cruzar para abandonar el torrente sanguíneo. La presión de los vasos en el espacio intersticial, cerca de las células de Leydig debe ser tal que permita la filtración de sustancias proteicas (hormonas), mientras que los capilares alrededor de los TS están a menor presión para reabsorber líquido (27).

La segunda barrera está a nivel del TS. Este está rodeado por cuatro capas concéntricas:

1. una capa interna no celular;
2. una capa interna celular formada por células mioides, responsables de la actividad contráctil del TS. Estas son células adventicias derivadas del tejido conectivo.

Tienen características citológicas de músculo liso y se presume que sean contráctiles. No pueden ser llamadas verdaderamente músculo liso por su forma atípica y organización epiteloide. Se denominan células mioides o células peritubulares contráctiles. Se cree que son responsables de las contracciones rítmicas del TS, y son generadas intrínsicamente ya que no se encuentran nervios en ella (7).

3. una capa externa no celular, principalmente colágeno;
4. una capa externa celular.

Esta barrera, de permeabilidad selectiva, aisla totalmente el interior del TS del resto del organismo (Figura 1).

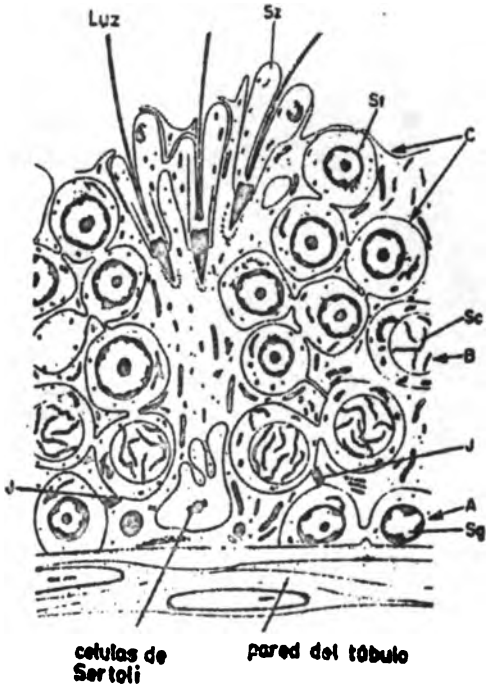


Figura 1: Diagrama mostrando la relación de las células germinales con las células de Sértoli en el túbulo seminífero.
Las células germinales comienzan en la periferia del túbulocomo espermatogonias (Sg) y migran hacia la luz del túbulo, primero como espermatocitos (Sc). luego como espermátides (St) y finalmente, como espermátides elongadas (Sa).
J = uniones especiales entre células de Sértoli.

Fuente: Hafez, E.S.E. (19).

La función principal es crear condiciones estables y favorables para la principal función del testículo: producción de espermatozoos. Tiene importancia en retener cualquier sustancia de significado endocrinológico formada dentro del túbulo de manera que abandone el testículo por la rete testis, para ser reabsorbida por la cabeza del epidídimo (inhibina, por ejemplo).

Otra función importante es la de barrera inmunológica. Una vez que la célula germinal se hace haploide, se transforma en una célula extraña para el organismo. Por lo tanto, el animal podría resultar inmunizado contra sus propios espermatozoos (27).

c. Túbulos Seminíferos (TS)

De Graaf, en 1669, demostró que la mayor parte del testículo está compuesta por TS. Cada uno de estos túbulos es ciego, con dos terminaciones que desembocan en la rete testis, a través de las cuales los espermatozoos pasan, por medio de los conductos eferentes al epidídimo (27) (Figura 2).

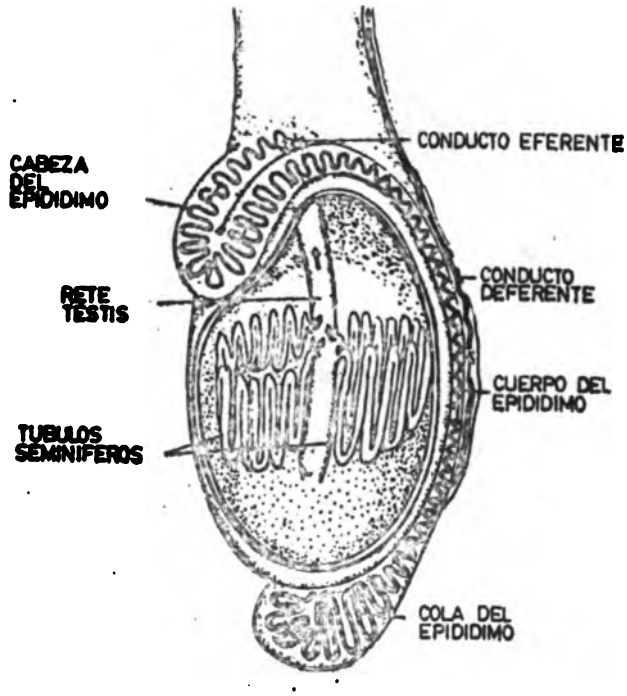


Figura 2: Diagrama del sistema de ductos excurrentes del testículo.
Las flechas indican las vías por las cuales los espermatozoos son transportados al exterior.
Fuente: Setchell, B.P. (26).

Los TS constituyen la porción exócrina del testículo, que es en esencia una glándula citógena cuya secreción holócrina la constituyen los espermatozoos (7).

El epitelio seminífero es un epitelio estratificado complejo, compuesto por dos categorías principales de células:

1. células de soporte, y

2. células espermatogénicas

Las primeras son las células de Sértoli, que son células básicamente columnares descansando en la lámina basal del TS y extendiéndose por todo el epitelio hasta su superficie libre. Desde la porción columnar existe un complejo sistema de finos procesos radiales que rodean las células espermatogénicas y ocupan todos los intersticios entre ellas (Figura 3).

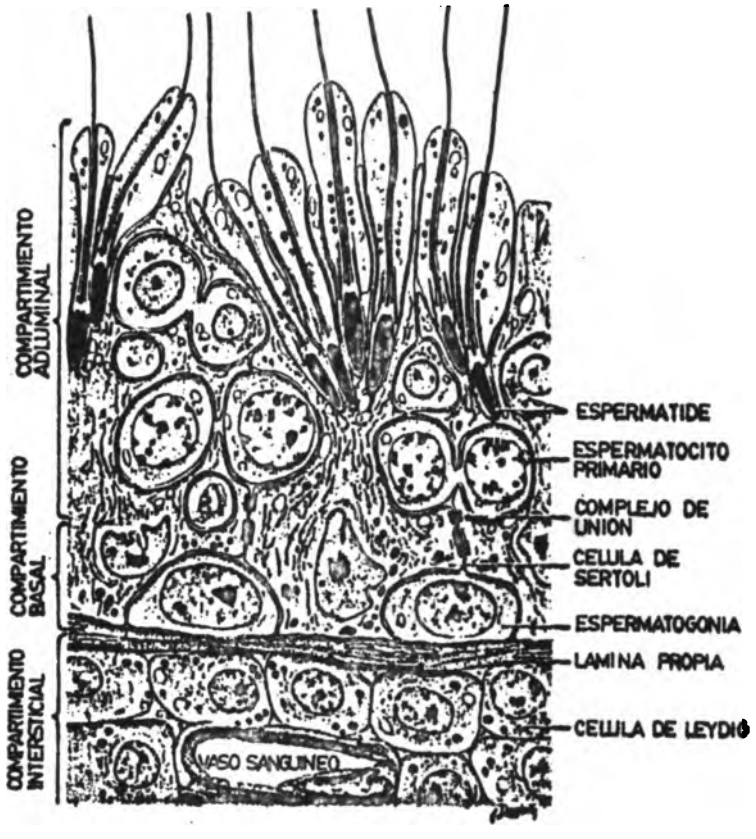


Figura 3: Diagrama de parte del túbulo seminífero mostrando la relación de las células germinales con las células de Sértoli. Los espermatocitos se mueven al compartimiento adluminal a través de los complejos de unión entre las células de Sértoli adyacentes. Espermatogonias, espermatocitos primarios y secundarios y espermátides, se desarrollan en los espacios entre las células de Sértoli. Durante la elongación, las espermatidas se reubican, embebiéndose en la célula.
Fuente: Amann, R.P. and Schanbacher, B.D. (2).

Las primeras de las células germinales, las espermatogonias, también se encuentran sobre la membrana basal, mientras que las etapas más avanzadas se desplazan hacia el interior del túbulo.

Para comprender el proceso de espermatogénesis, es importante tener presente que el epitelio seminífero consiste de:

a. una población fija de células de soporte no proliferativas, y

b. una población proliferante y diferenciada de células germinales que se mueven lentamente hacia adentro sobre los lados de las células de Sértoli hacia la luz del túbulo (7).

Compartimentalización

Dentro del TS se distinguen dos compartimientos, divididos funcionalmente: uno basal y otro adluminal (Figura 3). Las espermatogonias tipo A y B, y los espermatocitos preleptoténicos se encuentran en el compartimento basal, mientras que los espermatocitos más avanzados y los espermátides se desplazan hacia el adluminal. Aunque las células de Sértoli abarcan ambos compartimentos, éstos están separados por complejos puntos de intercambio o de unión, de permeabilidad restringida que funcionan como el principal componente de la barrera sanguíneo-testicular (Figuras: 3 y 4).

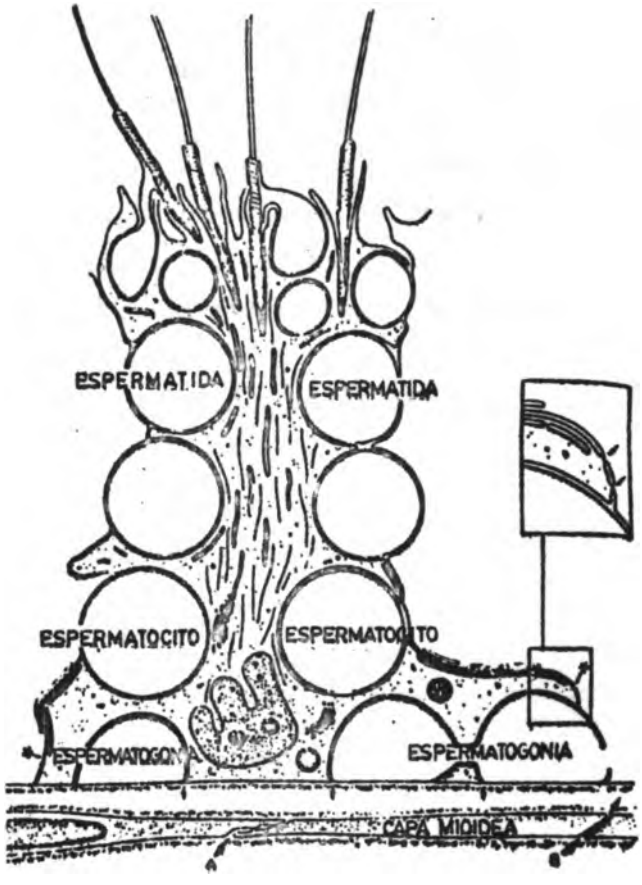


Figura 4: Porción del TS mostrando la barrera sanguíneo-testicular y la compartimentalización del TS. En el recuadro, los complejos de unión que separan el compartimento basal del adluminal.
Fuente: Dym, M. and Cavicchia, J.C. (16).

Esto muestra que la meiosis y la espermiogénesis son procesos especiales de las gónadas que requieren un microambiente especial provisto por las células de Sértoli en el compartimento adluminal. Son los espermatocitos en meiosis los que migran del compartimento basal al adluminal. La iniciación de la meiosis ocurre mientras los espermatocitos (preleptoténicos o leptoténicos) están en el compartimento basal implicando, por lo tanto, que el medio creado por las células de Sértoli en el compartimento adluminal no es requerido por las células germinales para iniciar la meiosis (16).

Las células de Sértoli

Las células de Sértoli ocupan un tercio a un cuarto del volumen total del TS (16). Proveen soporte mecánico a las células germinales y probablemente participan en su nutrición. También juegan un rol activo en la liberación de células germinales a la luz del túbulo. No se observan en división en el testículo maduro. Son resistentes al calor, radiaciones ionizantes y varios agentes tóxicos que destruyen las más sensibles células espermatogénicas (7).

Sus funciones pueden resumirse de la siguiente manera:

1. Secreción de líquidos a la luz del TS.
2. Síntesis de proteínas, principalmente una proteína que liga a los andrógenos (ABP, de su denominación en inglés "androgen binding protein") y que ayuda a mantener una concentración constante de testosterona (T) dentro de los túbulos durante la fluctuación en su secreción por las células de Leydig provocadas por la secreción episódica de LH.
3. Fagocitosis de células germinales en degeneración y cuerpos residuales.
4. Liberación de espermatozoos a la luz del túbulo.
5. Movimiento de células germinales del compartimento basal al adluminal.
6. Metabolismo de esteroides.
7. Formación de la barrera sanguíneo-testicular.
8. Principal sitio de acción de FSH.
9. Secreción de inhibina.
10. Secreción de hormona fetal anti-müllerlana (15, 16, 29).

Fluído del Túbulo Seminífero

La concentración de espermatozoos en la rete testis es del 1%, mientras que en el epidídimo es del 70% (18). Esto indica que existe una abundante producción de fluído por los TS, que posteriormente es reabsorbido por la cabeza del epidídimo. Este fluído, que puede ser tan abundante como de 40 ml por día en el carnero, ayuda al transporte espermático hacia el epidídimo (19) a la vez que sirve de vehículo de numerosas sustancias químicas (enzimas) y hormonas (18). Existen además, otras dos funciones de este fluído:

1. Suministrar sustrato a los espermatozoos para controlar su propio metabolismo endógeno.
2. El fluído tiene una alta concentración de un péptido que inhibe selectivamente la proteinasa acrosómica (acrosina) que permite al espermatozoo penetrar al óvulo en el momento de la fecundación. Esta enzima también permitiría al espermatozoo penetrar otras células (27).

d. El Tejido Instersticial

Los TS no son traspasados por vasos sanguíneos o linfáticos ni nervios. Estos están confinados a espacios entre ellos (27). Estos espacios, de tejidos conectivo laxo, se extienden hacia adentro del testículo para llenar todos los intersticios entre los TS. Además de fibroblastos, contienen racimos de células epiteliales, las células de Leydig, que constituyen el tejido endócrino del testículo (7). Contienen receptores para LH (y quizás FSH) y son la fuente primaria de esteroides testiculares, fundamentalmente testosterona (19).

IV. TERMORREGULACION

Cada testículo está suspendido en el escroto de un largo pedículo vascular, el cordón espermático, que consiste de los conductos deferentes, vasos sanguíneos y nervios (7).

En los mamíferos con testículos extraabdominales, para que la función gametógena sea posible, la temperatura testicular debe ser inferior a la corporal. Esto se consigue por un doble mecanismo: el escroto, que cuenta con receptores térmicos y el músculo cremaster y el dartos, capaces de contraer el testículo contra la pared abdominal o alejarlo.

El otro mecanismo de termorregulación se encuentra a nivel del cordón espermático, donde las circunvoluciones de la arteria y vena testicular, en lo que se denomina plexo pampiniforme. A este nivel, la sangre arterial que llega al testículo es enfriada por la sangre venosa que abandona el mismo, hasta crear un gradiente de temperaturas de ± 4°C (19) (Figura 5).

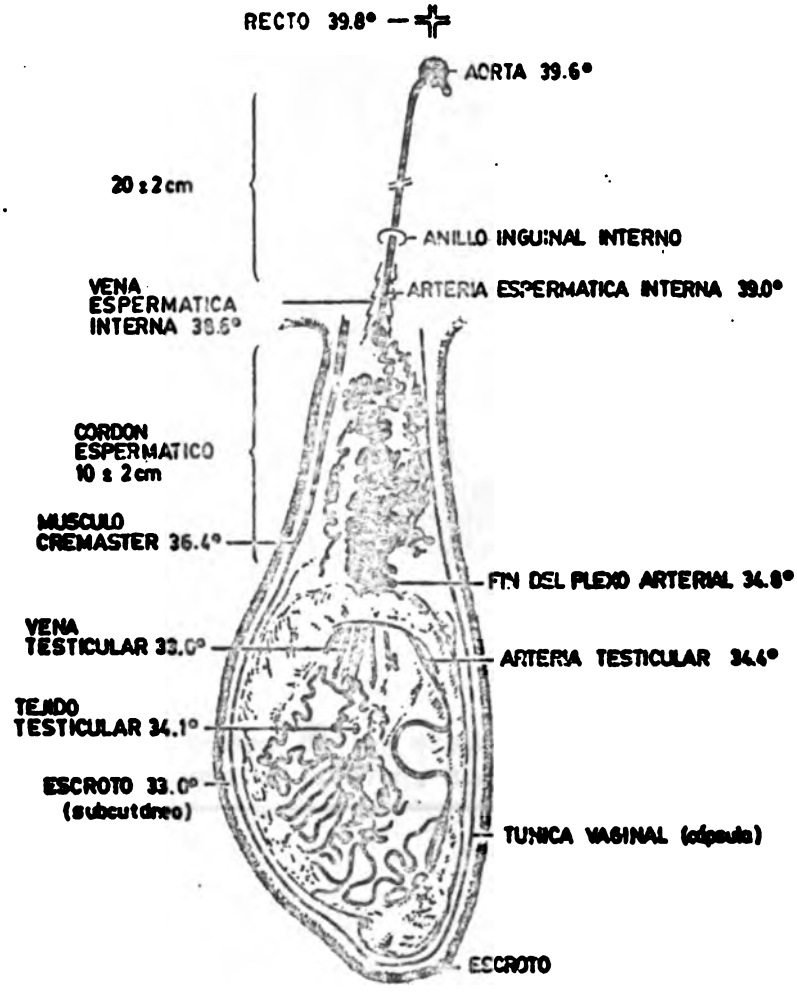


Figura 5: Efectos del plexo pampiniforme en la modificación de la temperatura de la sangre, entrando al testículo en carneros.
Fuente: Waites, G.M.H. (29).

Existe otra función importante del plexo pampiniforme, que estaría dada por un mecanismo de contracorriente de intercambio hormonal, principalmente T. Se ha encontrado que la sangre de la vena espermática interna contiene 20 veces más T que la sangre arterial cuando entra al testículo (18, 26). Este intercambio ayudaría a mantener un alto nivel hormonal dentro de la glándula, favoreciendo su funcionamiento.

V. ESPERMATOGENESIS

A. Definición.

La espermatogénesis se puede definir como el desarrollo de la célula germinal masculina en el mamífero adulto (25), o más precisamente como: "la suma de las transformaciones que resultan en la formación de espermatozoos a partir de espermatogonias, al mismo tiempo que se mantiene constante la cantidad de éstas últimas". (12, 24).

Es un largo y elaborado proceso por el cual las células "madre" (espermatogonias) producen células haploides, altamente diferenciadas, los espermatozoos (11)

En términos generales puede dividirse en tres etapas (Figura 6):

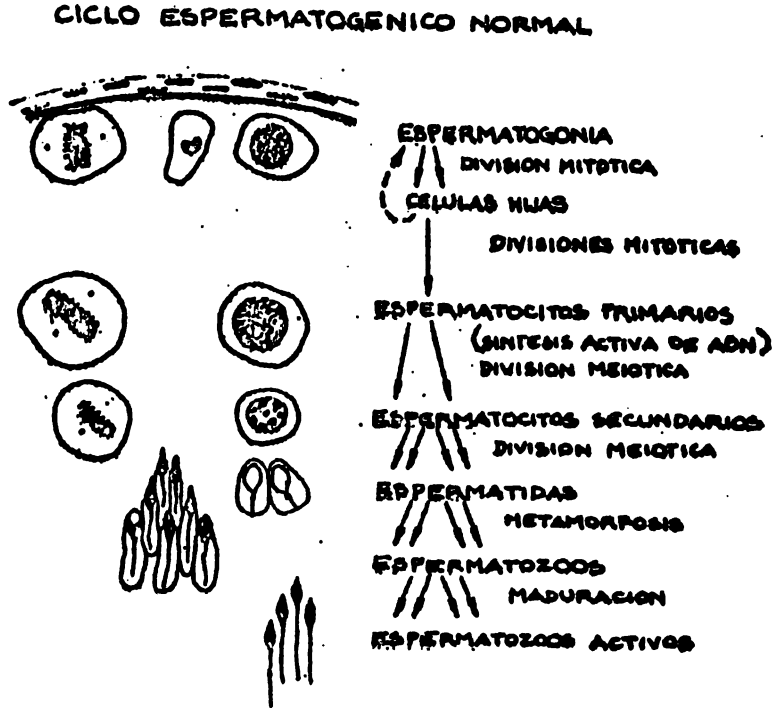


Figura 6: Esquema de las etapas de la espermatogénesis.
Fuente: Lostroh, A.J. (21).

a. Producción de espermatocitos como consecuencia de divisiones mitóticas de las espermatogonias. Estas sufren una serie de divisiones, comenzando en la periferia del túbulo. Existen por lo menos cinco divisiones de espermatogonias hasta la espermatogonia B, que es la que se divide para dar los espermatocitos primarios.

b. Producción de espermátides como consecuencia de divisiones meióticas de los espermatocitos. Los espermatocitos primarios se dividen para dar los espermatocitos secundarios, los que a su vez se dividen sin duplicación de DNA y dan las células haploides, los espermátides.

c. Formación de espermatozoos como resultado de metamorfosis de los espermátides (espermiogénesis). Esto incluye una serie de cambios progresivos, condensación de cromatina nuclear, formación de la cola y desarrollo del acrosoma (11,19)

Sin pretender entrar en un estudio citológico detallado de los distintos tipos celulares del proceso, cabe sí, una breve descripción de cada uno de ellos. (Figura 7).

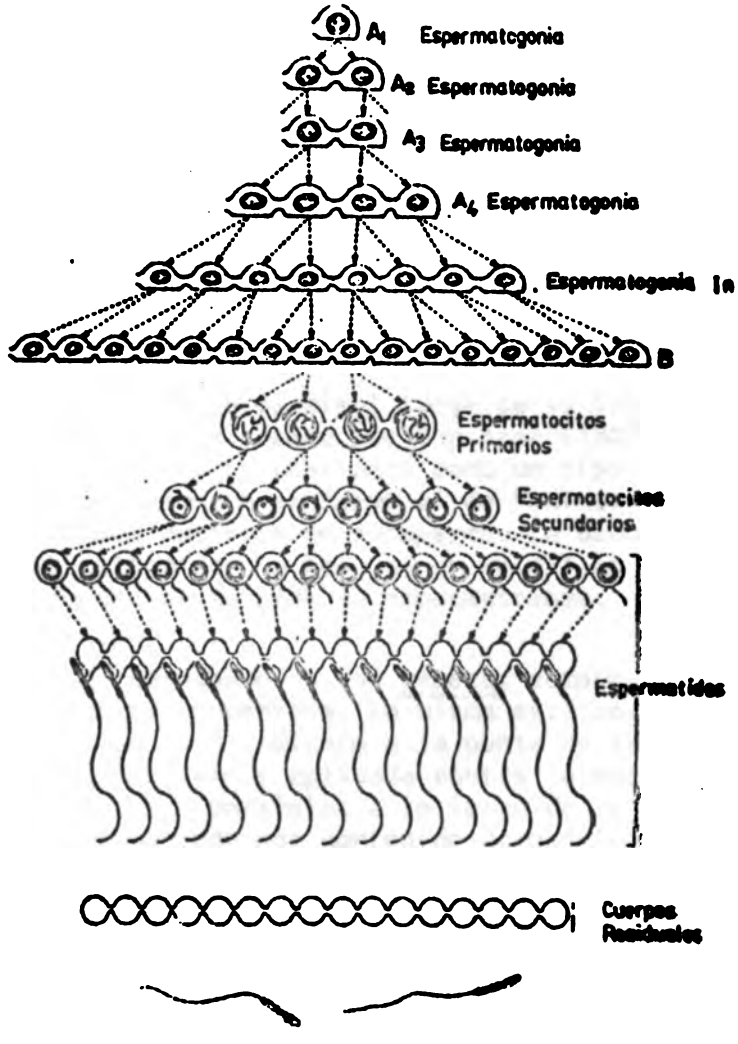


Figura 7: Diferentes tipos celulares que aparecen secuencialmente durante la espermatogénesis. En las espermátidas se muestran los puentes intercelulares de las células de Sértoli que unen grupos de células. Fuente: Bloom, W. and Fawcett, D.W.

1. Espermatogonias

Las espermatogonias tipo A, comienzan a dividirse y luego de dos o tres divisiones cambian a tipo B, que son todavía mitóticas. Estas, luego de dos divisiones originan los espermatocitos post-mitóticos.

Esto conforma cinco picos de actividad mitótica. Al comienzo de cada ciclo, una espermatogonia tipo A, origina dos y éstas a su vez, cuatro células, también tipo A. Una de éstas cuatro se vuelve quiescente y no se divide hasta el próximo ciclo. Las otras tres, se dividen en forma sincronizada, originando seis espermatogonias tipo I (intermedias). Cuando éstas se dividen, originan veinticuatro espermatogonias tipo B.

2. Espermatocitos

El espermatocito primario representa una etapa crucial en el proceso, de relativamente larga duración. Se realizan las divisiones meióticas (25). Al mismo tiempo se mueven del compartimento basal al adluminal y pierden contacto con la pared del túbulo. Esto está mediado por las células de Sértoli (27).

3. Espermátides

El aparato de Golgi se desarrolla para formar el acrosoma. El núcleo cambia condensándose para formar la cabeza del espermatozoo. Los centríolos participan en la formación de la cola (25).

4. Espermatozoos

El espermatozoo es la célula germinal luego de su liberación natural del epitelio seminífero. El término fue creado por Von Baer (1827) en un artículo sobre el desarrollo de las cercarias. Lo consideró como un tipo muy inferior de cercaria y el término era prácticamente sinónimo al de "animáculo seminal", aunque significó una mejora al nombre anterior de zoosperma. La denominación de espermatozoo fue propuesta para epitomizar la idea de un animal parásito habitando en el semen. Más tarde se propuso el término de espermatosoma, aunque nunca fue usado (25).

El espermatozoo está compuesto de una cabeza, compuesta enteramente por el núcleo en forma de cromatina condensada. La misma está bordeada en su mitad anterior por el acrosoma que no está limitado a la punta de la cabeza sino que es una estructura bordeada por membranas y aplicada contra la porción anterior del núcleo. Las dos membranas corren paralelas a lo largo de toda su extensión y encierran una estrecha cavidad ocupada por contenido acrosómico. La porción del acrosoma que cubre la parte anterior del núcleo se describe como segmento principal. La porción caudal, más angosta, se denomina segmento ecuatorial. Tiene un contenido rico en carbohidratos y enzimas, entre las que se encuentran la hialuronidasa, acrosina, etcétera. (Figura 8).

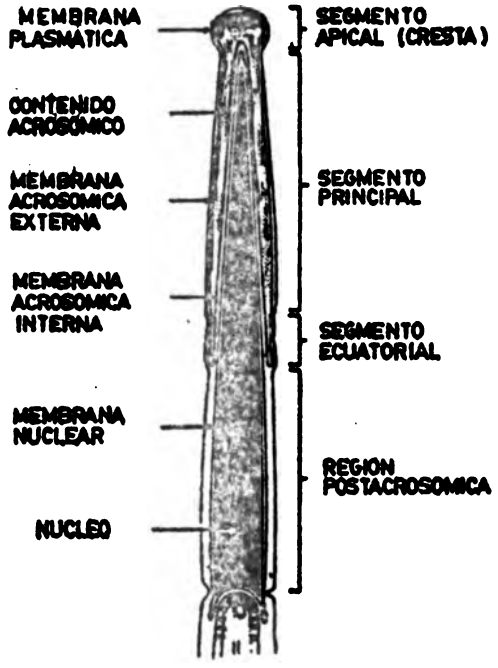
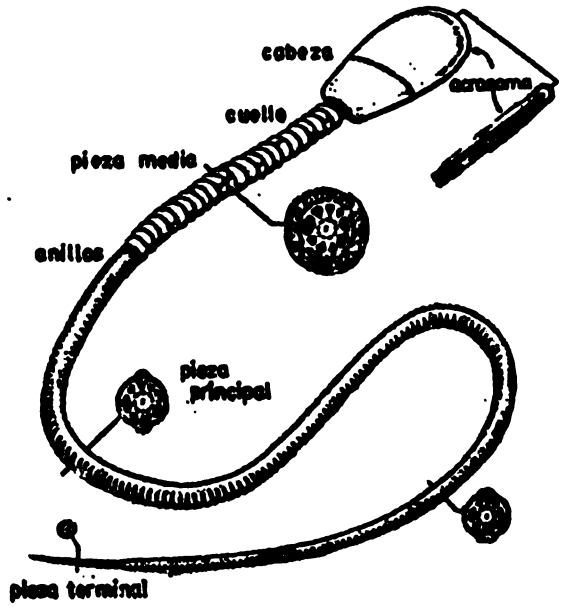


Figura 8: Sección sagital de la cabeza del espermatozoo bovino. Se muestran las distintas subdivisiones anatómicas.
Fuente: Hafez, E.S.E. (19)

La cola está compuesta del cuello, pieza media, pieza principal y pieza final. La parte central de la pieza media está compuesta de nueve pares de filamentos o microtúbulos que están dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales. Estos están rodeados de otras nueve gruesas fibras asociadas a nueve pares del axonema. Estas poseen propiedades elásticas y contráctiles. Toda la pieza media está cubierta por una vaina mitocondrial dispuesta helicoidalmente entre las fibras y se cree que genera la energía necesaria para la motilidad espermática. (19). (Figura 9).

Figura 9: Ilustración de las estructuras del espermatozoo bovino. Cortes sagitales de las distintas partes anatómicas.
Fuente: Hafez, E.S.E. (19).



B. Cinética de la espermatogénesis

Las espermatogonias son células diploides que se dividen mitóticamente como cualquier otra célula del cuerpo. La única diferencia es que estas divisiones están sincronizadas a lo largo de ciertas porciones del túbulo seminífero (27). Este grupo de células, producidas aproximadamente al mismo tiempo y que evolucionan sincronizadamente a través del proceso espermatogénico, forman lo que se denomina una generación (11, 12). El epitelio seminífero está compuesto de cinco o seis generaciones de células germinales, que no están dispuestas al azar, sino que forman asociaciones celulares, de composición fija (12). Esta sucesión de generaciones desarrolladas en estrecha relación unas con otras, ocurriendo a regularidad cíclica, se denominan asociaciones celulares (24). Esta sincronía puede ser debida, en parte, a la persistencia de uniones celulares luego que las células se han dividido, o a otros factores asociados al ciclo espermatogénico (27).

Típicamente, cada asociación celular contiene:

- Espermatogonias
- Espermatocitos
- Espermátides
  en varias etapas de desarrollo (6).

Las generaciones de células germinales se encuentran, de acuerdo con la edad, de la periferia al centro del túbulo. Más adelante, a un tiempo determinado, aparece otra generación que fuerza a la anterior hacia la luz del túbulo. Luego, y a un intervalo idéntico, aparece una tercera generación. Durante este tiempo, la primera generación se ha transformado en espermátides (12).

Las asociaciones celulares, que reaparecen a intervalos regulares, representan etapas del ciclo del epitelio seminífero (11). Estas etapas son divisiones de un proceso contínuo, creadas arbitrariamente por el hombre para poder determinar o medir el proceso de la espermatogénesis (5).

Existen dos técnicas para el estudio de las etapas:

1. Basada en el desarrollo del sistema acrosómico de los espermátides en desarrollo. Este método describe catorce etapas.
2. Basada en el desarrollo morfológico de las células, que divide la espermatogénesis en ocho etapas (12).

Con la primera técnica, Berndston and Desjardins (6) definieron doce asociaciones celulares dentro del epitelio germinal del bovino (Figura 10).

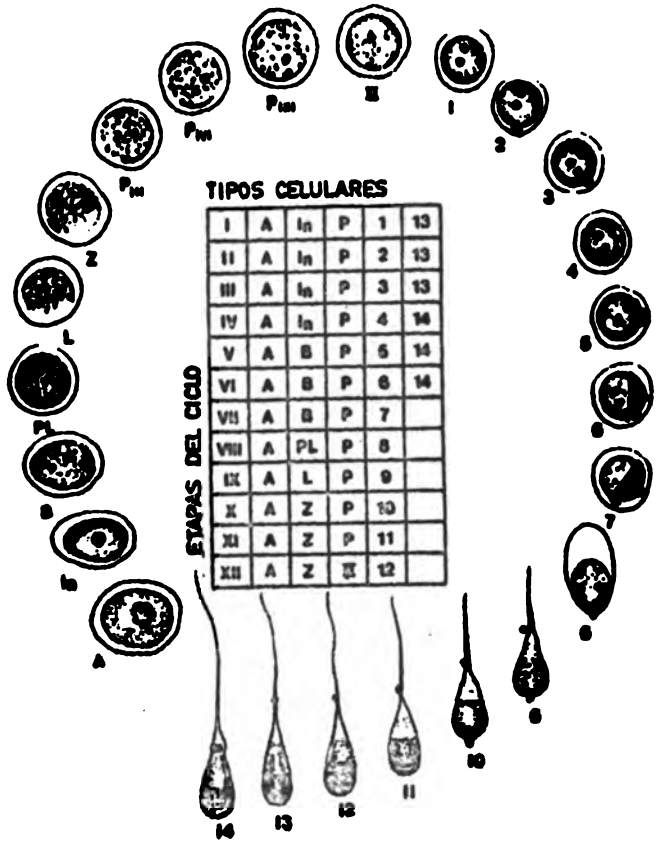


Figura 10: Etapas de la espermatogénesis en el toro. El cuadro central indica las asociaciones celulares de las doce etapas del ciclo del epitelio seminífero. A, In y B = diferentes espermatogonias. L, Z, P = espermatocitos en meiosis. II = espermatocitos secundarios. 1 á 14 = etapas de la espermiogénesis.
Fuente: Berndston, W.E. and Desjardins, C. (6).

C. Ciclo del Epitelio Seminífero

Un ciclo completo de esas etapas, dependiente en el tiempo, se denomina ciclo del epitelio seminífero y se define como: " una serie de cambios en un área dada del epitelio seminífero, entre dos apariciones de las mismas etapas de desarrollo" (19, 24).

El ciclo también puede ser definido como una serie completa de asociaciones celulares sucesivas, apareciendo en un área dada del epitelio seminífero (11).

La duración del ciclo es el intervalo entre la aparición de la espermatogonia madre y la liberación de espermatozoos que se producen a partir de ella (24). El número de etapas que componen el ciclo varía con las especies (11).

La existencia del ciclo se deriva de:

1. La duración constante del proceso espermatogénico.
2. Renovación y desarrollo cíclico de las células "madre".
3. Evolución sincronizada de las células "madre" y sus descendientes a lo largo de un área determinada del TS (12).

La constancia en la duración del proceso está dada porque una nueva generación de células germinales comienza a desarrollarse antes que la generación anterior se haya desarrollado completamente. Nuevas generaciones comienzan a desarrollarse a intervalos periódicos definidos en relación fija con las generaciones precedentes (25).

En la etapa I del ciclo, cada espermatogonia madre quiescente produce dos células hijas. Estas no son idénticas. Una de ellas continúa dividiéndose hacia las siguientes etapas del ciclo. La otra produce sólo una célula que sigue la diferenciación u otra que se vuelve quiescente por el resto del ciclo (25). Estas se denominan espermatogonias A_o o de reserva, que no son parte del pool proliferante y son extremadamente resistentes a radiaciones o agentes tóxicos (2).

Esto introduce dos conceptos:

- La constancia del fenómeno en el tiempo.
- Su coordinación en el espacio (12).

D. La Onda Espermatogénica.

La sucesión de las asociaciones celulares ocurren no sólo a través de una sección sino también a lo largo del TS. Por lo tanto, una porción del túbulo mostrando un tipo de asociación celular es seguida de una porción en la etapa inmediata posterior en el ciclo del epitelio seminífero. Hay una continuidad de orden segmental. Cada serie espacial completa de asociaciones celulares se denomina una onda espermatogénica (24) u onda del epitelio seminífero (19). (Figura 11).

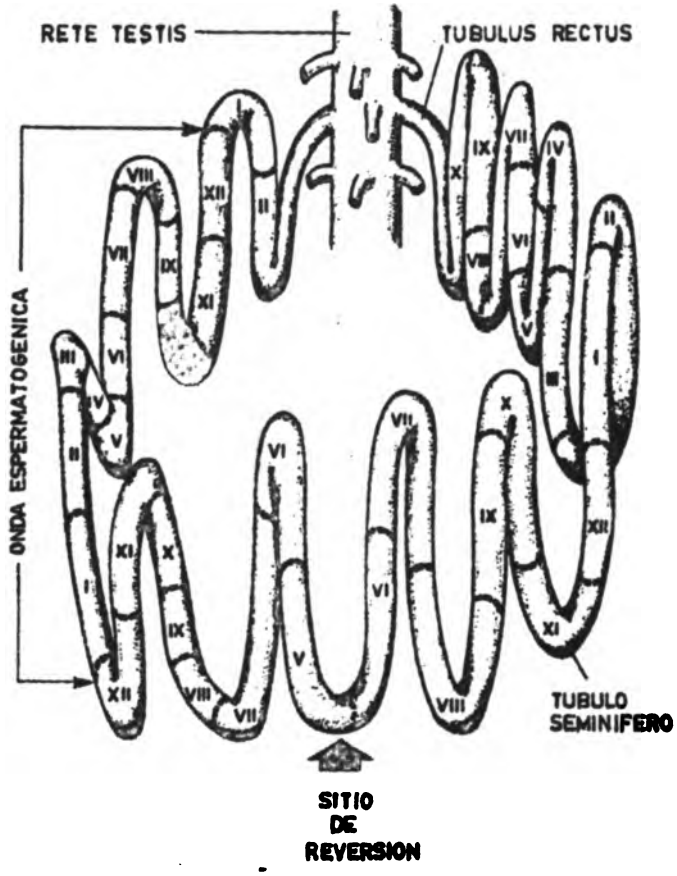


Figura 11: Representación esquemática de la onda espermatogénica, mostrando la sucesión de etapas del ciclo del epitelio seminífero.
Fuente: Hafez, E.S.E. (19).

El fenómeno de la onda es el resultado de:

a. desarrollo sincronizado de grupos de células, y

b. dispersión progresiva de este desarrollo en áreas adyacentes del TS.

Existen irregularidades o brechas en este orden secuencial, llamadas modulaciones, que ocurren ocasionalmente y se extienden por relativamente cortas longitudes del TS (19) (Figura 12).

El orígen de estas modulaciones está dado por sub-unidades del TS, donde la espermatogénesis comienza primero.

Debe existir un factor de coordinación que actúe localmente y gradualmente en todo el túbulo, imponiendo un orden en la sucesión de ondas. El fluído testicular puede ejercer este rol y las células de Sértoli están relacionadas a él, ya sea liberando la inhibición de las células o por intercambios nutritivos y/o hormonales (12).

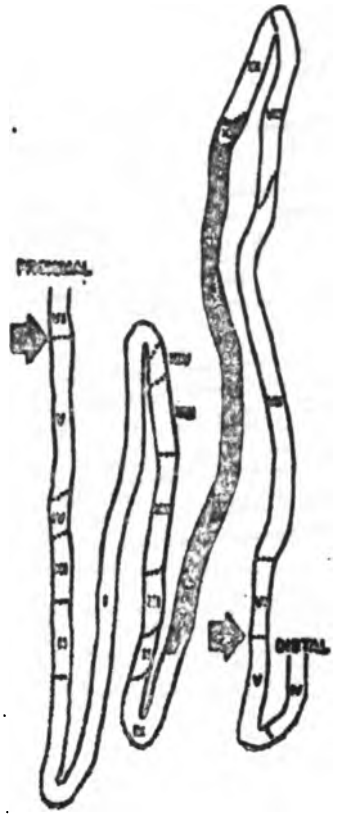


Figura 12: Porción del túbulo seminífero mostrando la sucesión de las etapas del ciclo del epitelio seminífero. El área sombreada muestra una modulación, o la alteración de la secuencia normal de etapas. Fuente: Berndston, W.E. (5).

El ciclo del epitelio seminífero debe ser distinguido claramente de la onda. Mientras que el primero es un fenómeno histológico dinámico ocurriendo a un tiempo en cualquier área del TS, la onda no tiene significación cinétoca. Se refiere a una más o menos ordenada distribución de asociaciones celulares a lo largo del TS a cualquier tiempo dado. (11)

E. Duración del Proceso Espermático

Mientras que el fin del proceso puede ser fácilmente definible por la liberación de espermatozoos a la luz del TS, el comienzo es más difícil de precisar. La primera división espermatogónica no es fácilmente detectable y por lo tanto la duración del proceso se expresa a menudo en función de la duración del ciclo del epitelio seminífero (12).

El tiempo necesario para completar un ciclo del epitelio seminífero varía entre especies. En el toro, es de 13,5 días (10,3 días el carnero). En general se requieren entre cuatro y cinco ciclos epiteliales antes que la espermatogonia A del primer ciclo haya completado la metamorfosis de la espermatogénesis (19). (Figura 13).

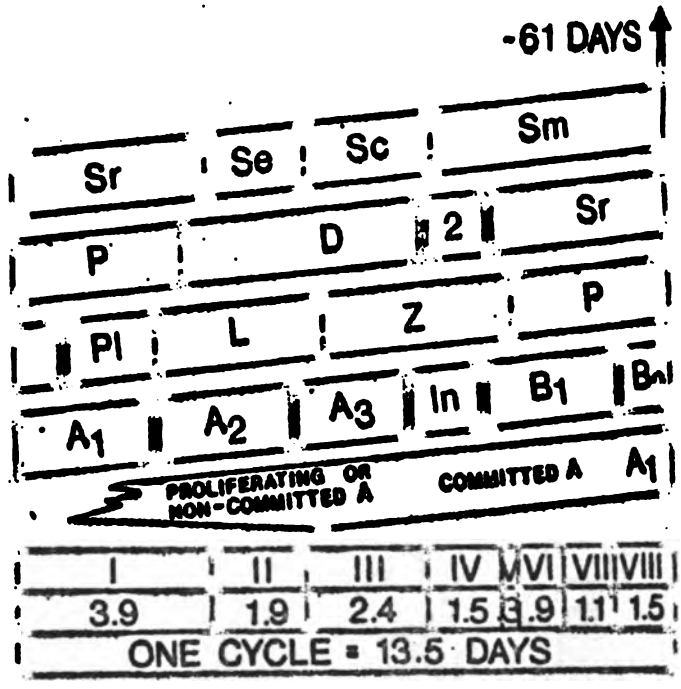


Figura 13: Ciclo del epitelio seminífero en el toro. La membrana basal está abajo y la luz del TS arriba. Cada una de las cinco bandas superiores, representa una generación, que madura de abajo hacia arriba. Las columnas representan las ocho asociaciones celulares según la clasificación morfológica.
Fuente: Amann, R.P. and Schanbacher, B.D.

La duración del proceso es de 61 días para el toro, 47 días para el carnero y 74 días para el hombre.

En síntesis, el proceso de la espermatogénesis es cíclico y constante, en condiciones fisiológicas e independiente de variaciones estacionales. El mismo se realiza tanto a lo ancho como a lo largo del TS.

La diferenciación celular, de espermatogonia a espermatozoo se produce a lo ancho del TS, con las células más diferenciadas moviéndose hacia la luz. La diferenciación más importante en este proceso, está dada por el paso de espermatogonia B a espermatocito primario, en que la célula deja el compartimento basal para ubicarse en el adluminal, es decir, del otro lado de la barrera sanguíneo-testicular, aislándose más del organismo.

A lo largo del TS, el proceso se distribuye en etapas, es decir la diferenciación celular comienza en momentos distintos en los diferentes segmentos del TS. Este orden, tiene como motivo el evitar el "embotellamiento" de espermatozoos en la luz del TS, o a la entrada de la rete testis, que se produciría, invariablemente, si todos los espermatozoos de un mismo ciclo y en un mismo TS fueran liberados al mismo tiempo a la luz.

F. Espermiación

Se denomina espermiación al mecanismo por el cual los espermatozoos son liberados de su unión en las células de Sértoli y transportados a través de la rete testis y conductos eferentes hacia el epidídimo. La ruptura de los puentes intercelulares entre los espermátides resulta en la formación de la gota citoplasmática en la región del cuello del espermatozoo (Figura 14).

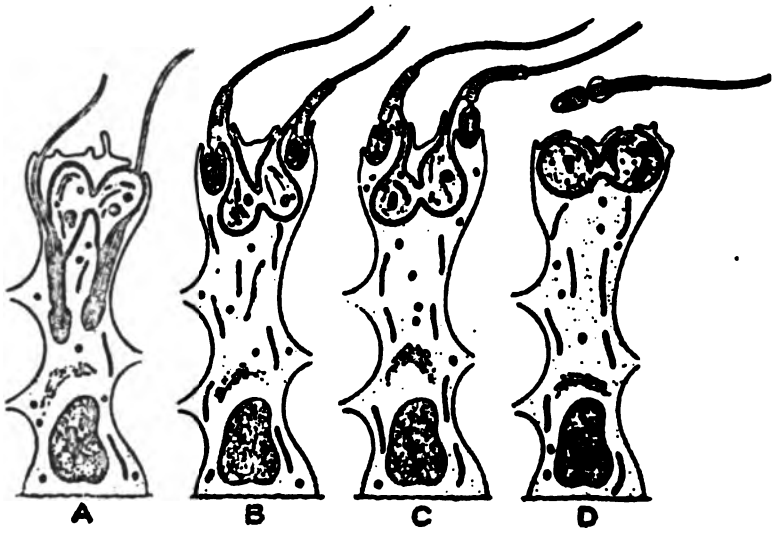


Figura 14: Liberación de espermatozoos (exocitosis) a la luz del TS.
Se muestra la gota citoplasmática y los cuerpos residuales retenidos en la célula de Sértoli.
Fuente: Hafez, E.S.E. (19).

Las células de Sértoli no solamente fagocitan los cuerpos residuales del proceso espermatogénico, sino que también remueven un número considerable de células germinales degeneradas. Este alto número de células degeneradas ocurre porque el proceso espermatogénico es muy ineficiente en el sentido que un gran número de espermatozoos potenciales degeneran antes de alcanzar la madurez.

El transporte espermático hacia el epidídimo está ayudado por el abundante fluído testicular, elementos contráctiles de la cápsula testicular y la pared del TS y por células ciliadas del epitelio de los conductos eferentes (19).

VI. REGULACION ENDOCRINA DE LA FUNCION TESTICULAR

La regulación endócrina del testículo es en varios aspectos, similar a la regulación de la función sexual de la hembra, aunque existen ciertas diferencias.

El sistema está autorregulado por el eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo (HP-AP-T) con su balance hormonal.

A. Hipotálamo (HP)

El HP integra estímulos del SNC y es generalmente considerado el regulador de la actividad testicular (2). A diferencia de lo que ocurre en las hembras, donde el HP regula el sistema de una manera cíclica, en el macho la función endócrina es tónica. Esto es debido a que los andrógenos producidos y liberados por el feto antes del nacimiento, destruyen el centro cíclico sexual del HP, permaneciendo activo solamente el centro tónico (28). Por lo tanto, la actividad sexual del macho, en condiciones fisiológicas, es tónica y constante.

El HP libera GnRH al sistema porta-hipofisario en forma de pulsos leves, desde donde alcanzan los gonadotrofos de la hipófisis anterior (AP) y promueven la descarga pulsátil de LH y FSH (2). La retroacción de las hormonas hipofisarias en el HP no está claramente establecida como en la hembra. Lo que sí está establecido es la acción de las hormonas testiculares a nivel del HP. La testosterona ejerce una retroacción negativa en el HP, disminuyendo la tasa de secreción de GnRH. En realidad, la hormona responsable de esta retroacción no es la testosterona, sino los estrógenos. La T es la hormona circulante, pero a nivel central es aromatizada a 17 β-estradiol que es en definitiva la hormona que actúa en el HP (9)(Fig.15)

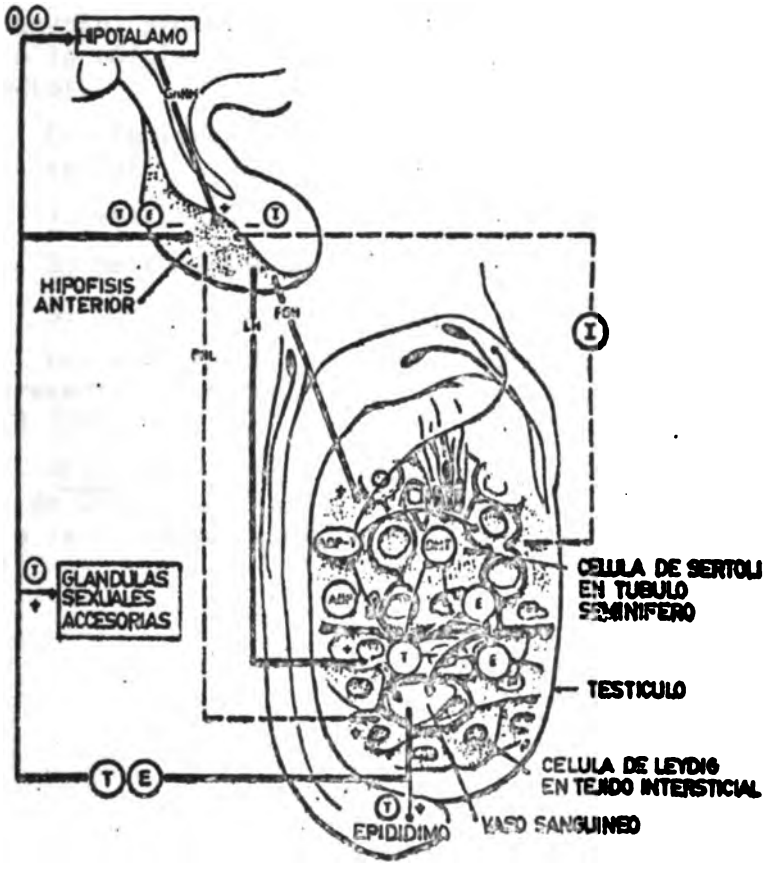


Figura 15: Interrelaciones hormonales en el control de la función reproductiva del macho.
I = inhibina;
T = testosterona;
E = estrógenos;
PRL = prolactina.
Descripción en el texto.
Fuente: Amann, R.P. and Schanbacher, B.D. (2)

B. Hipófisis (AP)

LH y FSH son esenciales para el funcionamiento normal de las células de Leydig y de Sértoli respectivamente. La T a su vez ejerce su acción a nivel de la AP, controlando la secreción de LH.

Existe un factor no esteroide, denominado inhibina, que se origina en las células de Sértoli y es el principal regulador de la FSH (2).

C. Testículo (T)

El testículo completa el eje HP-AP-T, por medio de la secreción de T y posiblemente estrógenos, y la inhibina que actúa a nivel del HP o AP, cerrando el sistema.

Acciones de FSH y LH en el testículo

+ LH. Estimula la producción de andrógenos por el testículo. Bajo condiciones fisiológicas, FSH puede regular la receptividad del testículo a la estimulación por LH. La receptividad de las células de Leydig a LH está determinada por las concentraciones circulantes de FSH. Esta hormona es capaz de inducir receptores para LH en las células de Leydig y, por lo tanto, modular la respuesta esteroidogénica de LH (4).

Existen muchos paralelismos entre la regulación hipofisaria de la esteroidogénesis en el testículo y en el ovario. La LH, actuando a nivel de las células de Leydig, promueve la producción de T a partir de colesterol. Esta hormona, pasa a la célula de Sértoli donde, bajo la acción de FSH es aromatizada a 17 β-estradiol.

El significado fisiológico de la síntesis de estrógenos en la célula de Sértoli sería:

1. Iniciación de la espermatogénesis
2. Metabolismo de las células instersticiales
3. Control de la maduración de las células de Leydig (15)

Los estrógenos, además, inhiben la acción de LH en las células de Leydig y representan un mecanismo de regulación de receptividad de las células de Leydig a LH (20).

+FSH. Además de las acciones sinérgicas con LH, actúa a nivel de las células de Sértoli estimulando la formación de ABP. Esta es una proteína que se liga a la T, manteniendo un nivel más alto de esta hormona en el TS (21)(Figura 16).

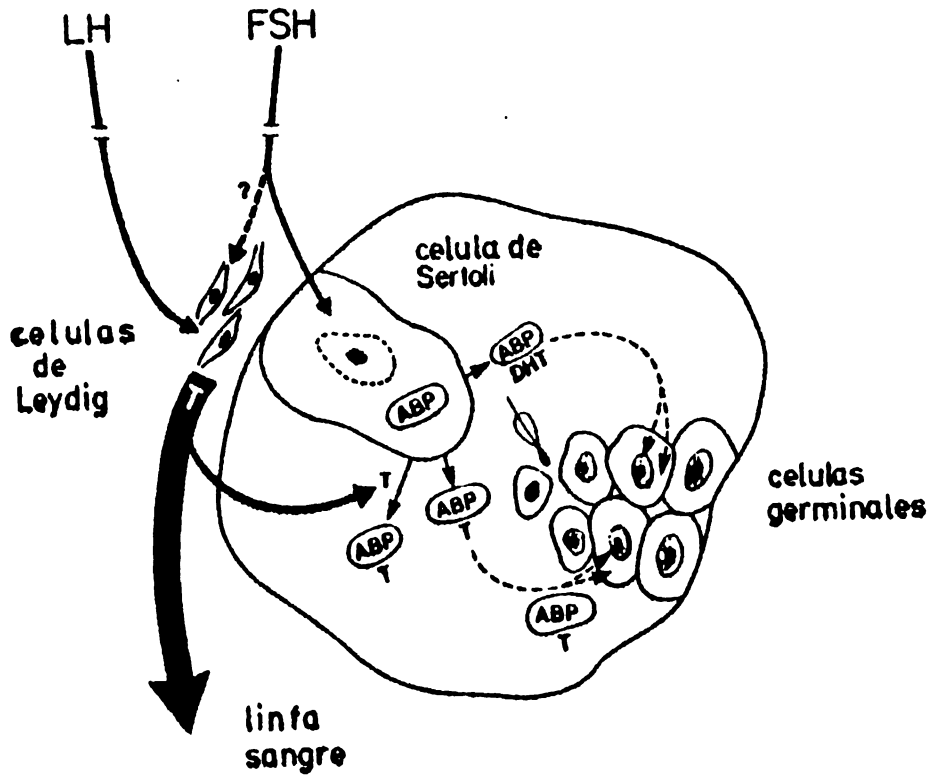


Figura 16: Control endócrino de la espermatogénesis. T = Testosterona; DHT = dihidrotestosterona; ABP (androgen-binding-protein)= proteína ligante de andrógenos.
Detalles en el texto.
Fuente: Hansson, V. *et al.* (20).

Regulación hormonal de la espermatogénesis

La célula de Sértoli es la única célula somática dentro del TS. Esta célula, en gran medida dicta el desarrollo y mantenimiento de la espermatogénesis y está regulada por la T y FSH (23).

Las hormonas son esenciales en la espermatogénesis desde la etapa de espermatocito en adelante, pero no en etapas más tempranas (21).

LH afecta la espermatogénesis controlando la producción de andrógenos e indirectamente regulando el desarrollo testicular.

FSH actúa sinérgicamente con LH iniciando la producción de andrógenos. Tiene acción sinérgica con LH en el desarrollo de espermátides y espermatozoos maduros (21). Es una de las reguladoras principales de la exocitosis en la célula de Sértoli (23).

Otras hormonas que intervienen en la fisiología testicular, aunque no directamente en la espermatogénesis, son las prostaglandinas (PG). Los testículos poseen la capacidad de sintetizar y metabolizar PG y son aparentemente uno de los sitios de acción de estas hormonas.

Son potentes estimuladoras de la contracción del músculo liso del testículo, un efecto que puede contribuir al transporte espermático y al aumento de la circulación testicular.

Por otra parte, PG F_{2a}, E_1 y E_2 disminuyen el flujo sanguíneo testicular y la formación de T.
Pueden actuar disminuyendo la fertilidad (10).

VII DESARROLLO TESTICULAR Y COMIENZO DE LA ESPERMATOGENESIS

Pubertad

La pubertad comienza cuando un macho produce por primera vez suficientes espermatozoos para preñar una hembra. Por razones prácticas, la pubertad en toros se define como la edad en la cual se obtiene por primera vez un eyaculado conteniendo 50 x 10^6 espermatozoos con por lo menos 10% de motilidad (2).

La cronología de eventos que lleva al desarrollo testicular y establecimiento de la espermatogénesis en toros se puede resumir de la siguiente manera:

a. Comienzo de la espermatogénesis a los 4 - 6 meses.
b. Células de Sértoli aparecen por primera vez a los 5 meses y se completan hacia los 7 meses.
c. Peso testicular aumenta 3 veces entre los 6 y 8 meses.
d. Formación de luz en los TS entre los 6 y 7 meses.
e. Espermatocitos en meiosis hacia los 7 meses.
f. Comienzo del funcionamiento de la barrera sanguíneo-testicular a los 7 meses.
g. La eficiencia de la producción espermática alcanza el nivel adulto 6 meses luego de la iniciación de la espermatogénesis, o sea hacia los 12 meses de vida (13) (Figura 17)

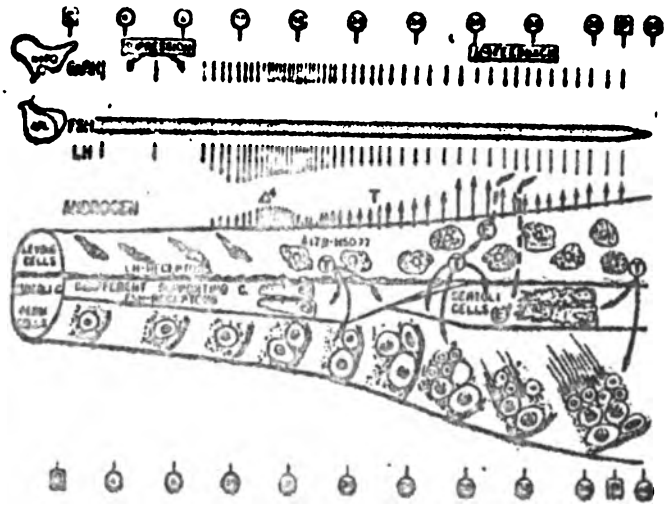


Figura 17: Secuencia de eventos en el desarrollo neuroendócrino, diferenciación de los testículos e iniciación de la espermatogénesis entre el nacimiento (B) y la pubertad (P) en toros. Fuente: Amann, RP y Schanbacher (2)

Regulación hormonal

Los niveles de LH y T son bajos por varios meses luego del nacimiento, pero aumentan a los 5 a 6 meses. Uno de los momentos críticos en la iniciación de la pubertad es un cambio en la sensibilidad del HP a la retroacción negativa de los esteroides.

Durante el período prepuberal, hay una infrecuente secreción de gonadotropinas y poca secreción de esteroides gonadales y una ausencia de secreción de GnRH

La pubertad está asociada a un aumento en la secreción de gonadotropinas, secreción de T en respuesta a LH e iniciación de la espermatogénesis. El aumento en la secreción de gonadotrofinas marca el fin del período prepuberal, que termina con la liberación del primer espermatozoo por el TS.

La secuencia de eventos durante este período es:

1. Iniciación de la descarga pulsátil de LH.
2. Diferenciación de las células de Leydig inducida por LH y estimulación de la secreción de T.
3. Diferenciación de las células de Sértoli inducida por T y diferenciación de gonocitos a espermatogonias tipo A.
4. Aumento de la sensibilidad del HP-AP a la retroacción negativa de T.
5. Disminución de la frecuencia y amplitud de la descarga de LH (3).

El comienzo de la espermatogénesis se esquematiza en la figura 18.

H O R M O N A S: COMIENZO DE LA ESPERMATOGENESIS EN EL MACHO PREPUBER

Espermatogonia Tipo A → Espermatogonia Tipo B → Espermatocito Primario Profase Meiótica

HORMONAS: NO SE REQUIEREN

Espermatocito Primario (Profase) → Espermatocito Primario (Metafase) → Espermatocito Secundario

↑

HORMONA : TESTOSTERONA

Espermatocito Secundario → Espermátida → Espermatozoo Inmaduro → Espermatozoo Maduro

HORMONAS: FSH y LH (Poco) ↑ FSH y LH (Sustancial) ↑ ↑ Testosterona

Figura 18: Comienzo de la espermatogénesis en el macho prepúber.
Acción hormonal.
Fuente: Lostroh, A.J. (21).

VIII EPIDIDIMO

El epidídimo corre paralelo al borde posterior del testículo y desde el punto de vista funcional, se reconocen tres secciones: cabeza, cuerpo y cola, aun que consta de varias regiones citológicamente diferentes (2, 19). En la cabeza, un número variable de conductos eferentes (6 a 20) se unen para formar el ducto del epidídimo (19).

El segmento inicial (cabeza) está recubierto por un epitelio alto, y de luz estrecha. La función principal es la de reabsorción del fuído testicular.

El segmento medio (cuerpo), de epitelio más bajo, luz más amplia y mayor concentración de espermatozoos tiene importancia en la maduración espermática.

El segmento terminal (cola) de epitelio bajo, luz amplia y gran concentración de espermatozoos cumple fundamentalmente funciones de almacenamiento de espermatozoos (26).

Los espermatozoos que entran al epidídimo son infértiles, pero adquieren capacidad fecundante durante el proceso de maduración.

El movimiento de espermatozoos a través del epidídimo se realiza principalmente por contracciones peristálticas del músculo liso que rodea el ducto del epidídimo. En la cola, las contracciones son mucho menos frecuentes excepto cuando es estimulado para contraerse (exitación sexual) (2).

En el epidídimo los espermatozoos adquieren:

1. Capacidad de movimiento vibratorio y circular y luego movimiento progresivo. El mecanismo por el cual está dado por un aumento en los niveles de intracelular. Esto lleva a movimiento vibratorio. Conversión de este movimiento vibratorio a progresivo por una "proteína de motilidad progresiva".
2. Capacidad fertilizante.
3. Modificación de las dimensiones espermáticas.
4. Migración y pérdida de la gota citoplasmática.
5. Aumento de la susceptibilidad al shock de frío.
6. Aumento de la carga negativa de la superficie.
7. Reducción del punto isoeléctrico.
8. Aumento de los puentes disulfito.
9. Cambios en lípidos y proteínas y en la composición antigénica.
10. Modificación de la actividad enzimática.
11. Alteración de la unión de lecitina a la superficie celular.

Cual de estos cambios (si alguno) es de importancia fundamental para el proceso de reconocimiento espermatozoo-óvulo y fertilización, no está aún establecido.

Hasta el momento, la hipótesis más atractiva es que la alteración de la superficie espermática por la adición o sustracción de proteínas o modificaciones de las existentes lleva a la exposición de receptores de superficie adecuados para permitir un reconocimiento específico de especies entre espermatozoo y óvulo que es integral al proceso de fertilización.

El proceso de maduración espermática es andrógeno-dependiente. Estos actúan regulando la síntesis proteica dentro del tejido epididimario. También se requieren para mantener la fertilidad de los espermatozoos maduros almacenados en el epidídimo.

Los andrógenos llegan al epidídimo a través del fluído de la rete testis y por la corriente sanguínea. Hay cierta evidencia que el epidídimo puede sintetizar algo de andrógenos.

La testosterona es el principal andrógeno y su concentración es similar a la de ABP, lo que sugiere que esta proteína actúa como una molécula de transporte para llevar la testosterona del testículo al epidídimo.

Hay un marcado cambio en los constituyentes androgénicos a medida que el líquido entra en el epidídimo. Dihidrotestosterona (DHT) se vuelve el andrógeno predominante. Esta conversión se hace por la 5α reductasa, localizada en el epitelio (8).

Transporte espermático a través del epidídimo

Es de 11 días para el toro (13 días en el carnero). El tiempo requerido para este transporte no se altera por eyaculaciones frecuentes (2), aunque hay quienes postulan que el mismo puede ser reducido a un 10 a 20% (19). Lo que sí se puede reducir es el número de espermatozoos en la cola del epidídimo (2).

Destino de los espermatozoos no eyaculados

Dado que los espermatozoos, producidos en forma contínua, entran a la cola del epidídimo a un ritmo constante, también deben abandonar el ducto con una frecuencia similar (2). En términos generales, la mitad de los espermatozoos producidos se reabsorben en el conducto deferente y las ampollas (toro) o son eliminados por la orina (carnero). El epidídimo, además, realiza una eliminación selectiva de espermatozoos anormales por medio de macrófagos de su luz (19).

IX PRODUCCION ESPERMATICA

Cuando se evalúa la espermatogénesis, el punto final importante es el número de espermatozoos potencialmente fértiles producidos (2).

Producción espermática diaria

Puede ser definida como el número total de espermatozoos producidos por los dos testículos; es muy difícil de medir (1).

Eficiencia de la producción espermática

Influenciada por la edad, factores ambientales, hormonales y drogas. Individuos adultos normales de una determinada raza o especie tienen una eficiencia bastante uniforme de producción espermática. Esta está dada por el número de espermatozoos producidos por día, por gramo de parénquima testicular (1).

Obtención diaria de espermatozoos

Es el número total de espermatozoos eyaculados, colectados durante un cierto período de tiempo, expresado en una base diaria. Si un macho es colectado a una frecuencia suficientemente alta, la obtención diaria se puede aproximar a la producción diaria.

BIBLIOGRAFIA

1. AMANN, R.P. Sperm Production Rates. In: The Testis. Ed. by J.A. Johnston, W.R. Gomes & N.L. VanDemark. 1a. ed. Academic Press, NY, USA. Vol. I p. 433-482. 1970.

2. AMANN, R.P. & B.D. SCHANBACHER. Physiology of Male Reproduction. J. Anim. Sci. 57 (Suppl.2): 380-403. 1983.

3. AMANN, R.P. & O.A. WALKER. Changes in the pituitary-gonadal axis associated with puberty in Holstein bulls. J. Anim. Sci. 57:433-442. 1983.

4. BARTKE, A.; A.A. HAFIEZ; F.J. BEX & S. DALTERIO. Hormonal interactions in regulation of androgen secretion. Biol. Reprod. 18:44-54. 1978.

5. BERNDSTON, W.E. Methods for quantifing mammalian spermatogenesis: A Review. J. Anim. Sci. 44:818-833. 1977.

6. BERNDSTON, W.E. & C. DESJARDINS. The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. Am. J. Anat. 140. 167-180. 1974

7. BLOOM, W. & D.W. FAWCETT. A Testbook of Histology. Ed. By W.B. Saunders & Co. Philadelphia, USA. 9th. ed. p. 805-836. 1968.

8. BROOKS, D.E. Epididymal functions and their hormonal regulation. Aust. J. Biol. Sci. 36:205-221. 1983.

9. BUTLER, W.R. Apuntes curso Endocrinología. Depto. Animal Science. Cornell University, Ithaca, NY. USA. 1980.

10. CENEDELLA, R.J. Prostaglandins and male reproductive physiology. In: Molecular Mechanisms of Gonadal Hormonal Action. Ed. by: J.A. Thomas & R.L. Singhal. University Park Press. Baltimore, USA. P. 325-358. 1975.

11. CLERMONT, Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. Physiological Rev. 52:198-236. 1972.

12. COUROT, M.; T. HOCHEREAU - De REVIERS & R. ORTAVANT. Spermatogenesis. In: The Testis. Ed. by A.D. Johnston;; W.R.Gomes & N.L. VanDermark. Academic Press, NY, USA. Vol. I. p. 339-432. 1970.

13. CURTIS, S.K. & R.P. AMANN. Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. J. Anim. Sci. 53:1645-1657. 1981.

14. DAVIS, J.R.; D.A. LANGFORD & P.J. KIRBY. The testicular capsule. In: The Testis. Ed. by A.D. Johnston; W.R. Gomes & N.L. VanDermark. Academic Press. NY, USA. Vol. I. p. 282-334. 1970.

15. DORRINGTON, J.H.; J.B. FRITZ & D.T. ARMSTRONG. Control of testicular estrogen synthesis. Biol. Reprod. 18:55-64. 1978.

16. DYM, M. & J.C. CAVICCHIA. Functional morphology of the testis. Biol. Reprod 18:1-15. 1978.

17. FAWCETT, D.W. The mammalian spermatozoan. Developmental Biol. 44:394-436. 1975.

18. GOMES. W.R. & N.L. VanDEMARK. The male reproductive system. Annual Rev. Physiol. 36:307-330. 1974.

19. HAFEZ, E.S.E. Reproduction in farm animals. Ed. by Lea & Febiger. Philadelphia. USA. 4th. ed. 1980.

20. HANSSON, V.; R. CALANDRA; K. PURVIS; M. RITZEN & F.S. FRENCH. Hormonal regulation of spermatogenesis. Vit. & Horm. 34:187-210. 1976.

21. LOSTROH, A.J. Hormonal control of spermatogenesis. In: Regulatroy mechanisms of male reproductive physiology. Ed. by C.H. Spilman et al. Exerpta Medica, Amsterdam, The Netherlands. p. 13-27. 1976.

22. MANN, T. & C. LUTWAK-MANN. Male reproductive function and semen. Ed. by Springer-Verlag. Berlin. NY. 1981.

23. MEANS, A.R.; J.R. DEDMAN; J.S. TASH; D.J. TINDALL; M. VanSICKLE & M.J. WELSH. Regulation of the testis Sertoli cell by follicle stimulating hormone. Am. Rev. Physiol. 45:59-70. 1980.

24. ORTAVANT, R.; M. COUROT & T. HOCHEREAU De Reviers. Spermatogenesis in domestic animals. In. Reproduction in domestic animals. Ed. by: Cole & Cupps. Academic Press, NY, USA. 3rd. ed. p. 203-227. 1977.

25. ROOSEN-RUNGE, E.C. The process of spermatogenesis in mammals. Biol. Rev. 37:343-377. 1962.

26. SETCHELL, B.P. Male reproductive organs and semen. In: Reproduction in domestic animals. Ed. by Cole & Cupps. Academic Press, NY. USA. 3rd. ed. p. 229-255. 1977.

27. SETCHELL, B.P. & G.M.H. WAITES. The Blood-testis barrier. In: Handbook of physiology and endocrinology. Ed. by D.W. Hamilton & R.O. Greeps. Am. Physiol. Soc. Washing on D.C. USA. Sect. 7, Vol. 7. p. 143-172. 1975.

28. VanTHIENHOVEN, A. Reproductive physiology of vertebrates. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA 2nd. ed. 1980.

29. WAITES, G.M.H. Functional relationships of the mammalian testis and epididymis. Aust. J. Biol. Sci. 33:355-370. 1980.

DC:hdsg.

CONSERVACION Y MANEJO DEL BANCO DE SEMEN

ANIBAL DURAN DEL CAMPO

CONGELACION Y MANEJO DEL BANCO DE SEMEN

ANIBAL DURAN DEL CAMPO

I. CONGELACION

El tema inicialmente propuesto para esta charla fue simplemente el de "manejo del Banco de Semen"; estimamos sin embargo, que muchas de las precauciones que deben tomarse en el manejo del mismo, radican precisamente en la intimidad del proceso de congelación en sí, razón por la que haremos una revisión de ésta y agregaremos una pequeña historia de lo que ello ha significado para el desarrollo de la Inseminación Artificial (I.A.).

Antes de 1949, la inseminación artificial se hacía exclusivamente en base a semen fresco diluído, el que promedialmente era utilizado no más allá de 72 horas. Ya había sido un gran avance el conquistado por los investigadores americanos Phillips y Lardy, que en 1939, mediante el agregado al semen de fosfatos de sodio, potasio y yema de huevo, habían logrado controlar durante algunos días la acidificación del medio producido como consecuencia del metabolismo celular.

Así, de 1000 a 2000 hijos que podían obtenerse de un padre, la cifra se elevó considerablemente a 10000 o más. Ya en esa época, el frío a nivel de 4 ó 5°sobre 0, constituía uno de los ingredientes principales para la disminución del metabolismo espermático. De cualquier manera este diluyente sólo permitía la inseminación de las vacas situadas relativamente cerca del Centro de Toros, realizándose sin embargo, envíos a distancias medias e incluso se inician ya algunos envíos trascontinentales.

Simultaneamente, los científicos de varios países, buscaban bajar o anular el metabolismo celular de modo de prolongar indefinidamente o casi, la vida celular. En un laboratorio de la Milk Marketing Boord in Inglaterra, Polge trabajaba en el tema, pero el semen de gallo, toro y cerdo, moría toda vez que la temperatura bajaba mas allá de 0°C. En realidad con raras excepciones, las células de los mamíferos sobreviven más allá de los - 20°C.

En la foto N° 1, vemos la imagen de los espermatozoides, una vez producida una congelación ultrarápida que practicamente era lo mismo que sucedía cuando se congelaba sin la ayuda de elementos cryoprotectores; como puede apreciarse, no hay región del espermatozoide, sea cabeza, cuello o cola, que no se haya visto totalmente desorganizada como consecuencia de la formación de cristales de hielo dentro y fuera de la célula espermática.

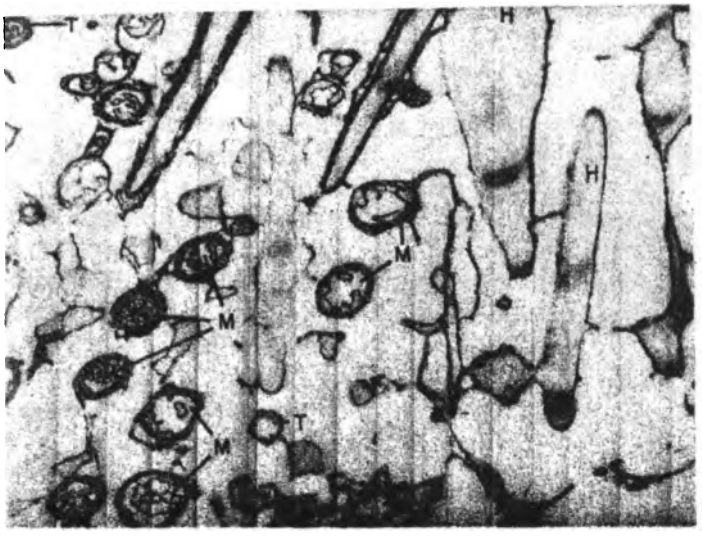


Foto N° 1: Espermatozoides una vez producida una congelación ultrarápida.

En 1949, Polge recibe orden de continuar sus estudios de investigación en la Universidad de Cambridge y traslada allí, todos sus elementos de trabajo. Allí congela semen de toro, por los métodos habituales y para su sorpresa, al descongelar, nota excelente motilidad espermática. Se hace un análisis de todos los elementos que integraban el diluyente y se descubre la accidental presencia del glicerol, a quien se le atribuyen las propiedades cryoprotectoras que se estaban buscando.

Cómo actúa el glicerol en defensa del espermatozoide ?

Durante muchos años se especula con respecto a la forma de encarar esa protección; se dice que puede trazar una fina película protectora a lo largo de todo el espermatozoide. Hay quienes sugieren que el glicerol penetra dentro del espermatozoide impidiendo la formación de cristales; los hay quienes estiman que actúa fuera del nema esperma y dentro del medio diluyente, realizando una función moderadora de la hipertonicidad. En 1966, G.L. Rapatz, realiza una excelente investigación sobre la congelación de líquidos y células en general y en semen de toro en particular. Posteriormente el investigador americano Mazur, extiende sus investigaciones sobre el tema tratando de averiguar lo que sucede cuando: a) se congela una solución salina sin células y sin cryoprotector; b) una solución salina con células y sin cryoprotector c) una solución salina con el agregado de un cryoprotector, pero sin células; d) una solución salina glicerolada con células, o sea una solución espermática.

Rapatz comienza primeramente por congelar soluciones salinas sin células, estudiando al miscroscopio y fotografiando todo lo que va sucediendo a medida que la temperatura va bajando.

Según Rapatz, el cambio físico más importante en la congelación de una solución, es la extracción del agua en forma de hielo fuera del sistema. A su vez comprueba que la velocidad con que el agua es extraída de las soluciones dependerá de:

a. la temperatura de congelación,
b. la velocidad de enfriamiento, y
c. la concentración y naturaleza de la solución.

Asimismo, las características físicas, o sea el tipo y tamaño de las partículas de hielo, dependerán de estos tres factores al punto que variando ellos podrían obtenerse cristales de hielo hexagonales (Foto 2, fig.1), cuando se congela lentamente una solución de glicerol a -35°; formas irregulares (Foto 2, fig.2), cuando se congela rápidamente una solución de sacarosa a -65°; esférulas (Foto 2, fig.3), cuando a velocidades intermedias se congela una solución de glicerol; y finalmente rosetas, cuando se congela gelatina a -25°C (Foto 2, fig.4).

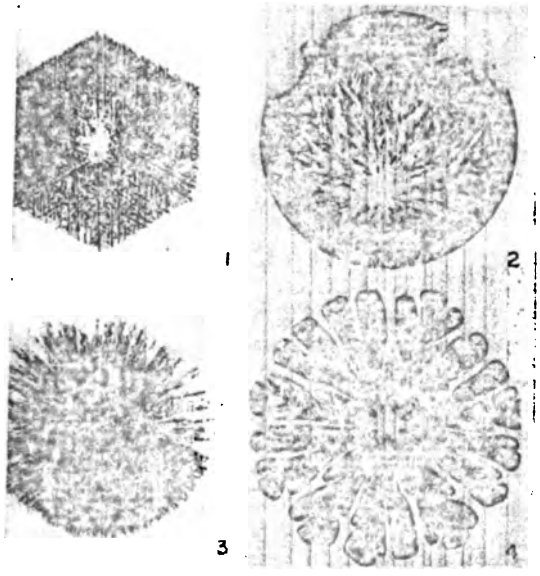


Foto N° 2: Cristales con características físicas de distintas soluciones congeladas

Independientemente del tipo de congelación utilizada, ella determina cambios físicos importantes en la solución; al comienzo de la misma se produce desprendimiento de calor - unas 80 calorías por cada gramo de agua convertida en hielo - prosiguiendo la congelación a medida que el calor producido siga saliendo de la solución. Se produce aquí el primer cambio importante de la solución, dado que al convertirse el agua en hielo, la concentración de las sales aumenta considerablemente y el punto de congelación de la solución baja aún más. Llega un momento en que las sales y el agua aún no congelada comienza a cristalizar simultaneamente; en la Foto N° 3, puede apreciarse una solución congelada de cloruro de sodio al 15% -21°C; a la izquierda, letra C, se observan los canales de la solución salina concentrada aún no congelada entre barras de agua congelada (b).

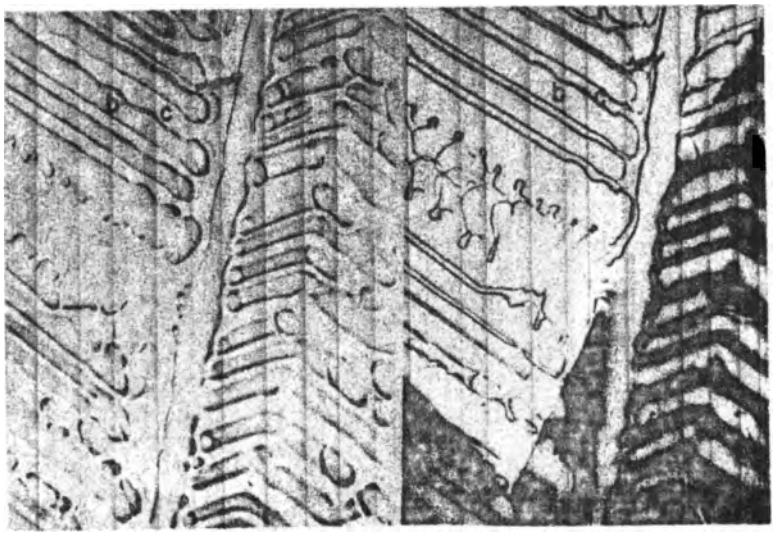


Foto N° 3: Solución congelada de cloruro de sodio.

A la derecha se aprecia la misma solución a 35° bajo 0. Al alcanzar esta temperatura, agua y solución comienzan a congelar simultaneamente, constituyendo ello el punto EUTECTICO de la solución y la temperatura a que se realiza, la temperatura EUTECTICA de la misma. Esta temperatura varía según sean los ingredientes de la solución alcanzando a 4°C, para una solución de dextrosa y - 46°C para una de glicerol.

Al llegar a este punto, Rapatz pudo comprobar otro aspecto sumamente importante según veremos oportunamente en cuanto a la conservación de semen y es la inestabilidad de las soluciones congeladas, toda vez que se varíe la temperatura. En efecto, si ésta varía, el tipo de cristales formados, pueden cambiar de forma y aún integrarse con sus vecinos, hipertrofiándose considerablemente. Este cambio, denominado "recristalización migratoria" puede apreciarse en la Foto N° 4, en la que arriba a la izquierda se observa el tipo de cristales formados en una solución de glicerol al 10%, luego de congelada a - 10°C y a la derecha una hora después, notándose claras diferencias en la forma de los cristales. A la izquierda abajo se aprecia una solución de gelatina al 30% a - 35°C, formando esférulas transparentes y a la derecha, llevada la solución a - 10°C, las mismas esférulas que han recristalizado opacándose totalmente. Más adelante deberemos tener en cuenta el efecto de estas recristalizaciones en la conservación del semen congelado. La estabilidad de las soluciones congeladas, depende de la naturaleza del diluyente y en general, cuando más grande es la molécula, mayor la estabilidad, de donde entonces el gran valor cryoprotector del glicerol.

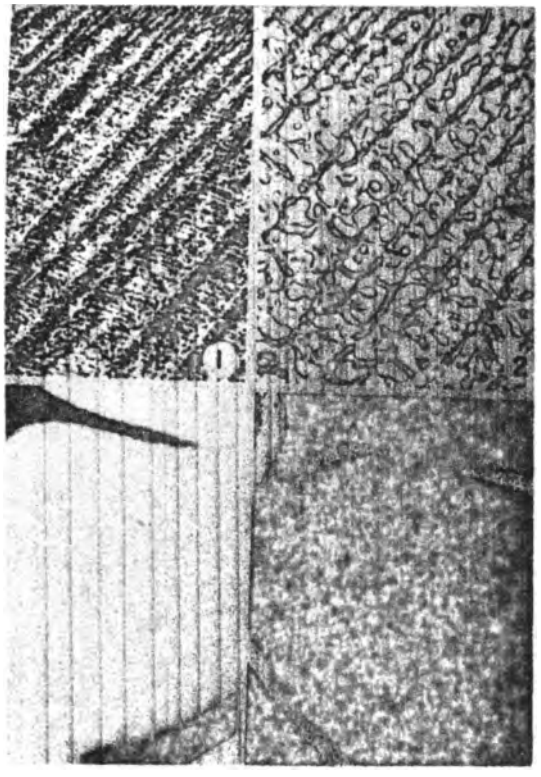


Foto N° 4: Recristalización migratoria.

Hasta ahora, hemos congelado una solución salina sin células; qué sucede si agregamos células a esa solución ?; ya habíamos dicho que la congelación del agua provoca un considerable aumento de la concentración salina, produciéndose una notoria diferencia de potencial químico entre la solución acuosa DENTRO de la célula y aquella fuera de la misma. Al comienzo el hielo comienza a formarse en el medio exterior y a efecto de restablecerse el equilibrio, deberá suceder una de estas dos cosas:

a. el agua fluye fuera de la célula congelando exteriormente y determinando el aumento de concentración salina dentro de la célula; o

b. el agua intracelular congela dentro de la célula aumentando también la hipertonicidad intracelular.

El que suceda una u otra cosa dependerá de la velocidad de congelación y el resultado en ambos casos podrá ser nefasto para la célula. Para Mazur, la velocidad de congelación - o también descongelación - es punto clave en la vida celular, estableciendo la temperatura crítica entre los - 15 a - 150°C.

El efecto de la diferencia de velocidad de enfriamiento, lo expresa Mazur en la Foto N° 5, en la que abajo derecha, al enfriarse la solución lentamente, el agua de la célula sale hacia el exterior, congelando afuera; en la figura del medio, la velocidad es mayor y el agua no tiene tiempo a salir, congelando dentro de la célula y finalmente - arriba - el enfriamiento es muy rápido y la cristalización se realiza dentro de la célula.

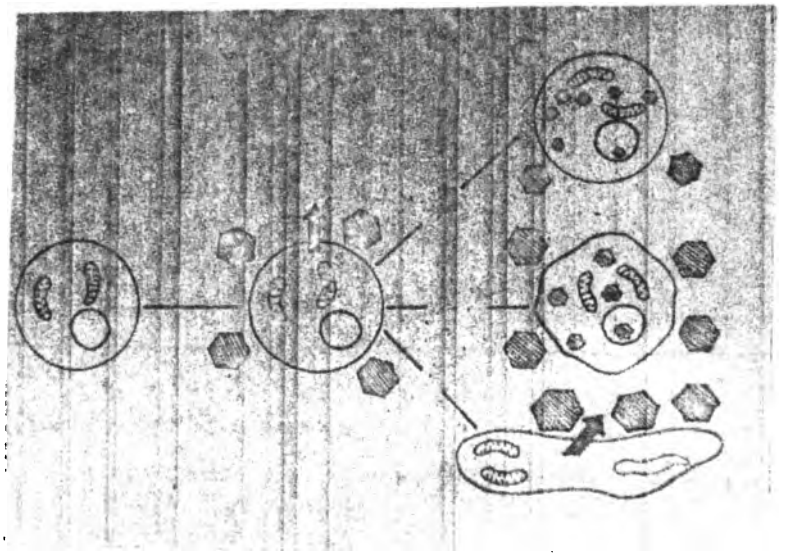


Foto N°5: Diferencia de velocidad de enfriamiento.

Analicemos ahora, la posibilidad de congelar una solución salina sin células, pero con el agregado de un cryoprotector. Según Mazur, la sustancia cryoprotectora - glicerol en este caso- modificaría la hipertonicidad de la solución a través de su propiedad coligativa de reducir la fracción congelada y la concentración salina en la fracción no congelada.

De acuerdo al diagrama que se presenta en la Foto N°6, las soluciones no gliceroladas presentan a idéntica temperatura que las gliceroladas, una superficie no congelada - parte punteada - mucho más chicas que en las soluciones gliceroladas y consecuentemente una solución - parte rayada - de mayor concentración salina.

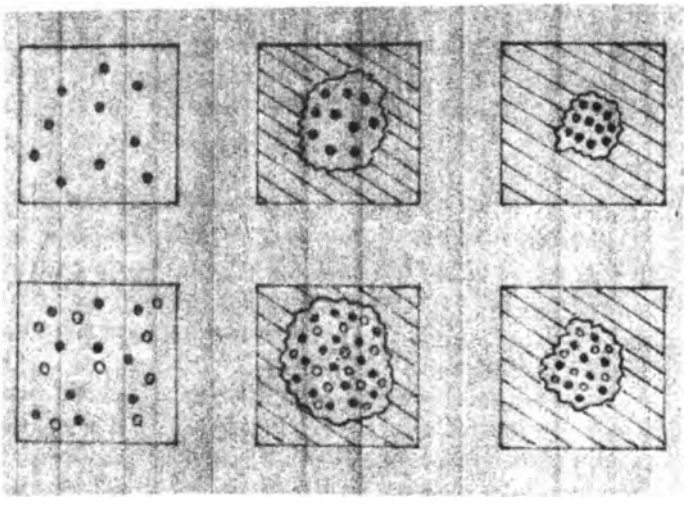


Foto N°6: Comportamiento de una solución salina con o sin agregado de cryoprotectores (glicerol).

Por último tenemos como alternativa la congelación de una solución glicerolada con células o sea una solución espermática.

Comenzado el proceso de enfriamiento, una vez que la temperatura baja por debajo de 0°C, el agua comienza a ser extraída de la solución congelándose en forma de barritas de hielo, mientras los espermatozoides comienzan a disponerse según puede verse en la Foto N° 7, en los canales de la solución aún no congelada. En la foto pueden verse dos cabezas de espermatozoides - S - embebidas en el diluyente (citrato de sodio, yema de huevo y glicerol: S.Y.G.) aún no congeladas y separadas por dos barras de agua ya congeladas.

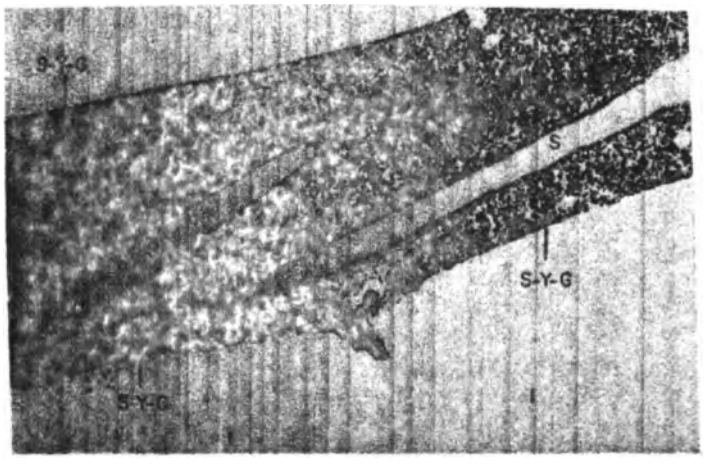


Foto N° 7: Microfotografía electrónica, sacada durante el proceso de congelación de semen.

En esta situación es evidente que al retirarse el agua de la solución para convertirse en hielo, el espermatozoide quedará en un medio hipertónico que le deteriorará en función de esa misma hipertonicidad y del lapso de tiempo a que esté sometido en ella.

Al seguir bajando la temperatura, también la solución hipertónica y el espermatozoide se congelarán. El proceso no es tan simple, porque también el espermatozoide está constituído por 87% de agua y solución salina y ambas deben también congelarse.

La velocidad de congelamiento determinará según expresaramos anteriormente, el que la célula sobreviva o muera, sea por efecto de la hipertonicidad o por formación interna de cristales de hielo. Este proceso ya dijimos es válido tanto para la congelación, como para la descongelación.

En general, se piensa que la velocidad de descongelación debe ser similar a la utilizada para la congelación de ese material y en todo caso, es preferible la descongelación rápida a altas temperaturas. Relativamente altas velocidades de congelación pueden provocar formación de pequeños cristales intracelulares, que al ser descongelados lentamente pueden recristalizar e hipertrofiarse, desorganizando y deteriorando la anatomía celular.

Hoy en día, si bien por razones de comodidad se pregona en términos generales la descongelación del semen de 37°a 40°C se han realizado experiencias con mejores porcentajes de fertilidad descongelando a temperaturas de 100°C durante 7 segundos

En cuanto a la duración de fertilidad en el semen congelado, Mazur estima que hay deterioros del mismo, por problemas de ionización, tan ínfimo que se necesitaría de 3000 a 10000 años para que un material seminal pierda el 50% de su efectividad.

II. MANEJO DE UN BANCO DE SEMEN

Trataremos aquí los puntos que consideramos más importantes en la conservación de la integridad espermática.

a. temperatura y medio de conservación;
b. interacción entre temperatura y tiempo de exposición del semen a temperatura ambiente. Diferencias según se trate de pellets, paillets o ampollas;
c. manejo de termos de Bancos y termos de inseminación;
d. influencia de la conservación en algunas características del semen;
e. diferencias entre conservación dentro de un Banco de semen y un termo de trabajo.

---

a. Temperatura y medio de conservación.

De acuerdo a lo antes dicho, es fácil determinar que una temperatura baja y constante es esencial para la conservación de semen durante largo plazo. Ya vimos como los cambios de temperatura producían recristalizaciones migratorias provocando deterioro celular. De acuerdo a algunas investigaciones, la temperatura mínima capaz de dar estabilidad a una solución, es decir evitar recristalizaciones migratorias, serían los 80°bajo 0. En una experiencia de Van Dermark, comparando semen conservado 24 horas a -79°, -65°, -51°y -37°, comprobó el evidente deterioro de la motilidad por debajo de los -79°0. (Figura 8).

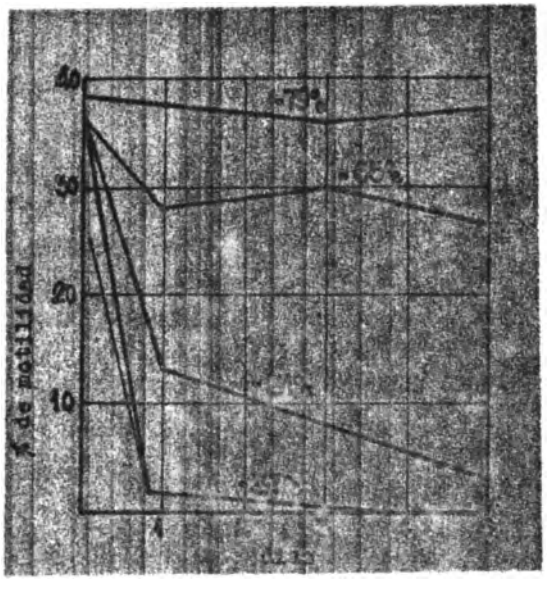


Figura 8: Influencia de distintas temperaturas inferiores a -79°C; en la conservación de semen.

En otra experiencia de Saake en 1978, se notó que paillets llevados momentaneamente de -195°C a -30°C, perdían motilidad en forma notoria aumentando asimismo las lesiones de acrosoma.

En los primeros años que siguieron a la congelación de semen, el material seminal era conservado en hielo seco - anhídrido carbónico sólido - a - 79°bajo 0, lo cual constituía una temperatura límite frente a los riesgos de recristalización. Si bien dicha temperatura era aceptable para la conservación a largo plazo de semen siempre y cuando el material no se manipulara, era evidente que el manejo del semen determinaba aumentos de temperatura que a la larga tendrían que deteriorar el material.

Afortunadamente, alrededor de 1965, comenzó a utilizarse el nitrógeno líquido - 196°C, como elemento de conservación, variando sustancialmente, tanto los procedimientos de conservación, como los de inseminación y hasta de congelación.

La figura 9, expresa las diferencias de fertilidad en semen conservado en nitrógeno y hielo seco, pero estimamos que las mismas no traducen fielmente las enormes ventajas del nitrógeno y no tienen en cuenta la influencia que pueden tener los errores de manejo en uno y otro medio.

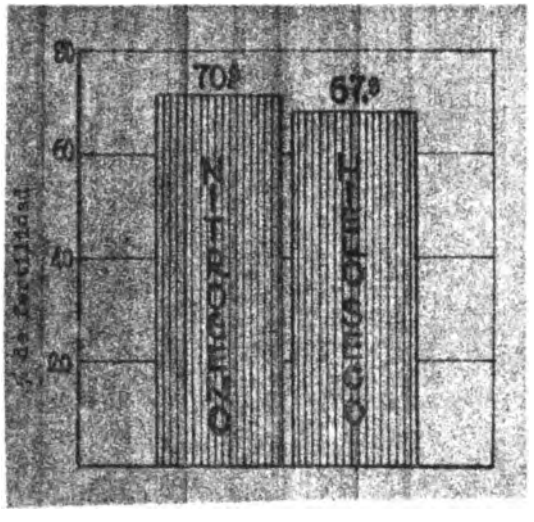


Figura 9: Diferencia en fertilidad de semen conservado en hielo seco y nitrógeno líquido.

b. Interacción entre temperatura y tiempo de exposición del semen, a temperatura ambiente, Diferencias según se trate de pellets, paillets o ampollas.

Otro aspecto importante en el cuidado del semen, no es solamente la temperatura, sino también el tiempo de exposición a temperatura ambiente a que se expone el material cada vez que se le maneja. Ambos factores están íntimamente asociados; cuanto más elevada es la temperatura del semen, menor será el tiempo de exposición que podrá sufrir el mismo sin riesgo de deterioro. A su vez, la temperatura a distintas alturas en la boca de los termos, por donde eventualmente deberá obtenerse el semen, varía considerablemente según puede verse en una experiencia de Saake (Figura 10), en un cuello de termo de 15 cm.

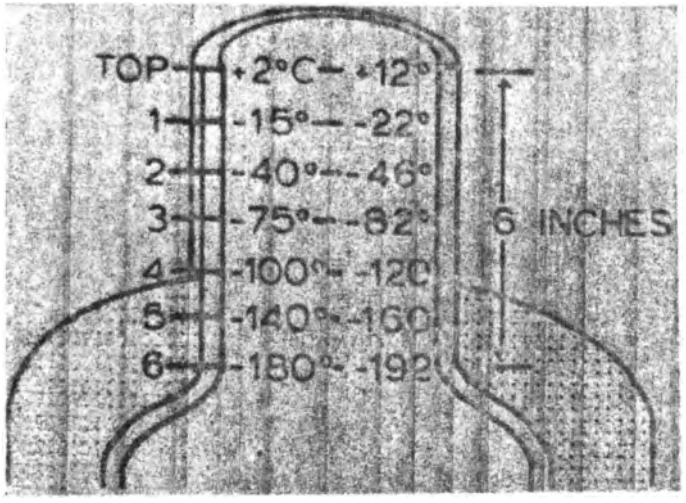


Figura 10 a: Temperatura a distintas alturas en la boca de un termo de 15 centímetros de cuello.

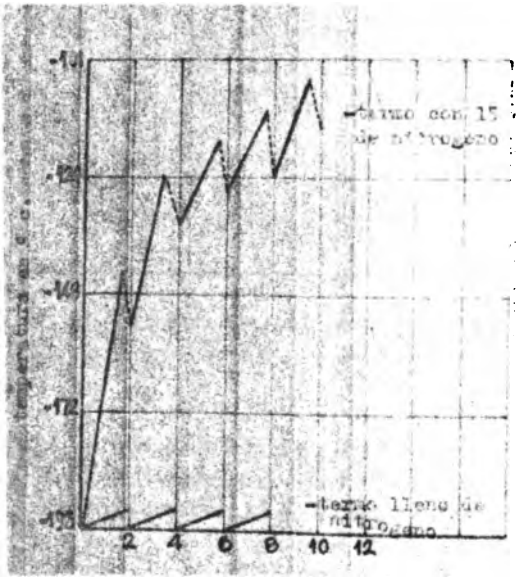


Figura 10 b: Tiempo de exposición (minutos) a nivel de cuello de termo

Puede notarse que mientras en la base del cuello la temperatura alcanza alrededor de los 190°bajo 0, en su parte superior, la misma llega solamente a + 12°. A su vez estas temperaturas dependen de la cantidad de nitrógeno que tenga el tanque subiendo en proporción inversa a la altura del nitrógeno en el termo, de donde entonces la importancia de trabajar con buena altura de nitrógeno.

El problema de los aumentos constantes de temperatura, producidos al exponer el semen cada vez que se procede a inseminar, ha sido estudiado en otra experiencia en la que pellets conteniendo paillets eran expuestos durante 1 minuto a 2 cm de la parte superior del termo, sumergiendolo luego en nitrógeno y repitiendo idéntica operación 5 veces. En la Figura 10a, puede apreciarse la temperatura interna de esos paillets, según el termo tuviese 15 cm de altura o estuviese lleno; mientras en el primero, los paillets en exposición aumentaban de temperatura peligrosamente, en el termo lleno, la misma no sufría casi alteración.

El mismo Saake exponiendo (Figura 11) un paillete durante 50" en la parte superior de un termo a una temperatura de 5°C, obtiene en el paillete una temperatura de -40°, mientras en la parte inferior del cuello a -22°la temperatura se mantiene mucho más baja -60°.

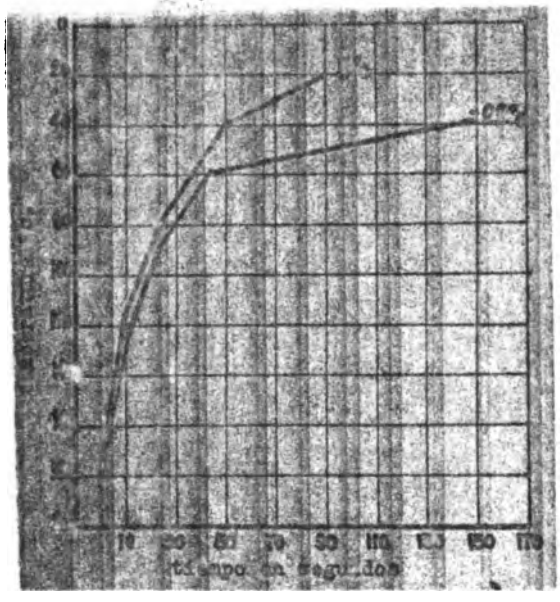
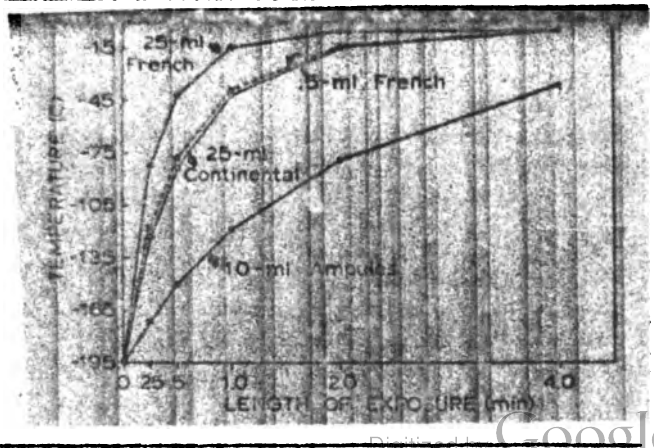


Figura 11: Influencia del tiempo de exposición en la parte superior e inferior del cuello del termo -temperaturas de 5°y - 22°C; respectivamente, en la temperatura interna de paillets de 0,5 ml.

Esencialmente diferente en este aspecto es el comportamiento del semen según se halle congelado en pellets, paillets o ampollas.

En efecto la muy distinta relación superficie/volumen de éstos, los hace vulnerables en forma sensiblemente diferentes. Una experiencia de Berndston y Col. comparando la temperatura interna de ampollas y paillets, expuestos a 20°C sobre 0°, durante varios minutos es altamente demostrativa. La figura 12, nos muestra como mientras al minuto de exposición la temperatura interna dentro de la ampolla había bajado sólo a - 120°C, en cambio la del paillet había llegado a - 15°C.

Figura 12: Temperatura del semen dentro de pajuelas individuales ó ampollas, durante su exposición a condiciones ambientales (20 ± 0.6°C).
(Cada curva representa la media de 5 repeticiones. La curva para ampollas representa la media de temperaturas del semen en los dos extremos de la misma).



En experiencia parecida, los mismos autores exponen ampollas y paillets, a temperatura ambiente durante varias fracciones de tiempo, resultando su motilidad como puede verse en la Figura 13, casi inalterable en las ampollas y muy deterioradas en el paillet

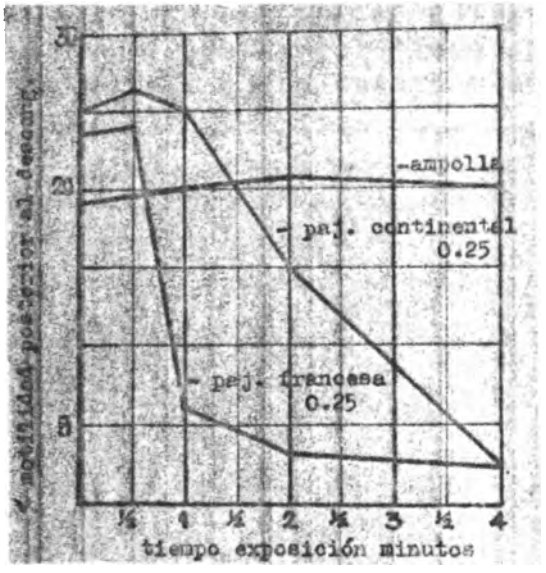


Figura 13: Influencia de exposición a 20°C, durante distintos períodos de tiempo, en la motilidad del semen (ampolla, pajuela continental o francesa) introducido súbitamente en nitrógeno y descongelado luego.

No conocemos experiencias en cuanto a pellets, pero dada su escasa relación sup./vol., entendemos que es capaz de soportar mejor las exposiciones que las ampollas y mucho mejor que los paillets constituyendo seguramente una de las grandes ventajas de este método de congelación.

c. Manejo de termos Bancos y termos de inseminación.

Es importante distinguir aquí el manejo de un semen, en un Banco de conservación, entendiendo por ello el destinado al almacenaje en el Laboratorio, al de un termo de trabajo destinado a inseminación artificial. En primer término, los primeros se distinguen por su mucho mayor tamaño y enorme boca, necesario para el cómodo manejo de los distintos canister y envases de semen. Si bien esa ancha boca constituye una peligrosa pérdida de frío, la temperatura interna del tanque a menos que su altura de nitrógeno sea muy baja, es ciertamente lo suficientemente baja para que el material no pueda deteriorarse.

Especial cuidado debe tenerse cuando se traslada semen desde el Banco de conservación, hacia los termos de inseminación, fundamentalmente cuando de acuerdo a lo visto hace unos momentos, se trata de paillets o minitubos. En ese caso deben tomarse precauciones especiales de modo de disminuir la exposición al mínimo.

A esos efectos es importante hacer los traslados de termo a termo, en pequeños envases especiales llamados goblets, que al contener nitrógeno impiden las variaciones de temperatura.

Berndsten y Col. investigaron la influencia de la exposición de paillets durante varios períodos de tiempo según los mismos, estuviesen o nó protegidos dentro de goblets; la importancia vital de la protección en goblets se nota en la Figura 14, donde se aprecia que la motilidad se mantiene plenamente, mientras que fuera de él, a los cuatro minutos, aquella ya no existe.

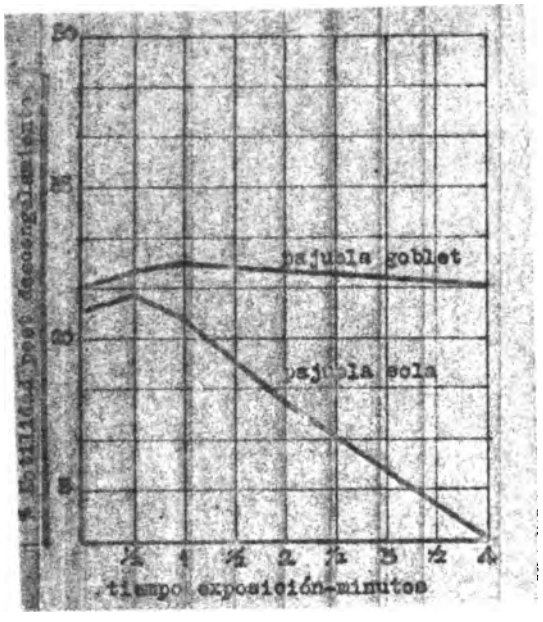


Figura 14: Influencia de exposición a 20°C, durante distintos períodos de tiempo en la motilidad post descongelamiento de pajuelas protegidas o nó en goblets.

En otra experiencia de los mismos autores, en la que se compara la temperatura interna adquirida por paillets según se les exponga protegidos o nó en goblets (Figura 15), puede observarse que mientras a los dos minutos de exposición el paillet protegido conserva -80°C, el no protegido alcanza ya a los -15°C.

Completamente distinto es el manejo de un termo de inseminación dado que en ese caso períodicamente el material seminal debe exponerse por breves períodos de tiempo en la boca del termo, donde ya habíamos visto que la temperatura ascendía notoriamente Debe tenerse en cuenta que cada vez que un canister con semen es ascendido a la boca del termo, el semen -paillet, ampolla o pellet- es expuesto durante algún período de tiempo a altas temperaturas que de ser contínuas terminarán por deteriorar la calidad del semen.

En ese sentido, los paillets o minitubos son los más propensos a deteriorarse. Marcada influencia en ese deterioro lo tiene a la altura del nitrógeno en el termo que provoca distintas temperaturas en su boca; en la Figura 16, puede apreciarse la temperatura interna de paillets expuestos durante cierto tiempo en la boca de termos según tenga éste 15 centímetros de altura o se encuentre lleno, pudiéndose apreciar la amplia diferencia existente.

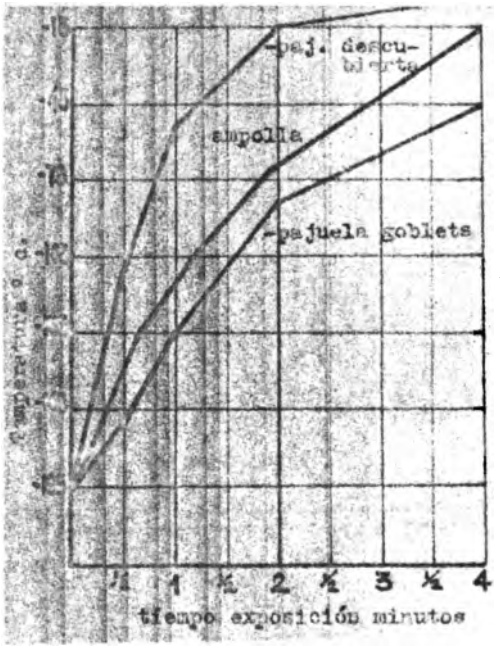


Figura 15: Influencia de exposición a 20°C, en la temperatura interna de pajuelas protegidas o nó en goblets.

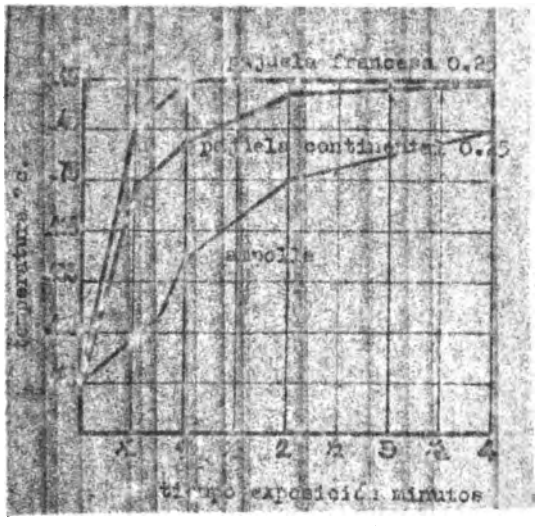
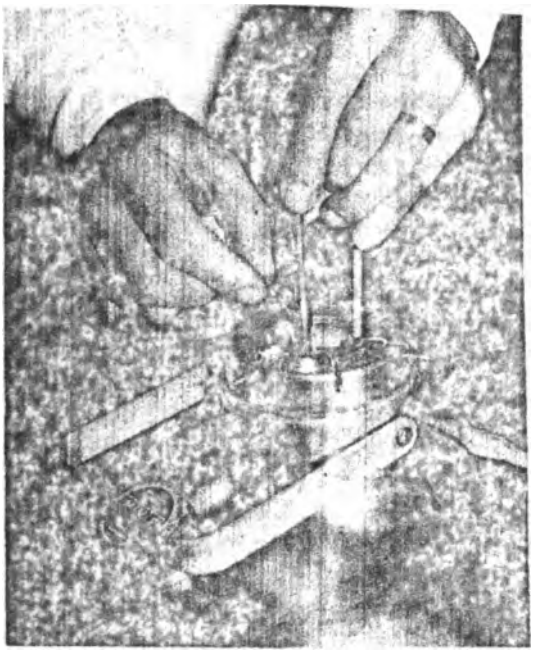


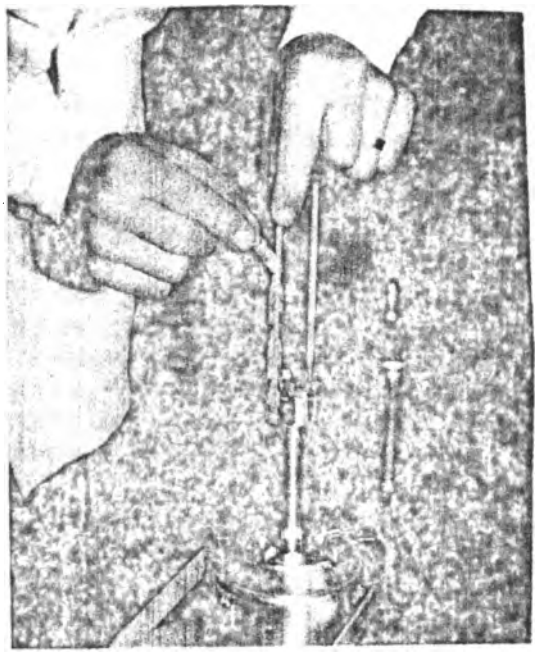
Figura 16: Temperatura interna del semen, según sea ampolla, pajuela francesa o continental, expuesta a temperatura ambiente 20°C, durante distintos períodos de tiempo

Las siguientes fotos, son una muestra de como se debe y como no se debe manejar el semen en los termos de inseminación

MANEJO DE AMPOLLAS



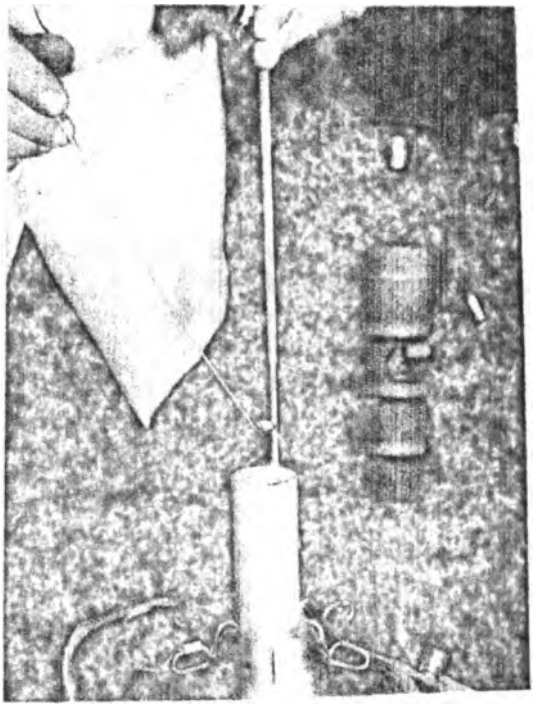
CORRECTO



INCORRECTO

MANEJO DE PELLETS

CORRECTO



INCORRECTO

d. Influencia de la conservación en algunas características del semen

Finalmente queremos señalar algunos problemas referentes a influencia de la conservación en algunas características del semen. Algún autor ha especulado que si bien el semen congelado puede permanecer inalterado de por vida, podría haber, de cualquier manera, un "envejecimiento" del espermatozoide.

En una experiencia con semen fresco de 1 á 5 días Salesbury demostró que los espermatozoides viejos, determinaban un incremento de la mortalidad embrionaria, Lodge estudió el problema comparando la mortalidad embrionaria, a -79°, -196°y semen fresco, no encontrando incremento de la mortalidad embrionaria como consecuencia del aumento del período de conservación.

La cantidad de espermatozoides por dosis y su influencia en cuanto al período de conservación que estudiado por Sullivan y según puede verse en la Figura 17; las dosis de 5.000.000 tienden a decrecer en fertilidad luego de los tres meses, mientras dosis mayores de 10 a 15.000.000 tienden a mantener un índice de fertilidad constante, de donde entonces conviene tomar en cuenta ello, según sea el tiempo que se pretenda conservar un semen.

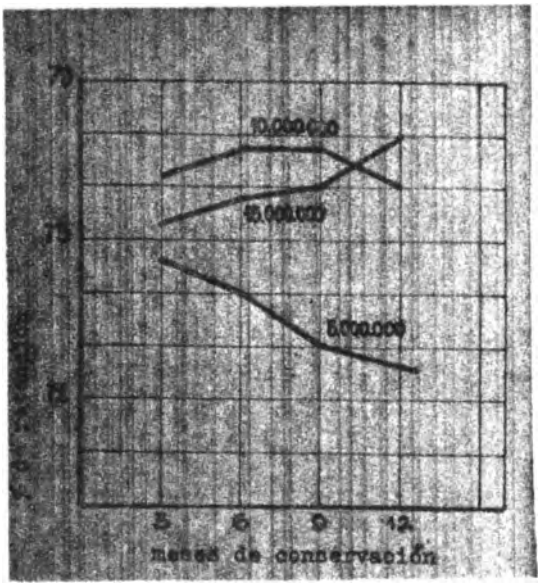


Figura 17: Efecto cantidad de espermatozoides y fertilidad, según tiempo de conservación.

En el mismo sentido, el grado de fertilidad inicial, parecería estar relacionado con el período de conservación; las experiencias de Sullivan demuestran que con toros de alta, media y baja fertilidad, las dosis de 5.000.000 tuvieron resultados muy inferiores en los toros de baja fertilidad, de donde parecerá deducirse que en toros de este tipo, debiera trabajarse con altas dosis de semen. (Figura 18).

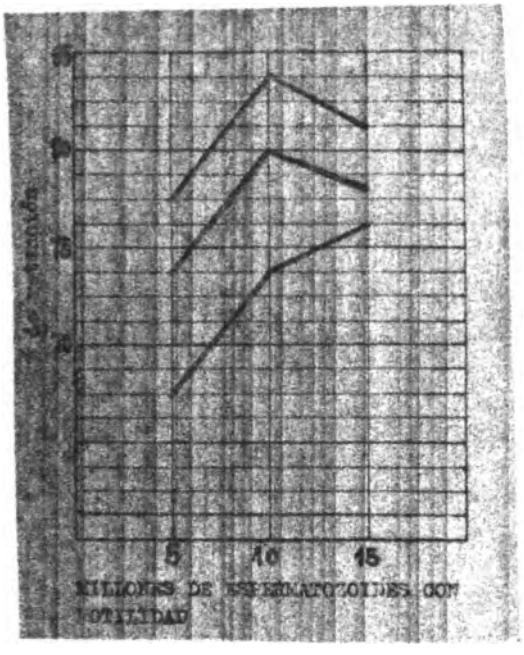


Figura 18: Porcentajes de retención con alta, mediana y baja fertilidad.

_____ toros alta fertilidad 77.9%

_____ toros mediana fertilidad 75.4%

_____ toros baja fertilidad 72.6%

e. Diferencias entre conservación dentro de un Banco de semen y un termo de trabajo.

Pace y Col. investigaron la diferencia que pudiese existir entre el mantenimiento de semen en un Banco de conservación y en termo de inseminación; luego de seis meses de experiencia en que consideraron que en el termo de inseminación cada canister había sido ascendido unas 480 veces, la motilidad, % de acrosomas intactos, contenido de acrosin y GOT (Glutamic Oxaloacetic Transaminasa) acusó diferencias favorables en todos los aspectos, al semen mantenido en Banco (Cuadro 1).

Cuadro 1: Influencia de conservación sobre varias características en el semen en Termo Banco y Termo Campo, durante seis meses.

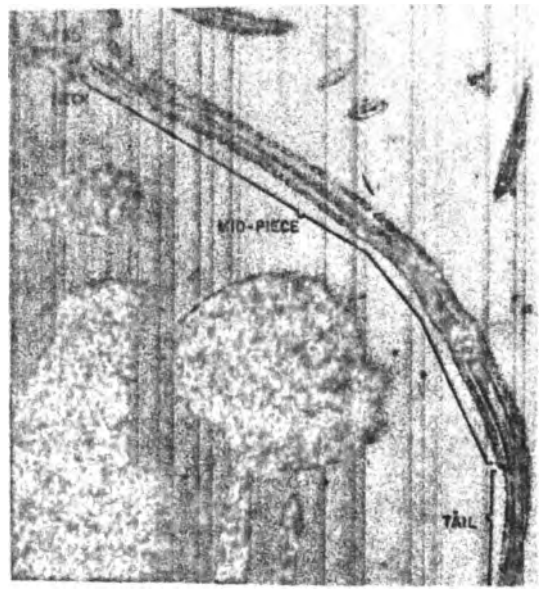
EXAMEN SEMEN	TERMO BANCO	TERMO CAMPO	DIFERENCIA
Motilidad	2 3.1	2 1.0	- 2.1
% acrosomas intactos	4 0.2	3 6.7	- 3.5
m. UGOT/10°	2 6 9.0	2 6 1.0	- 8.0
IU acrosina/10°	1 1.4	1 1.1	- 0.3

RESUMIENDO

La Foto N° 19, nos muestra un corte longitudinal y transversal de espermatozoide bien congelado y conservado.

La Foto N° 20, por el contrario, la de un material mal congelado y/o mal conservado.

Foto N° 19: Microfotografía electrónica de semen bien congelado y conservado.



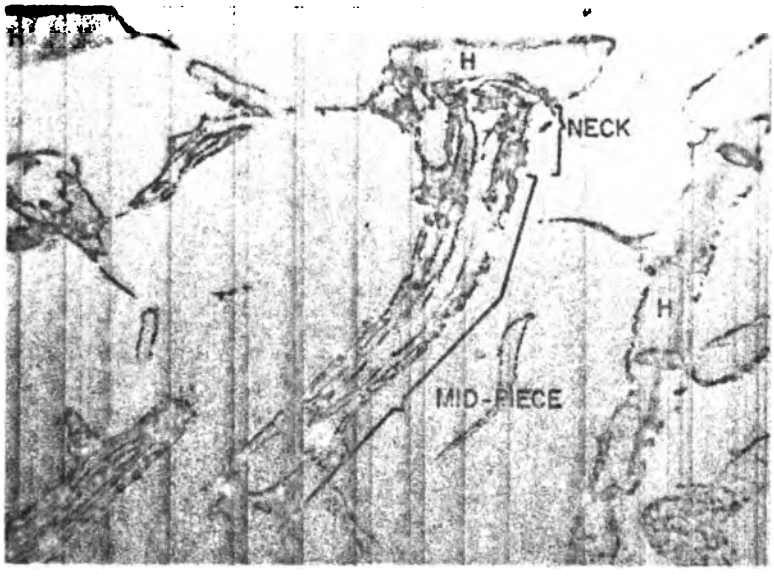


Foto N° 20: Microfotografía electrónica de semen mal congelado y/o conservado

Finalizamos entonces, diciendo que, con las precauciones debidas, hoy en día, el semen podrá mantenerse apto y fértil por tiempo absolutamente inderteminado.

ADC:hdsg

DEGENERACION TESTICULAR EXPERIMENTAL PRODUCIDA POR AISLAMIENTO TERMICO DEL ESCROTO

PEDRO BAÑALES
MARIA A. OLIVERA

DEGENERACION TESTICULAR EXPERIMENTAL PRODUCIDA POR AISLAMIENTO TERMICO DEL ESCROTO

PEDRO BAÑALES

MARIA A. OLIVERA *

En el Servicio de Reproducción del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino" (C.I.VET.) se realizó una degeneración testicular experimental, con el fin primordial de estudiar el cuadro seminal y sus alteraciones en un período largo de tiempo, correlacionando dichos hallazgos con el examen clínico del reproductor.

Se utilizó un carnero Corriedale, boca llena, al cual, previo al trabajo se le realizaron dos exámenes clínicos generales y particulares del aparato genital, incluyendo exámenes completos de semen, de manera de asegurarnos de tener un animal sano y potencialmente apto para la reproducción.

La experiencia se comenzó a fines de junio y finalizó a principios de setiembre, para evitar los problemas que pudieran producirse por exceso de calor ambiental. El carnero estuvo siempre a campo, sin suplementación de ningún tipo.

Al carnero se le aisló térmicamente el escroto y su contenido, mediante una abundante capa de algodón entre dos bolsas de nylon, aseguradas al cuello del escroto, sin ejercer mucha presión, pero si la suficiente para evitar que el dispositivo no se perdiera. Se mantuvo este dispositivo durante siete días ininterrumpidamente.

Los exámenes clínicos y análisis de semen del animal, se realizaron periódicamente cada 7-10 días, hasta los 70 días post-colocación de las bolsas. El semen era extraído por electroeyaculación y se evaluaron los siguientes parámetros: volumen, aspecto y color, actividad de masa, motilidad individual, concentración y morfología espermática, para lo cual por un lado se realizaban dos frotis y por otro lado se colocaban 1 ó 2 gotas de semen en formol salino. Con los frotis se realizaba tinción por el método de Williams y con henatoxilina eosina, y el semen diluído en formol salino se estudiaba con el microscopio de contraste de fases.

Los datos obtenidos son los que muestra el cuadro y la gráfica presentados a continuación, destacando que lo primero que sucedió fue una brusca caída de la motilidad.

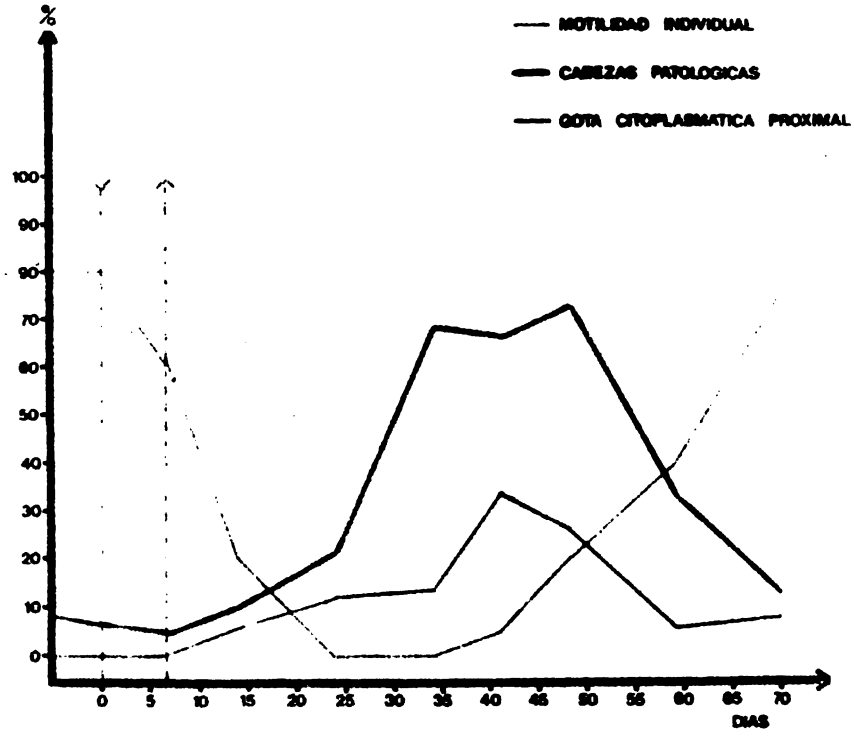
En cuanto al examen clínico general, no se observó ninguna particularidad. Al examen clínico particular del aparato genital, sólo se notó una ligera disminución en el tono testicular entre los días 24 y 41, sin ninguna otra manifestación.

---

* Méds. Vets. Técnicos del Servicio de Reproducción del Centro de Investigaciones "Miguel C. Rubino", de la Dirección General de los Servicios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Pesca. Montevideo- URUGUAY.

Cuadro: Degeneración testicular obtenida por aislamiento térmico. Espermiograma Carnero 1-CAB. Reproducción C.I.VET. 1985

DIA	Motilidad individual o/o	Cabezas patol. o/o	Gota citoplasm. prox. o/o	C.patol. + C.Sueltas n.o/o	Alteración de cola o/o	Gota citoplasm. prox. + distal o/o	Concent. por mm^3
0	80	6	0	9	3	0	1:300
7	60	5	0	6	3	0	1:250
14	20	10	6	24	22	9	900
24	0	21	12	36	25	14	300
34	0	69	14	92	13	27	110
41	5	66	34	82	20	43	270
48	20	72	26	81	17	34	630
59	40	32	6	44	14	18	1:100
70	75	12	8	22	2	13	1:250



Gráfica: Variación de algunos parámetros espermáticos durante una degeneración testicular. Carnero 1-CAB. Reproducción C.I.VET. 1985

De esto surge como conclusión, que los espermiogramas realizados fueron el elemento fundamental de diagnóstico de la degeneración, puesto que en este carnero, que durante 70 días padeció una degeneración testicular con grandes alteraciones en su cuadro seminal, solamente durante unos 20 días manifestó una muy ligera disminución del tono testicular.

Como otro elemento práctico de esta experiencia, surge que es necesario realizar exámenes seriados de semen, sobre todo si el resultado no es satisfactorio. De acuerdo a la gráfica, que coincide bastante con las presentadas en otros trabajos, perfectamente puede darse el caso de un animal con semen deficiente, que se deba a una degeneración en vías de recuperación. De un espermiograma anormal, no podemos, por él sólo, afirmar que ese animal no sea apto.

En el caso de que el examen sea satisfactorio, podemos estar más seguros, pues es más difícil que se trate de un animal con una degeneración, que aún no haya manifestado la misma en el cuadro seminal; vemos en la gráfica que las alteraciones espermáticas aparecen en el eyaculado pocos días luego de la agresión

AGRADECIMIENTOS:

Por la colaboración prestada por los ayudantes técnicos Sres. Angel Alegre y Lorenzo Pereyra, para la realización de este trabajo.

PB:AMO:hdsg

ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR EL SEMEN

EUGENIO PERDOMO
CECILIA PAULLIER

ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR EL SEMEN

EUGENIO PERDOMO *
CECILIA PAULLIER

INTRODUCCION

En todo sistema de producción animal, varios son los factores a tener en cuenta, a los efectos de lograr los mejores índices de productividad. Algunos de estos factores han sido bien identificados y los distintos autores coinciden en señalar caracteres bien delimitados y estrechamente interrelacionados: Alimentación, Manejo, Selección, Comercialización y Sanidad.

La sanidad constituye uno de los factores fundamentales a tomar en consideración en cualquier sistema de producción intensiva y extensiva, y más aún cuando se intentan desarrollar nuevos procedimientos tecnológicos, que siempre significan mayores inversiones, cambios en el manejo de los animales y tal vez, cambios administrativos en los establecimientos involucrados en los programas de desarrollo planteados.

A través de diferentes trabajos se ha planteado como se manifiestan las distintas patologías en el aparato genital masculino en los bovinos y oportunamente se han tratado los cuadros patológicos similares en las hembras bovinas y como esas patologías influyen en el comportamiento sexual y en eficiencia reproductiva de los rodeos. El avance tecnológico asociado a fáciles y rápidas comunicaciones, mejoras en la extracción, manejo y conservación de semen, hacen que la comercialización del semen y por lo tanto que la inseminación artificial sea uno de los procedimientos más utilizados en el mejoramiento zootécnico de los rodeos utilizando en este sentido fuentes de semen de origen nacional o internacional.

La inseminación artificial como técnica de desarrollo debe tener en cuenta principios sanitarios de comercialización, para evitar vehiculizar cualquier enfermedad a través del semen.

Las enfermedades venéreas de los bovinos constituyen un complejo de enfermedades que fueron estudiadas intensamente en los años 60, los trabajos de los doctores Stella, Casas y Leaniz, demuestran la preocupación que existía por resolver procedimientos de diagnóstico y tipificación de agentes infecciosos. En esos años se diagnostican como causas de enfermedades reproductivas de los bovinos, la Campylobacteriosis y la Trichomoniases. En los años 70, los trabajos de los doctores Tedesco, De Freitas, Errico, Del Baglivi y Repiso, ponen énfasis en el manejo de las muestras y traslado al Laboratorio, a los efectos de implementar y completar los procedimientos de diagnóstico correspondiente.

Médicos Veterinarios. División Patología (Diagnóstico)
Centro de Investigaciones Veterinarias Miguel C. Rubino.

En los comienzos de 1980, comienza el desarrollo y utilización de vacunas para controlar una de estas enfermedades, la Campylobacteriosis bovina. El semen como elemento de origen biológico puede ser contaminado por distintos agentes infecciosos en cualquier parte del aparato genital o sus anexos, o ser contaminado por las manipulaciones del operador en momentos de la extracción, congelación o en la inseminación. Varias son las enfermedades que el semen puede vehiculizar, el cuadro 1 muestra los distintos agentes etiológicos que pueden ser transmisibles y muchos de ellos capaces de poner en graves condiciones de riesgo los sistemas de producción y comercialización agropecuaria de un país, causando pues, un verdadero impacto en la economía nacional. Entre estas enfermedades algunas son reconocidas en el país, otras consideradas exóticas. La comercialización de semen contaminado, significa riesgos, - en cuanto a la posibilidad de difundir más las enfermedades presentes y - a introducir enfermedades desconocidas.

Cuadro 1: Enfermedades transmisibles por el semen.
FUENTE: W.C.D. HARE. O.I.E. 1985.

ENFERMEDAD	SEMEN PRESENTE	TRANSMITE	OBSERVACIONES
Fiebre Aftosa	+	+	
Peste Bovina	+	Posiblemente	Testículo y orina
Estomatitis vesicular	Posiblemente	Posiblemente	
Lengua Azul	+	+	
Dermatit.Nodular Cont.	+	Posiblemente	
Fiebre Valle de Riff	+	+	
IBR/IPV/IBP	+	+	
BVD/MD	+	+	
Parainfluenza 3	+		Testículo
Enfermedad de Ibaraki	Posiblemente	Posiblemente	Semen
Fiebre Efímera	+	NO	
Leucosis Bov.Enzootica	Posiblemente	NO	
Fiebre catarral maligna		NO	
Enf.de Aujeszky	NO	NO	Bovino Huesped Final
Mycoplasmas spp.	Posiblemente	+	Orina
Anaplasma marginale	Posiblemente	NO	Contaminac.con sangre
Babesia spp.	+	NO	Contaminac.con sangre
Trychomonas	+	+	
Theileira spp.	Posiblemente	NO	Contaminac.con sangre
Trypanosoma spp.	Posiblemente	NO	Contaminac.con sangre
Brucella abortus	+	+	
Campylobacter spp.	+	+	
Pasteurella spp.	Posiblemente	NO	
Mycobact.Paratuberculosis	+	+	
Listeria Monocytogenes	Posiblemente	NO	
Haemophilus samnus	+	+	
Ureaplasma spp.	+	+	
Clamydia spp.	+	Posiblemente	
Coxiella burnettii	+	Posiblemente	Orina

Este cuadro muestra en líneas muy generales, cuales son las enfermedades de riesgo, unas actúan como enfermedades con localización en genitales y su mecanismo de transmisión es del tipo venéreo, otras actúan como consecuencia de cuadros septicémicos y otras como simples contaminantes. En su conjunto este complejo de enfermedades que manejan los clínicos y técnicos dedicados a la reproducción animal, ya no se conducen con el concepto de enfermedades venéreas en los trabajos reproductivos y de control de enfermedades, hoy se manejan con el concepto de enfermedades transmisibles por el semen. Basándose en las enfermedades del aparato genital o en la contaminación por manipulaciones, algunos autores recomiendan adicionar antibióticos o sustancias bacteriostáticas al semen, a los efectos de controlar o disminuir el grado de la contaminación que puedan ocurrir durante las maniobras de recolección y almacenamiento.

El doctor Hare (O.I.E.-1985) recomienda que cuando se añade antibióticos al semen hay que tener en cuenta lo siguiente:

" 1º) La eficacia de un antibiótico sobre los microorganismos varía en función del tiempo y de la temperatura a que actúa antes de la congelación, así, su eficacia se hace cada vez menor a medida que la temperatura desciende de 30°C a 0°C.

2º) La acción de los antibióticos sobre ciertos gérmenes es más bacteriostáctica que bactericida, en este caso en una concentración pequeña de antibiótico puede permitir el crecimiento del gérmen.

3º) Por último, el empleo de antibióticos no debe servir de excusa para descuidar la esterilización del material, etc., ni la realización de prácticas asépticas:

a) en la preparación del donante y de los animales sobre los que se efectúa la monta,

b) durante la recolección de semen y

c) a lo largo de las manipulaciones del semen en el laboratorio."

Las diferentes enfermedades que pueden transmitirse por el semen afectan en distinta forma el comportamiento reproductivo de un rodeo, que van desde cuadros de infertilidad esporádica, infertilidad enzoótica, a reabsorción embrionaria, abortos a diferentes edades, hasta mortalidad neonatal. Estos cuadros, cualquiera de ellos complejos por sí mismos, constituyen un verdadero desafío al clínico y al patólogo, cuando intentan realizar su diagnóstico. Es así que se deben tener en cuenta un amplio criterio diagnóstico cuando se enfrentan a estas enfermedades que abarcan desde estudios microbiológicos, patología fetal y placentaria, hasta estudios bioquímicos y de inmunología seriados. Es de fundamental importancia que cuando suceden hechos que afectan la eficiencia reproductiva, realizar un estudio clínico y epizootiológico del rodeo afectado y que cuando se envían muestras al laboratorio, están sean adecuadamente tomadas y remitidas. Acompañadas de un pormenorizado informe de los diferentes cuadros y formas clínicas que se suceden en el hato problema. Se debe recordar que un laboratorio de diagnóstico, debe tomar en cuenta una serie de exámenes, unos específicos para la enfermedad sospechosa y otros complementarios para el diagnóstico diferencial.

El diagnóstico de una enfermedad es la resultante de la actividad multidisciplinaria de unidades de laboratorio perfectamente identificadas que actúan en forma coordinada en base a un funcionamiento del Laboratorio de Patología. En esta actividad de diagnóstico, el clínico y el patólogo deben ser considerados como una unidad y el grupo de apoyo a la misma lo constituyen bacteriólogos, parasitólogos, virólogos, toxicólogos, hematólogos, inmunólogos, bioquímicos e histopatólogos.

En consecuencia, se debe recordar que el trabajo iniciado en el diagnóstico de una enfermedad, constituye una actividad permanentemente creativa, no existe la rutina. La información que surge del laboratorio formará parte de un total de datos y las conclusiones que de ellos surjan, deberá ser avalada del total de los informes recabados. Es por lo tanto, esencial comprender que algunos resultados catalogados como "positivos", pueden ser irrelevantes al problema que se está investigando y contrariamente otros informes clasificados como "negativos", no deben ser excluídos como causas posibles.

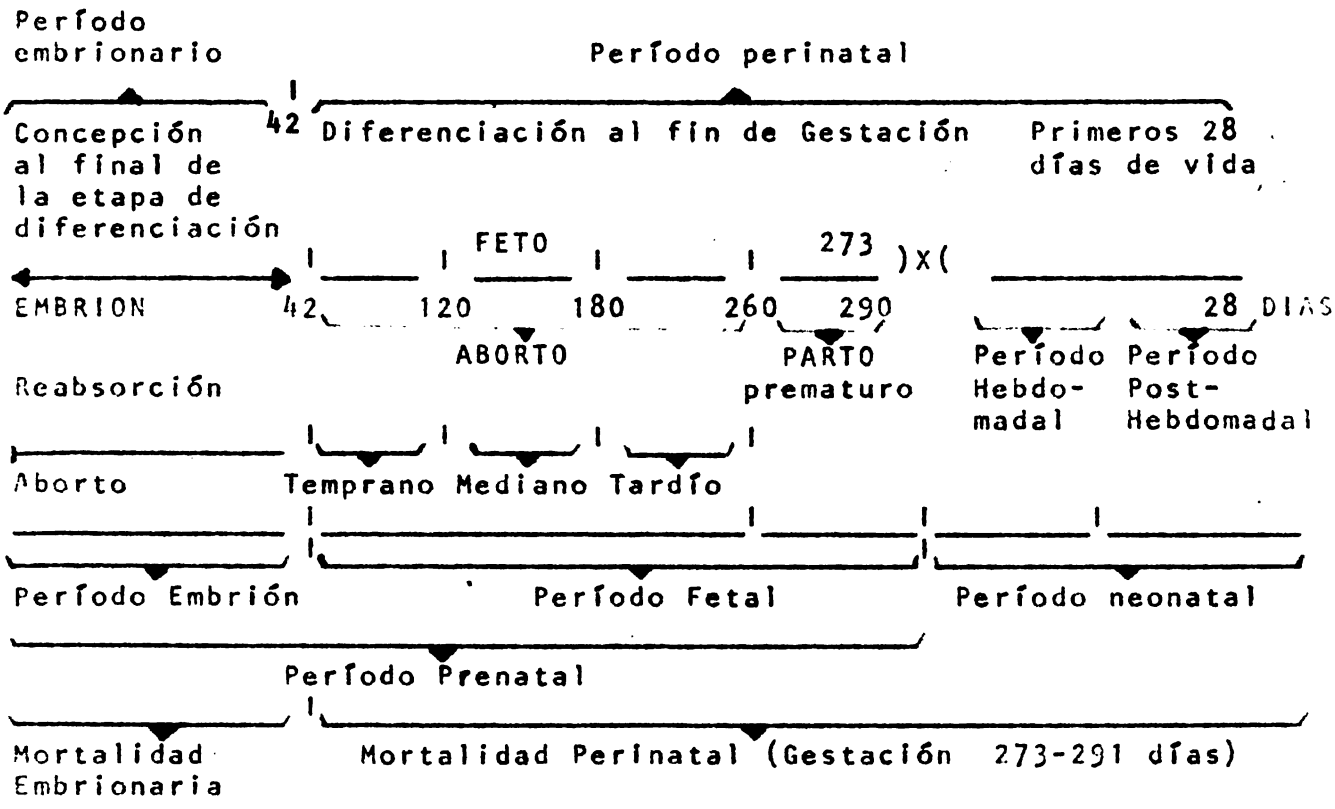
Con estos conceptos, solamente la integración del clínico y del patólogo, con su particular entrenamiento y experiencia, tienen la capacidad individual de reconocer realmente la información surgida y asegurarse del significado de esta información.

A los efectos de reconocer el modo de acción de algunas enfermedades que afectan la eficiencia reproductiva y están relacionados con agentes transmitidos por el semen, se propone seguir el siguiente esquema de trabajo, siguiendo las recomendaciones del Comité sobre Nomenclatura del Tracto Reproductor de los Bovinos. (Chicago, U.S.A. - 1970). (Cuadro 2)

Esta distribución esquemática permitirá comprender y encarar en forma sencilla las distintas patologías específicas que afectan el tracto reproductor durante la gestación, cuando los diferentes procesos están relacionados con el semen, en programas de inseminación artificial.

Cada uno de los agestes mencionados en el Cuadro 1, produce diferentes alteraciones patológicas, sea en el tracto genital masculino o femenino, e inclusive en el producto de la concepción Como se sabe no sólo se ve afectada la eficacia reproductiva del rodeo, cuando alguno de ellos está presente, sino que también se ven afectadas todas las categorías del hato, por lo que el impacto sanitario y económico, cuando se introduce una de ellas en un establecimiento o país, es aún mayor.

Cuadro 2: Período embrionario y perinatal de los bovinos.



De acuerdo al Cuadro 2, se presentarán las diferentes enfermedades que ocurren en los rodeos, cuando se introducen algunas de las etiologías mencionadas.

- CAMPYLOBACTERIOSIS **Esquema 1**

Esta enfermedad bastante difundida en las cuencas lecheras, con alguna presentación en ganado de carne, es provocada por microorganismos del género Campylobacter, pequeños microorganismos pleomórficos, Gram-negativos, móviles y ligeramente encurvados. Son microaerofólicos a anaeróbicos. Dentro del género se encuentran gérmenes patógenos y comensales.

Se describen dos especies patógenas para el bovino:

1. Campylobacter fetus fetus A
   Campylobacter fetus fetus B
2. Campylobacter fetus venerealis

Estos gérmenes son responsables de los cuadros de infecundidad enzoótica de los rodeos.

Existe una especie saprófita: Campylobacter Sputorum Bubulus

Teoricamente, de acuerdo con las especies actuantes se pueden describir dos cuadros patológicos en los rodeos infectados: la infecundidad enzoótica o el aborto.

De acuerdo a los trabajos de diferentes autores, la infecundidad enzoótica en un 90% de los casos se asocia a Campylobacter Fetus Venerealis y un 10%, a Campylobacter Fetus Fetus B, mientras que los cuadros de abortos entre los 90 y 240 días se asocian a Campylobacter fetus fetus A y Campylobacter fetus fetus B. En los toros infectados no se aprecian lesiones aparentes y no se ve afectada la calidad del semen.

En las vacas, los cuadros observados se traducen en infecundidad, alargamiento de ciclos estrales, estros repetidos, aumento de índice coital, alargamiento del período post-parto-fecundación, abortos entre 3 y 8 meses de gestación, constatándose entre un 15 y 25% de cuadros de salpingitis.

En un intento de aislamiento del Campylobacter del tracto genital, éste se logra en un 25% de las veces de muestras de vagina, mientras que se logra un 75% de aislamientos cuando las muestras son tomadas del útero.

DIAGNOSTICO

- Examen microscópico directo
- Cultivo
- Identificación
- Inmunofluorescencia

ABORTO = estudio de patología fetal y placentaria, e intento de aislamiento del contenido de abomaso fetal, SNC, hígado.

Las muestras que se remitan para aislamiento bacteriológico, deben enviarse acondicionadas en medio de transporte adecuado, que provee el Laboratorio de Diagnóstico.

TRATAMIENTO

Se han descrito distintos tratamientos basados en uso de antibióticos (estrepto-penicilina) por vía general y local y actualmente se recomiendan las vacunas (bacterinas) producidas con cepas de Campylobacter Fetus Fetus.

PROFILAXIS

Control de reproductores, en centro de inseminación artificial inseminación artificial en rodeos problema.

IMPORTACION DE SEMEN

Que el semen provenga de Centros de Toros, con certificación oficial libres de enfermedad

Esquema 1: CAMPYLOBACTERIOSIS

```
Período
Embrionario                Período Fetal                PARTO
I ___________ I _____ I ___________________ I ___________ I
                                                         I
 XXXXXXXXXXX 42        90 XXXXXXXXXXXXXXXXX 260          x días
Infecundidad             Aborto - Campylobacter fetus fetus A
Enzootica                       - Campylobacter fetus fetus B

Muerte Embrionaria
     - Campylobacter fetus venerealis 90%
     - Campylobacter fetus fetus B  10%
                    Eliminación de Campylobacter spp, post infec-
                    ción por un mínimo de 2 años, en forma de brotes
```

TRICHOMONIASIS **Esquema 2**

Enfermedad causada por un protozoario flagelado, produce la infecundidad infecciosa por transmisión venérea, se trata de la Trichomona foetus.

Este parásito produce muerte embrionaria, aborto con maceración fetal. Es un típico agente productor de enfermedad materna, traduciéndose los cuadros clínicos más comunes en:

ENDOMETRITIS, PIOMETRA, ABORTO, ESTERILIDAD

En los toros infectados, no se observan lesiones, no se afecta la calidad del semen, se aisla por raspado de las criptas de las glándulas prepuciales. En las vacas se aisla de la mucosa uterina y vaginal.

DIAGNOSTICO

- Observación directa
- Cultivo

TRATAMIENTO

Se han instituído varias formas de tratamiento, locales y generales, basadas en el uso de pomadas con Acriflavina-Tripaflavina o Dimetridazole 50 mg/kg/día, 4 a 6 días. En las vacas se asocia a este tratamiento Prostaglandina F_2

PROFILAXIS

- Inseminación Artificial

IMPORTACION

Que el semen provenga de Centros de Toros declarados oficialmente libre de enfermedad.

Esquema 2: TRICHOMONIASIS

```
Período
Embrionario                Período Fetal                PARTO
I ____________ I ______ I ________________ I ____________ I
                42       70                 120           I
                                                          I
XXXXXXXXXXX              ABORTO - Feto macerado           x días
Muerte embrionaria                Feto momificado         Piómetra

Infecundidad Infecciosa Venérea
I ______ Severa Lesión Endometrial ______________ I Endometritis
                                                   Piómetra
                                                   Esterilidad
```

En el Cuadro 3, se describe la casuística observada entre 1977 y 1985, procesándose materiales que provienen de todo el país, principalmente de las cuencas lecheras, este cuadro resulta de la serie de trabajos realizados en Uruguay, por distintos investigadores.

Cuadro 3: Enfermedades Venéreas en Bovinos. Período 1977 - 1985
División Patología. C.I.VET."Miguel C.Rubino"
FUENTE: Dres.: A. De freitas; M.V.Repiso (1977 - 1981)
Dra. C.Paullier; Br. L.Carreto; S. Silveira (1981 - 1984)
Dra. B. Herrera (1984 - 1985)

	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	TOTAL
N°. de material procesado	233	430	364	389	303	429	205	405	377	3135
Campylobacter	7	6	4	4	2	2	8	32	9	74
Trichomonas	4	9	8	6	-	18	12	29	4	90
Infecc.mixta	-	-	-	-	-	-	2	-	-	2
Feto Campylobact.	-	-	-	-	-	2	3	6	7	18
Feto Trichomon.	-	-	-	-	-	2	1	-	-	3
Toro Campylobact.	-	-	-	-	-	-	2	1	-	3
Toro Trichomon.	-	-	-	-	-	9	7	29	2	47
Toro Infec.mixta	-	-	-	-	-	-	1	1*	-	2

*Toro Hereford (Departamento de Flores)

Herpes virus bovino tipo I
Rinotraqueitis infecciosa bovina
Vulvo vaginitis pustulosa bovina
Postitis infecciosa viral bovina

Esquema 3

Estas enfermedades son causadas por el herpes virus bovino tipo I, se agrega a este grupo de cuadros clínicos mencionados: conjuntivitis y queratitis, abortos, infección del tracto alimentario, mastitis y dermatitis.

En 1980, se aisla el virus por primera vez en el país, por los Dres. H. Guarino, J. Maisonave, F. Capano y colabs., de casos clínicos que presentaron la forma encefálica de la enfermedad.

Los cuadros de herpes virus bovino I, ocurren como un solo tipo de grupo antigénico, por lo que una única cepa puede ser usada en los proyectos de investigación y diagnóstico, con amplio margen de confiabilidad en los resultados.

Dentro del complejo de enfermedades transmitidas por el semen, esta enfermedad se ha covertido, junto al virus de la Lengua Azul, en una de las mayores preocupaciones de los países importadores de semen, de países afectados con esas enfermedades, exigiendo amplias garantías en cuanto a la calidad sanitaria del semen.

Las enfermedades que resultan de las infecciones del tracto reproductivo, debido al herpes virus bovino tipo I, resultan en aborto, vulvo vaginitis, metritis, y el macho la balanopostitis. En U.S.A., 20% de los abortos son atribuídos a esta virosis.

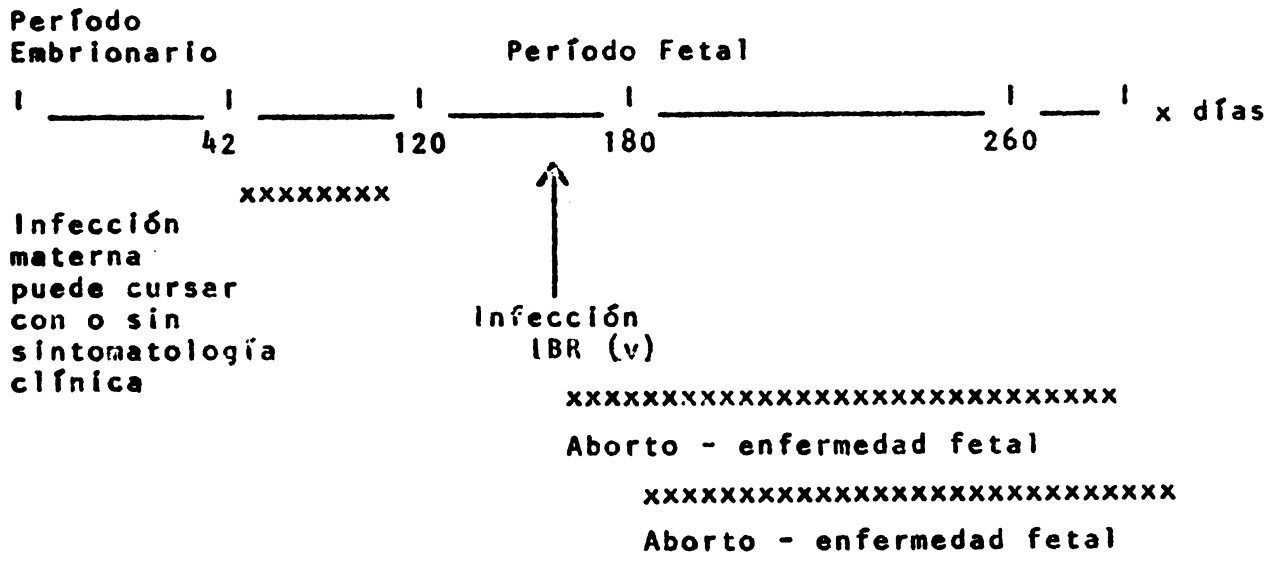
Por tratarse de una enfermedad que a parte de otras formas, puede transmitirse por el semen, las precauciones y medidas de seguridad en centros de toros, con destino a la comercialización de semen para inseminación artificial deben ser muy rigurosas. La única garantía de producir semen libre de herpes virus bovino tipo I, es un programa permanente de prevención de la infección, en los toros. Esto requiere un control contínuo de aplicación de técnicas serológicas y virológicas, más el aislamiento particular de los toros jóvenes.

En algunos países se usa como método de control la vacunación. Existen tres tipos de vacunas; las primeras vacunas desarrolladas utilizaban virus vivo en forma sistémica, pero tenían la desventaja de producir abortos, aunque ellas producían buena inmunidad. Las vacunas más modernas usan mutaciones del herpes virus bovino tipo I, que no producen aborto, son aplicadas por vía intranasal y dan rápida protección. El tercer tipo de vacunas son las inactivadas, son seguras, pero requieren revacunaciones anuales. El uso de estas vacunas en centros de toros, requieren seis vacunaciones de los animales en los rodeos de origen, luego al ingreso, al centro, revacunar nuevamente durante el período de cuarentena, permanecer en observación y aislamiento por tres semanas, hasta que la inmunidad se establezca. Los anticuerpos que resultan de estas vacunaciones, no se pueden diferenciar de aquellos que produce la enfermedad en su forma natural.

DIAGNOSTICO

- aislamiento del virus
- seroneutralización pareada

Esquema 3: HERPES VIRUS BOVINO TIPO I (Forma abortiva)



IMPORTACION

El semen debe provenir de Centros de Toros, declarados oficialmente libres de la enfermedad, y de animales no vacunados.

DIARREA VIRAL BOVINA - ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS

Esquemas 4 y 5

Este complejo patológico, diarrea viral bovina - enfermedad de las mucosas, constituye otra de las enfermedades capaces de ser transmitidas por el semen. En Uruguay no se ha aislado aún el agente etiológico, pero existe suficiente evidencia patológica y serológica como para sostener que existe en el país. La primera comunicación de sospecha de la enfermedad fue realizada por el Dr. Araújo en 1975, en la zona de Cerro Chato (departamento de Treinta y Tres). Desde ese momento se han constatado cuadros clínicos y anátomo patológicos y confirmaciones serológicas, en casi todo el país, predominando los casos en los departamentos de Tacuarembó. Paysandú, Río Negro, Soriano, Lavalleja, Canelones, San José y Treinta y Tres.

El cuadro anátomo patológico se caracteriza por lesiones erosivas en tracto digestivo, edemas y diarreas. Clinicamente se describen formas agudas y crónicas.

Las primeras observaciones realizadas en U.S.A., sobre esta enfermedad sugirieron que el agente causante era capaz de producir abortos en la hembra gestante. Desde ese momento se ha hecho gran número de descripciones en el campo de la patología fetal, que abarcan desde hipoplasia cerebelosa, cataratas congénitas, mioclonias congénitas, a muerte neonatal en el período hebdomadal Vacas infectadas durante la gestación hasta los 250 días de la misma, pueden presentar abortos, siendo la mayor incidencia de abortos hasta los 100 días de preñez.

El aborto puede esperarse que ocurra a partir de 20 a 175 días después de la infección de las madres.

La hipoplasia cerebelosa observada en los fetos abortados, ocurre cuando la vaca gestante se infecta entre los 100 y 200 días de gestación. El momento crítico exacto para observar esta lesión no es conocido, pero puede coincidir con el período de máximo incremento de masa cerebelosa, que se estima ocurre entre 133 a 162 días de desarrollo fetal. Algunos fetos llegan a término y los terneros afectados pueden mostrar síntomas clínicos que van desde ligera ataxia, a ataxia muy perceptible, completa ausencia de coordinación motora e incapacidad para mantenerse en postura normal.

Los casos más severos, son la incapacidad para caminar, y pueden adoptar una gran variedad de posiciones anormales, incluyendo opistotonos, Los terneros afectados presentan tono muscular normal, y responden normalmente a los estímulos del sensorio y pueden mamar si son capaces de mantenerse parados.

A veces, se observan temblores en la cabeza y nistagmus. También se observan terneros ciegos, cataratas congénitas, ausencia de reflejo pupilar. Todos estos cuadros clínicos se han observado en el país.

Distintos autores, señalan que los terneros que nacen con estas lesiones, casi invariablemente tienen anticuerpos neutralizantes contra el virus de la diarrea viral - enfermedad de la mucosa, en su suero, antes de mamar calostro.

DIAGNOSTICO

1. Sangre coagulada - para obtención de suero para testar anticuerpos el virus puede ser aislado del coágulo.
2. Bazo y ganglios linfáticos, colectados asépticamente, para intentar aislamiento viral.
3. Hígado, bazo, linfonódulos, SNC y trozos de tejidos de tracto gastrointestinal, fijados en formol 10 en solución salina

Además se requiere: historia del rodeo, síntomas clínicos y de necropsia.

El diagnóstico se basará en estos datos, aislamiento del virus si fuere posible, el estudio serológico basado en test de precipitación en gel y la histopatología.

Esquema 4: BVD - MD

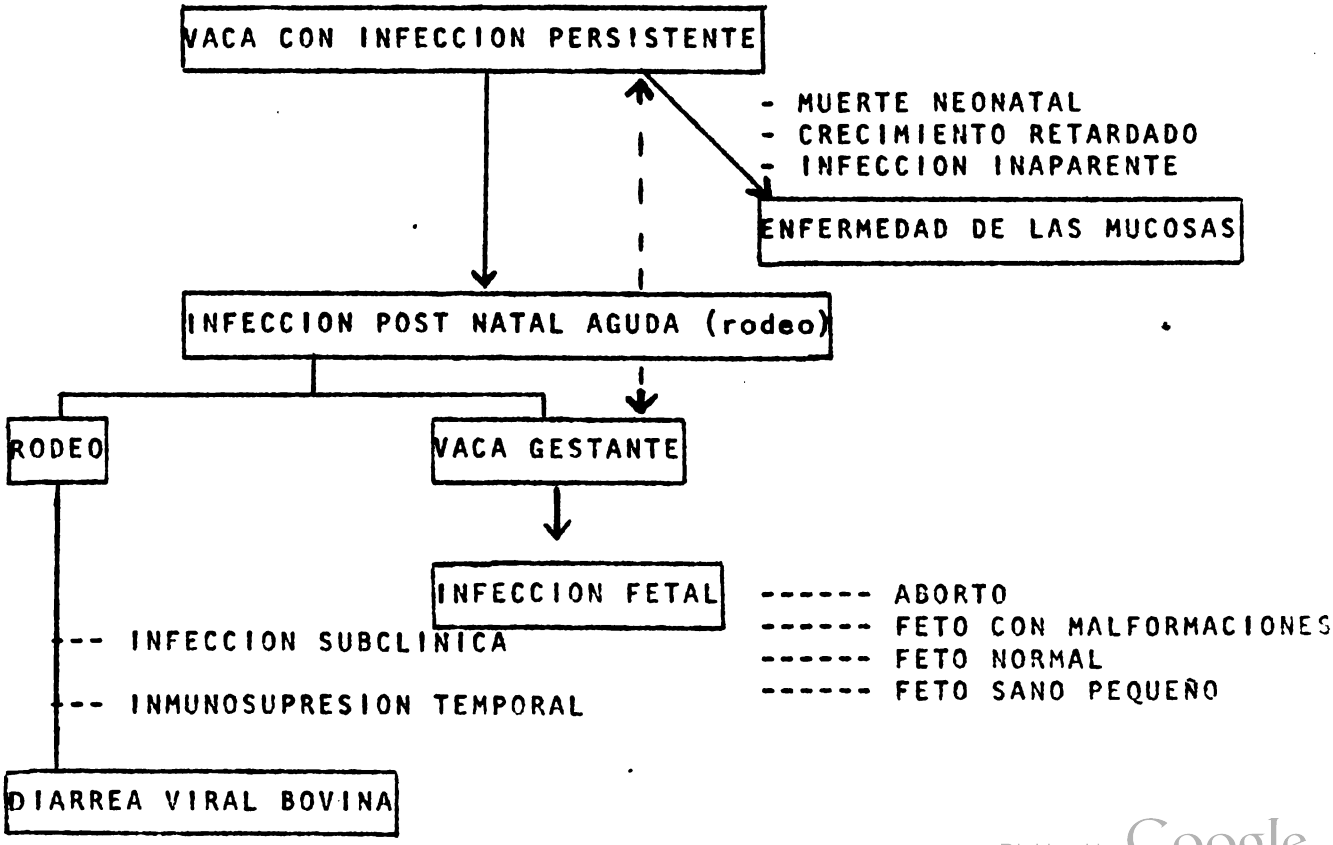
```
Período
Embrionario          Período Fetal                                  7     28
|  ---------|-------|------|------|------|-------|---|-----|-----|
           42      120    180    260      x

     |        |
     |        |
     |        |
     |        |
     |       60   Abortos
Infección                 |   malformaciones congénitas
muerte                    | 150 |
embrionaria               |     |  animales nacidos débiles --- morta-
                          |     |  animales sin problemas        lidad
                          |                                    neonatal
                          |
                          †  catarata congénita
                          †  hipoplasia cerebelosa
                          †  hipomielogénesis
```

IMPORTACION

Que el semen provenga de Centros de Toros, declarados oficialmente libres de la enfermedad.

Esquema 5: CONOCIMIENTO ACTUAL DE DVB - MD
FUENTE: DUFFELL-HARKNESS - 1985



LENGUA AZUL (BLUE TONGUE)

Enfermedad exótica en Uruguay. Se trata dentro del grupo de enfermedades transmisibles por el semen, debido al incremento de importaciones de semen que se efectúan desde países donde la afección está presente. El impacto económico que produciría un brote de Lengua Azul, tendría que considerarse bajo tres importantes aspectos:

1. mortalidad elevada de animales. En la Península Ibérica en los años 1950, provocó la muerte de 179000 ovinos.
2. secuelas de la enfermedad, dejan animales débiles e improductivos a los que se suman los costos de control y erradicación.
3. efecto sobre los mercados importadores de productos tradicionales del país. Se restringe el comercio de productos de origen animal y de animales en pie. Carne, leche, lana, cueros, que no representan riesgos, han sido restringidos, como ocurrió cuando se diagnosticó la enfermedad en Australia, en los años 1970.

La Lengua Azul es producida por un virus del género orbivirus, en el que se describen gran número de subgrupos, que infectan a varias especies de vertebrados y que son transmitidos por insectos hematófagos. La diseminación de la enfermedad no ocurre por contacto o excresiones pero puede ocurrir por productos biológicos de origen animal, que se inyectan por vía parenteral. El semen puede transmitir la enfermedad.

la especie de mayor riesgo es el ovino, y los signos clínicos en esta especie, son fiebre elevada, de 6 a 8 días de duración, edema en cabeza y miembros, hiperemia de piel y mucosas, pérdidas de estado general y debilitamiento. La cianosis de labios y lengua, hemorragias de mucosa oral, ulceraciones y subsecuentes necrosis, son signos variables como la coronitis. Las muertes pueden ocurrir en etapas agudas o luego de un período de debilitamiento progresivo.

En el bovino, la mayoría de los serotipos de Lengua Azul, ocurren de forma subclínica, pero la viremia provee una gran fuente de oferta de virus para transmisión de la enfermedad a los ovinos vía insectos vectores.

Los insectos vectores, pertenecen al género Culicoide. En Uruguay, los estudios serológicos efectuados, por los Dres. F.Capano y H. Guarino, utilizando la técnica de inmunodifusión en gel han resultado negativos.

En caso de sospecha de **Lengua Azul**, se debe plantear el diagnóstico diferencial, con las enfermedades siguientes:

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL (Tomado de T.S.George)

O V I N O S	B O V I N O S
Aftosa	Aftosa
Estomatitis Vesicular	Estomatitis Vesicular
Viruela Ovina	Peste Bovina
Peste de los pequeños rumiantes	Enfermedad de las mucosas
Fiebre del Valle de Rift	Fiebre del Valle de Rift
Ecthyma Contagioso	Estomatitis Micotica
Foto Sensibilización	Foto Sensibilización
Carencia de Cobre	Rinotraqueitis Infecciosa
Oestrus Ovis	Estomatitis Papular Bovina
Dermatosis Ulcerativa	Mamilitis Herpetica Bovina
Pneumonia	Fiebre Catarral Maiigna
Enfermedad Akabane (cuando se observan corderos con malformaciones)	Enfermedad de Akabane (cuando se observan terneros con malformaciones)

MATERIALES NECESARIOS PARA EL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO

1. Muestras de sangre de casos de campo (el virus está presente en alta concentración durante la primera parte del período febril de la **viremia**).

   25 ml para utilización de suero
   25 ml con EDTA o Citrato de Sodio 3.8% (1ml citrato/9 ml sangre)

2. Ganglios linfáticos y bazo, en recipientes estériles. En caso de abortos, remitir los mismos materiales de los fetos abortados.

IMPORTACION

Que el semen provenga de animales libres de predios y áreas donde no haya ocurrido la enfermedad, con certificación oficial de declaración de libre de Lengua Azul.

CLAMIDIOSIS **Esquema 6**

Enfermedad considerada exótica en Uruguay, aunque se han observado cuadros anátomo patológicos, de orquitis en toros. (Dres L. Cuenca; M. Chiossoni; E. Perdomo; C. Paullier; F. Riet) cuya etiología podría estar asociada a gérmenes del género Chlamidia.

Se describen dos especies de Chlamidia:

CHLAMIDIA PSITACI
CHLAMIDIA INTESTINALIS

Esta última dificulta el diagnóstico.

La Chlamydia es el agente causal del aborto epizoótico en U.S.A. o el aborto esporádico en Europa. La enfermedad se traduce como una enfermedad placentaria y fetal provocando una placentitis necrótica en áreas intercotiledonarias, afectando al feto al que provoca severas lesiones de cirrosis hepática. El diagnóstico diferencial se debe plantear con Campylobacteriosis. El cuadro terminal es el aborto.

Este microorganismo resulta difícil de aislar, ya que en los casos balano postitis, semino cistitis, semino vesiculitis u orquitis, el mismo aparece en el semen en forma intermitente y a concentraciones relativamente bajas.

En la vaca produce, aparte de los brotes de abortos, vaginitis y endometritis.

Esquema 6: CLAMIDIOSIS.

CHLAMYDIA PSITTACI

I ——— I ——— I ——— I ——— I ——— I x I
42 90 210 260

XXXXXXXXXXXXXX
Aborto Epizootico Esporádico

- Placentitis Necrótica
- Enfermedad Fetal (Septicémica)

TORO
- Balano Postitis
- Semino Vesiculitis
- Orquitis (granulomatosa)

VACA
- Aborto
- Endometritis
- Vaginitis

DIAGNOSTICO

Se realiza por fijación del complemento difícil de interpretar.

Aislamiento, en embrión de pollo.

TRATAMIENTO

Se indica Tetraciclina o Cloranfenicol.

En rodeos afectados, se recomienda administrar a las vacas con preñez avanzada 3 á 5 gramos de Tetraciclina, durante 4 á 5 días, para prevenir aborto.

En líneas generales ésto es lo que se puede aportar sobre algunas enfermedades transmitidas por el semen, la lista es grande y sus interacciones con el manejo, el medio ambiente, con la comercialización, son complejas. Se requiere en toda esta actividad una acción conjunta entre las tareas de campo y laboratorio. En casos de ocurrencia de abortos, es de fundamental importancia una historia clínica circunstanciada, remisión de todos los abortos que ocurran, conjuntamente con la placenta y muestras pareadas de suero, de los animales afectados, los que deben ser identificados.

Las pruebas utilizadas en el Laboratorio de Diagnóstico, para el control de diferentes enfermedades a ser empleadas en Centros de Toros destinados a la inseminación artificial, son las que se plantean en el Cuadro 4.

Este cuadro resume una rutina de análisis a efectuar en animales que se encuentran en Centros de Toros. En esta rutina se señalan gérmenes banales, cada día más los distintos investigadores enfatizan sobre su presencia en semen y tratan de interpretar el rol patógeno de Pseudomonas aeruginosa,Corynebacterium pyogenes, Streptococus B hemolítico, Staphylococus spp, Proteus spp. y Escherichia coli.

Las concentraciones bacterianas observadas oscilan en valores de 150000 a 650000 microorganismos por ml. de semen recogido, con rango de 4% a 28% de muestras indemnes. La diversidad de gérmenes, su concentración y rango de muestras indemnes, indican que los trabajos deben continuar en dos aspectos, uno en patología experimental y otro prioritario en uniformidad de técnicas de toma, procesamiento y criterios de laboratorio en la interpretación de los resultados.

Los fisiopatólogos deberán intensificar los estudios en los mecanismos locales y generales de defensa del aparato genital, la significación del macrofago en mucosa y pared uterina, la inmunidad humoral relacionada a IgG e IgA y las aglutininas del mucus uterino.

Lo mismo ocurre con los microbiólogos e inmunólogos que deberán buscar respuesta al modo de acción de las asociaciones bacterianas y al poder patógeno de algunas de ellas.

Varios trabajos se han publicado sobre el modo de acción de diferentes microorganismos y su ubicación en el tracto genital, la revisión de Bagshan y Ladds (1947-1974) muestran la complejidad del conjunto de enfermedades que ocurren en las glándulas accesorias del bovino y su repercusión clínico patológica. (Esquema 7).

Cuadro 4: Pruebas de diagnóstico utilizables en Centros de Toros con destino a la inseminación artificial.
FUENTE: M.Parez. O.I.E. 1984.

ENFERMEDAD	TECNICA LABORATORIO	CENTRAL de TOROS ENTRADA	SERVICIO	MUESTRA
CAMPYLOBACTER	FROTIS DIRECTO I F CULTIVO	2 veces c/6 semanas	2 veces / año	lavado prepucial semen
TRICHOMONIASIS	FROTIS DIRECTO CULTIVO	2 veces c/6 semanas	2 veces / año	lavado prepucial semen
BRUCELOSIS	SEROLOGIA	1 vez	1 vez	suero
IBR/IPV/IBP BVD/MD	SERONEUTRALIZACION CULTIVO CELULAR	2 veces c/6 sem.	2 veces / año	suero semen
LEUCOSIS BOV.ENZ.	ELISA AGID TEST	1 vez	1 vez / año	suero
TUBERCULOSIS	PPD BOVINO	1 vez	1 vez / año	reacción dérmica
PARATUBERCULOSIS	CULTIVO	1 vez	1 vez / año	mat.fecal semen (ocasión)
MICOPLASMOSIS	CULTIVO SEROLOGIA	ocasionalmente		suero semen
LEPTOSPIROSIS	MICRO AGLUTINACION CULTIVO	ocasionalmente		suero-ovino semen
CLAMIDIOSIS	MICROTEC. F.L. INDC. HUEVO EMBR.	ocasionalmente		semen
LISTERIOSIS	S F I CULTIVO	ocasionalmente		suero semen
SALMONELOSIS	CULTIVO	ocasionalmente		semen
GERMENES BANALES	CULTIVO	ocasionalmente		semen
FIEBRE Q	AGLUTINACION	ocasionalmente		suero

Esquema 7: PATOLOGIA DE LAS GLANDULAS ACCESORIAS EN EL APARATO GENITAL BOVINO.

FUENTE: Bagshan - Ladds. 1947-1974.

A.

ORGANO	MICROORGANISMO AISLADO
Vesículas Seminales	Mycoplasma bovinogenitalum Corynebacterium pyogenes Corynebacterium renal Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa Mycobacterium bovis Mycobacterium paratuberculosis Actinobacillus actinoides Nocardia spp.
Ampolla	Mycoplasma bovinogenitalum Streptococcus spp. Brucella abortus
Próstata	Brucella abortus Mycobacterium bovis Mycobacterium paratuberculosis
Glándulas Bulbo Uretrales	Mycobacterium paratuberculosis Asociaciones de Microorganismos Campylobacter spp + Trichomonas foetus Trichomonas foetus + Corynebact. pyog.

B.

CUADROS CLINICO-PATOLOGICOS

Disminución de Líbido
Disminución de Calidad de Semen
Infertilidad
Vesiculitis
Vesiculitis Supurativas
Orquitis
Epididimitis
Epididimo-Orquitis
Periorquitis

Como se aprecia el semen puede constituirse en riesgo potencial de difusión de enfermedades infecciosas, pero también constituye un adecuado medio de control de ellas, cuando se aplican en programas planificados en inseminación artificial.

Con el avance de la tecnología de la transferencia de embriones, se abre otro gran capítulo dentro de la Patología de la Reproducción: las enfermedades transmitidas por los embriones. En 1984, publicaciones de O.I.E. advierten sobre este problema, se incluyen en el Cuadro 5, las experiencias de varios investigadores.

Cuadro 5: Experiencias sobre transmisión de enfermedades por transferencia de embriones bovinos.
FUENTE: O.I.E. (Varios autores). 1984.

ENFERMEDAD	IN VIVO	IN VITRO
I.B.R.	+	+
LENGUA AZUL	+	+
B.V.D.		+
PARVOVIRUS BOVINO		+
ENFERMEDAD DE AKABANE		+
AFTOSA		+
ESTOMATITIS VESICULAR		+
ADENOVIRUS BOVINO		+
PARAINFLUENZA B		+
ENTEROVIRUS BOVINO		+
ENFERMEDAD DE AUJESZKY		+
LEUCOSIS BOVINA ENZOOTICA	+	+
BRUCELLA ABORTUS		+
UREAPLASMA	+	+

En este capítulo se abren pues varias interrogantes:

- Cómo puede infectarse el embrión en aparato genital, si la zona pelúcida lo proteje ?
- Puede un embrión vehiculizar una dosis infectante superior a la dosis infectante mínima ?

Constituyen estos hechos verdaderos complejos emergentes y que son de caracter prioritario, en cualquier programa de investigación sobre eficiencia reproductiva de los rodeos.

Estos programas deberán tener en cuenta, los perjuicios económicos que estas enfermedades acarrean, perjuicios inmediatos para el ganadero, perjuicios posteriores para la comercialización o salud pública (zoonosis); perjuicios visibles, mortalidad, abortos o perjuicios invisibles asociados a índices de morbilidad o formas subclínicas de enfermedades.

Frente a este complejo panorama que ofrecen las enfermedades de transmisión, por semen o embriones, se debe enfatizar la presencia del veterinario en las etapas de planificación tecnológica, de educación y comercialización.

El programa de sanidad animal en este desarrollo tecnológico debe presentar claramente las ventajas económicas de los proyectos de control, profilaxis sobre los proyectos de erradicación. El estudio cuantitativo del llamado impacto económico de las enfermedades animales, quedó claramente manifestado durante los años 1978 - 1984, con el Brote de Peste Porcina Africana en Brasil, por tanto el estudio cuantitativo debe ayudar a desarrollar los programas de generación y transferencia tecnológica al sector agropecuario por las siguientes razones:

- orienta sobre las líneas sobre las cuales se debería desarrollar la investigación veterinaria, mediante el aporte de criterios económicos y de salud pública.
- orienta la conducta de los productores en cuanto se refiere a producción y sanidad, facilitando la asistencia veterinaria permanente.

Esta revisión fue presentada con 45 diapositivas ilustrativas, sobre diferentes patologías, observadas en Uruguay entre 1972-1985.

EP:CP:hdsg

EVALUACION DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEL TORO

EVALUACION DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEL TORO

LUIS CUENCA
MARIO CHIOSSONI
ALFREDO FERRARIS
FRANCISCO HAEDO
RODOLFO RIVERO

INTRODUCCION

Se sitúa la zona de trabajo, en el litoral oeste, integrando los departamentos de Río Negro y Paysandú. Es originalmente agrícola-ganadera con elevado porcentaje de cabañas.

En el país y donde se desarrolla nuestra actividad, la importancia otorgada al reproductor macho en la eficiencia reproductiva del rodeo, no ha sido suficiente.

Factores de selección raciales: pelaje y conformación; y productivos: test de performance, habilidad materna y progenie, no han sido acompañados por una evaluación y estudio de la fertilidad potencial y su influencia en la economía del productor.

La medida de la eficiencia reproductiva de un rodeo está dada en definitiva por: porcentajes de vacas preñadas a la palpación rectal al final del período de entore, porcentaje de terneros destetados y porcentaje de terneros nacidos viables.

En producción animal los tres grandes parámetros que determinan la eficiencia neta son: Sanidad; Alimentación y Manejo.

El tema que nos compete es el corolario de la interacción de estos parámetros. Un toro apto es un individuo que muestra en su evaluación final, su sanidad, su buena alimentación y el manejo a que fue sometido.

Esta evaluación aporta ventajas directas e indirectas en términos de eficiencia reproductiva del rodeo.

Las ventajas directas son aquellas que surgen del rechazo u observación de toros problema.

Las ventajas indirectas están referidas a la influencia negativa del toro en la capacidad reproductiva de la hembra.

Nuestro grupo de trabajo parte de una metodología que es posible en la medida que se integren técnicos de distintas disciplinas.

El estudio debe ser encarado primero, por el Médico Veterinario Clínico de campo, integrado éste al Ingeniero Agrónomo, como elementos fundamentales del sistema de producción; y segundo, por el Laboratorio, con sus distintas áreas, aportando diagnóstico: Microbiológico - Inmunológico - Toxicológico - Enfermedades Metabólicas - Estudio de la Morfología y Calidad espermática.

Por último el patólogo, confirmando o nó los hallazgos de campo con el examen postmorten macro y microscópico.

Esto se ha logrado en nuestra zona en la medida que fue posible la formación de un grupo conjunto de dos instituciones: el Laboratorio Regional del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca en Paysandú, "Miguel C. Rubino" y la Cooperativa Agropecuaria de Young Ltda.

METODOLOGIA DE TRABAJO

1º Reseña del Establecimiento

En la medida en que somos llamados a actuar, debemos situarnos en la realidad del establecimiento y ésto lo consideramos de fundamental importancia. La misma nace de que debemos ser conscientes que la incorporación de una nueva tecnología a un establecimiento debe contar con el aval del propietario, de su personal y no debe ser un factor distorcionante que negativice la acción del profesional. Nos debemos ubicar geográficamente dentro de la zona, estudiar cual es la actividad principal (tambo, cabaña, rodeo general) así como las condiciones de alimentación y manejo utilizados en el predio al igual que las instalaciones que posee. Se debe hacer una anamnesis patológica próxima y lejana.

Interacción de factores en el manejo de un establecimiento.

Normalmente cuando somos llamados a actuar, nos encontramos principalmente frente a grupos de toros de dos edades distintas: una de aproximadamente 22 meses y otra de más de 30 meses.

2º Inspección a corral

Corresponde al examen objetivo general que nos permite detectar el estado del grupo: Estado de carnes - Peso - Uniformidad.

Es el momento de tener una visión global del tipo de personal y su manejo de los animales con los cuales vamos a trabajar posteriormente; lo mismo que los problemas de aplomos, de pie, comportamiento sexual del grupo, dominancia, etc..

3º Inspección clínica individual

Nuestra metodología exige una correcta sujeción del toro, para realizar:

A. Examen de la cabeza:

A.1. Ojo: Dentro de la patología que afecta a dichos órganos es necesario destacar, disminución parcial de la visión, estrabismo y ceguera.

En el medio en que actuamos las principales causas que afectan al ojo en orden de importancia son: Agentes mecánicos - Queratoconjuntivitis infecciosa y Tumores.

La importancia de los agentes mecánicos está dada por diferentes factores de manejo, como el uso de rastrojo en la alimentación de toros jóvenes, así como la presencia de malezas derivadas de prácticas agrícolas inadecuadas, aumentando la proporción de las mismas en las áreas de pastoreo.

Disminución parcial de la función:

Lo más importante son las secuelas cicatrizales de la queratoconjuntivitis infecciosa. Hay que tener en cuenta que las opacidades corneales disminuyen la funcionalidad interfiriendo luego en el trabajo del toro en el rodeo.

Estrabismo:

En ciertas razas hemos encontrado este problema, pero no hemos encontrado en la literatura un estudio que cuantifique su importancia en la descendencia, no obstante suponemos que la funcionalidad se debe ver afectada al haber un cambio en el ángulo de visión. Además, es importante recalcar que cuando se evalúan reproductores, debemos partir de un claro concepto de la normalidad funcional.

Tumores:

En la medida que trabajamos con toros jóvenes, es fundamental que observemos aquellos que presentan dichas lesiones no sólo por la disminución de la funcionalidad, sino además, por la posibilidad de transmisión genética de la propención a dicha afección.

Capítulo aparte merece la conjuntivitis leve que presentan algunos toros al entrar a las exposiciones. El profesional debe ser cauto frente a toros que presentan lagrimeo luego del viaje desde el establecimiento. Debemos dar un período de cuatro a seis horas y pedirle al personal que efectúen un lavado simple con agua, en la zona suborbital y luego sí decidir.

Es conveniente la minimización del problema de disminución de la visión del toro de campo. Creemos conjuntamente con el Doctor Geymonat, que en la medida que se estudia mas profundamente la etología de los bovinos va apareciendo la importancia de la disminución funcional del reproductor debido a problemas de visión (Grupo sexualmente activo)

A.2. Identificación: Se debe efectuar la identificación correcta del animal, dándole primordial importancia a los tatuajes que presentan en las orejas.

Son secundarios otros tipos de identificaciones como las caravanas, por ejemplo.

El motivo de una correcta identificación, no es sólo un aspecto formal pues de la misma pueden depender aspectos legales de la certificación (créditos, reclamos, vicio redhibitorio).

A.3. Boca: Dos aspectos a estudiar: Edad - Afecciones

Edad: fundamental importancia en el diagnóstico de ciertas afecciones y además en la categorización de los toros a nivel de exposición.

Afecciones: Dentarias (congénitas y adquiridas)
Mandibulares.

Congénitas: prognatismo - braquignatismo - desviación lateral del maxilar inferior.

Adquiridas: desgaste anormal de piezas dentarias; ruptura y pérdida.

Debemos tomar como normal en los bovinos que la superficie postero superior de todos los incisivos debe tomar contacto con el rodete del maxilar superior. Es de hacer notar que se deben evaluar correctamente los toros que presenten gingivitis al igual que el edema que acompaña normalmente el cambio de dientes.

Lengua: se buscará la integridad del epitelio y como problema posiblemente mas frecuente la actinobacilosis.

A.4. Ganglios y Maxilar inferior: Las patologías más frecuentemente encontradas y en orden son:

- Abcesos de los ganglios submaxilares y parotídeos de etiología infecciosa múltiple.

Como causas predisponentes hacemos notar la influencia de los mismos factores de manejo nombrados en queratoconjuntivitis: Actinomicosis - Actinobacilosis.

B. Aparato Locomotor:

Sin ánimo de hacer un compendio de las enfermedades que pueden presentarse en esta área, es necesario puntualizar lo que a nuestro entender son los hallazgos más comunes.

B.1. Pie: Crecimiento anormal de las pezuñas: Ciertos toros padres transmiten a su descendencia ya sea la deformidad de la pezuña o el defecto de aplomo que luego la producirá. Como factores adquiridos hay que resaltar el tipo de suelo y manejo.

Es corriente a nivel de los establecimientos que se dedican a la producción de toros para la venta, del uso de pastoreos invernales y suplementación "táctica" que si no son conscientemente manejados se transforman en etiología desencadenante de trastornos a este nivel: (Infosura y crecimiento anormal del casco)

Callo interdigital:

Patología por todos conocida a la cual hay que darle importancia debido a la edad de los reproductores que evaluamos.

B.2. Lesiones articulares: En este punto creemos necesario destacar la sinovitis tarsiana coincidiendo con el Doctor Queirolo, Vemos que en determinadas razas se constata un aumento de la afección en los toros jóvenes.

Es de hacer notar que esta afección como todas aquellas que atacan el área locomotora se ven agravadas por la función del reproductor y su alimentación (aumento de peso y exceso de preparación)

B.3. Defectos de aplomos: Creemos necesario resaltar la importancia de los aplomos en la funcionalidad reproductiva del toro.

Consideramos que el sistema de cría extensivo con las grandes distancias y el esfuerzo continuado a que se ven sometidos los reproductores nos debe hacer evaluar seriamente este tipo de defecto. La cautela que debemos tener al examinar un toro adulto se debe transformar en la observación sistemática de toros jóvenes que presenten afecciones de este tipo.

C. Pecho: La lesión más corrientemente encontrada es la ulceración tórpida del mismo.

Observamos los toros que la presentan debido a la disminución franca de la funcionalidad en la monta que provoca (recordar la relación anatómica en la monta).

D. Aparato Reproductor:

El examen de los distintos órganos que lo componen lo efectuamos por: Inspección - Palpación.

Este examen es necesario que se efectúe entre dos operadores simultaneamente. Nosotros entendemos que es fundamental trabajar en equipo pues la técnica se efectúa más comodamente, a mayor velocidad y mayor precisión.

D.1. Prepucio: a la inspección estudiamos: Forma - Tamaño - Pendulosidad

Forma y Tamaño	sus variaciones tienen importancia debido a la mayor superficie de agresión frente a elementos mecánicos externos (Espinas)

Es fácil constatar que hay una gran variación de tamaño y forma con respecto a la raza con la que estemos trabajando (Razas Índicas y sus cruzas).

Es fundamental darle importancia en la inspección a la presencia de aglutinación de los pelos prepuciales; ésta nos demuestra a priori que hay un mal manejo higiénico de los reproductores y nos adelanta la posibilidad de encontrarnos con la principal lesión en nuestra casuística: Llaga de prepucio.

Esta afección a la cual se le han dado varias interpretaciones etiológicas (Queirolo y col. y F. Riet y col.) se presenta como una problemática común en la evaluación de toros jóvenes.

Otra patología encontrada a nivel prepucial son los abcesos y las secuelas cicatrizales de los mismos. Completando la inspección describiremos el tamaño y la forma del orificio prepucial. Las dos lesiones fundamentales en cuanto a la observación del reproductor serían: Fimosis - Parafimosis.

No describiremos clínicamente cada una de las afecciones. Pero es de hacer notar que hay variabilidad clara entre el tamaño del anillo prepucial entre las distintas razas, así como también surge en alguna de ellas el prolapso prepucial fisiológico ligado al carácter mocho (Queirolo y col.)

D.2. Pene: Extracción manual: El mismo operador efectúa la extracción manual provocada por el otro operador ubicado en caudal del toro.

Con este examen debemos inspeccionar: Tamaño del pene - Integridad de la mucosa del glande y prepucio - Presencia de cicatrices - Exéresis, Papilomas - Frenillo persistente - Integridad y ubicación del orificio uretral - Anillo de pelo.

La papilomatosis peneana representa un problema de difícil solución en toros jóvenes, pues muchas veces su tratamiento, ya sea médico o quirúrgico, no garantiza su curación.

Los anillos de pelo son causante de lesiones compresivas más o menos graves según la localización y el tamaño de los mismos. Las lesiones pueden variar desde una erosión simple hasta la amputación de parte del glande dependiendo de la duración del proceso. La aparición de los mismos se ve aumentada, debido a los hábitos de sodomía entre los toros jóvenes.

Otras afecciones menos comunes pero posibles de ser encontradas son: Pene bífido - Hipoplasia peneana - Adherencias.

D.3. Escroto: El técnico deberá ordenarse realizando sistemáticamente: Inspección - Palpación

En orden: Articulación tarsiana - Anillo inguinal - Ganglios inguinales superficiales (Muchas veces éstos son asiento de abcesos y fístulas)

Inspección: Forma - Tamaño - Ubicación - Integridad de la piel.

Lo importante es que a la inspección del saco escrotal podamos hacer una evaluación de las distintas lesiones y su importancia con respecto a la función reproductiva. Las lesiones mas corrientemente encontradas son: Ectoparásitos - Traumatismos físicos del medio - Alopecía - Fungosis y como corolario de lo anterior, la inflamación y el edema.

La importancia de la sanidad del escroto está dada por un buen funcionamiento de la termo regulación necesaria para la normal función espermiogénica.

Tamaño: Circunferencia escrotal.

Capítulo aparte merece esta medida, la cual se correlaciona directamente con el volumen y peso testicular.

La medición la efectuamos en la circunferencia mayor sin hacer esfuerzo depresivo sobre la masa testicular. Es necesaria la acumulación de datos nacionales con especificación de las razas, medio ambiente, peso y edad de los reproductores.

Nuestro grupo discrepa con la simple utilización de las medidas testiculares como método evaluatorio único de la fertilidad potencial; independientemente se ha encontrado marcada correlación positiva entre circunferencia escrotal y capacidad espermática en toros jóvenes. Disminuye hasta llegar a coeficientes negativos en animales adultos en la medida que aumenta la cantidad de tejido fibroso en la masa testicular. Además es conocida la casuística en toros con hipoplasia y degeneración

testicular coexistente con medidas de circunferencia escrotal normales. (Dr. Settergreen)

Palpación: A posteriori de una inspección bien hecha nos quedaría a la palpación constatar:
Aumento de la temperatura - Signos de inflamación - Prurito.

D.4. Testículo: Inspección: Se hace conjuntamente con la inspección del escroto dándole importancia al estudio: del eje de rotación - al tamaño - forma testicular.

Algo a destacar es que en la inspección se estudia conjuntamente la cola del epidídimo y su relación con el testículo, simetría de los mismos y de las colas de los epidídimos.

Palpación: Se debe palpar utilizando las dos manos del operador.

Se estudia: tamaño - forma - simetría - posición - consistencia y elasticidad - deslizamiento dentro del saco escrotal.

Tamaño: Independientemente de la circunferencia escrotal se hará la medición testicular individualmente.

Se toma haciendo abstracción del epidídimo tres medidas: largo - ancho - profundidad.

Para esto hay autores que preconizan el uso de un compás. Nuestro grupo coincide con la escuela sueca que con un buen entrenamiento es posible utilización de medidas digitales transportadas a una regla. Es importante hacer notar la variación racial que existe (Indicas disminuye) y la variación respecto al peso.

Forma: La forma normal es oval con la mayor curvatura del borde lateral externo en relación al borde interno que es más recto. Es posible encontrar formas que se aparten de la clásica; dejamos a libre consideración del actuante y creemos que no es correcto descalificar un toro por esta única condición.

Simetría: Los testículos normales deben ser simétricos aunque se puede tolerar clínicamente una diferencia entre ambos de sus medidas de hasta un 10%.

En cuanto al peso testicular una diferencia de hasta un 20% postmorten no es detectada clínicamente por más entrenamiento que posea el técnico.

Posición: La posición normal de los testículos es:
curvatura mayor: lateral externa y
cuerpo del epidídimo: en medial y posterior.
cola: interior y posterior
cabeza: inferior y superior
deferente: medial y anterior

Las variaciones en la posición con respecto al eje vertical creemos deben ser permitidas hasta un 90% de desviación. Con respecto al eje horizontal es más grave debido a que casi siempre corresponde a un trastorno del descenso.

Consistencia: Nuestro grupo, siguiendo la técnica de Galloway objetiviza a los efectos de la certificación cinco grados de consistencia que van del 1 al 5.

1= Fibrosis
2 - 3 - 4= Dentro de las condiciones de normalidad según: peso - edad - raza - estación del año.
5= Flacidez.

Es necesario aclarar que la medida de consistencia debe ser relacionada con la elasticidad del testículo. Por ejemplo: en el caso de una fibrosis testicular la consistencia está aumentada (Grado 1); y la elasticidad es nula.

Debemos aconsejar a quien se inicia en la exploración clínico genital que debe tener siempre presente que está trabajando con el órgano más reaccional de todo el organismo.

Deslizamiento: Por último debemos hacer deslizamiento del testículo en forma individual dentro del saco escrotal, de esta manera indirectamente se está evaluando la capacidad del cremaster,

Dentro de la patología lo más corriente son las adherencias entre las túnicas o entre ésta con el escroto que denuncia procesos nosológicos anteriores.

D.5. Epididimo: Inspección - Palpación

Inspección: se hace conjuntamente con la del escroto.

Palpación: se delimitan normalmente áreas bien definidas: cabeza - cuerpo - cola.

A la palpación se revisan por separado cada uno; para facilitar la maniobra se eleva el testículo contralateral y se estudia en ellos: Tamaño - Forma - Ubicación - Simetría - Consistencia

Exploración rectal de glándulas anexas

El operador por vía rectal debe palpar la próstata; las ampollas deferentes; las vesículas seminales y los anillos inguinales.

En orden de importancia como asiento de lesiones los trabajos uruguayos coinciden con los extranjeros en que la semino vesiculitis es la afección más común como causa de cuestionamiento en toros jóvenes.

Los parámetros usados: Tamaño - Forma - Consistencia - Lobulación - Adherencias - Sensibilidad - Simetría (No hay que magnificarla y se tolera el 10% de diferencia de tamaño)

Algo a recalcar, que es conveniente al palpar las vesículas seminales, es que se debe observar la elevación brusca del testículo homolatéral en los casos en que haya una lesión dolorosa en la vesícula.

Ampollas del deferente: Se debe palpar los siguientes parámetros: Simetría - Tamaño - Consistencia - Relaciones con los órganos vecinos - Sensibilidad.

En nuestra práctica de campo el número de casos con esta patología es rara.

D.6. Próstata: Situación - Sensibilidad - Consistencia.

Al finalizar este capítulo creemos necesario resaltar que no se debe tomar como causa de eliminación, una observación aislada antes de terminar la evaluación. A los hallazgos de este capítulo se lo deberá refrendar con la prueba de aptitud de servicio y análisis del semen. Estamos obligados a hacer la precisión de que por ejemplo, un toro criptórquido podría ser rechazado simplemente por este hecho, pero metodológicamente conviene seguir todos los pasos y eso nos ayudará al enriquecimiento de la casuística nacional y personal.

Esta es la sistematización que sigue de rutina en nuestro grupo (que no es única); nos es útil y la recomendamos pero lo que sí es vital es usar una sistematización cualquiera que ella sea pero siempre seguirla.

Aptitud de monta

Materiales y métodos: 1. Cepo de recolección: Es de fundamental importancia que reúna las siguientes condiciones:

A. Fortaleza.
B. Seguridad, para el animal manequin.
C. Lugar de emplazamiento sobre un buen piso nivelado, no resbaladizo, ni agresivo para los pies de los bovinos.
D. Ubicación que nos permite trabajar sin influencia perturbadora dentro del establecimiento.

2. Manequin: Animal macho y hembra, manso, de tamaño un poco menor que los toros a evaluar y de buena fortaleza.

3. Brete: Paralelo cercano al cepo de colección para sacar los animales probados.

4. Vagina artificial: (Varios modelos); de acuerdo al operador y al tipo de animal.

Nosotros excitamos previamente a los toros a probar a través de un alambrado, luego de reconocer los integrantes del grupo sexualmente más activos.

Por lo general en grupo de tres toros por vez.

Consideramos la vagina como instrumento que nos permite la evaluación de la aptitud de monta y la extracción de una muestra de semen menos influenciada por factores externos y representativa por más constante que el electroeyaculador y la extracción por masaje. Además nos permite evaluar función peneana (torsión).

En cuanto a la prueba en sí los puntos a estudiar serán:

a. contrastación de la libido; b. aproximación; c. erección; d. monta; e. abrazo; f. movimiento de búsqueda; g. golpe de riñón; h. desmonta.

A pesar de que no describiremos eslabón por eslabón, esta cadena de acontecimientos, es fundamental la comprensión de la misma. La falla en alguno de estos pasos nos indica, o mejor nos orienta sobre determinado tipo de patología. Por ejemplo, fallas en los aplomos nos darán monta lenta, mal abrazo y desmonta cautelosa.

Es importante describir bien pormenorizadamente todos los eslabones en la certificación de toros problema, pues así se creará un léxico común en la profesión.

Esto permitirá una buena interpretación a distancia de la aptitud del toro.

Examen de semen

Material y método:

A. Lugar protejido para trabajar o en su defecto vehículo apropiado
B. Microscopio de ± 300 aumentos.
C. Platina térmica (batería o 220 volt).
D. Pipetas
E. Portaobjetos y cubreobjetos
F. Papel pH.
G. Tubos con Formol Salino Bufferado para remitir al Laboratorio.
H. Tubos para remitir semen fresco refrigerado al Laboratorio.
I. Conservadora con refrigerantes, no utilizar hielo.

Una vez recolectado el semen, recibimos la copa, el tubo o la bolsa de polietileno protegida de la luz solar y el shock térmico.

Se evalúa el volúmen, color, aspecto, ph, inmediatamente. Es dable esperar en toros jóvenes y sin experiencia volúmenes relativamente bajos entre 2 y 4 cc.

Las variaciones de color y aspecto están dadas por la concentración espermática o por elementos extraños: Sangre - Pus - Orina - Pelos - Pigmentos.

La evaluación subjetiva de la densidad considerada ya clásica es:

cremoso : 1.000.000 de espermatozoides/mm^3 o más.
lechoso : de 500.000 a 800.000 espermatozoides/mm^3.
aguachento : 100 a 300.000 espermatozoides /mm^3

Estudio microscópico

Se efectúa observando una gota de semen puro sin cubreobjeto, enfocando con baja resolución el borde de la misma. Sobre platina caliente a 37°C. De esta manera evaluamos la actividad de masa, clasificándola de la siguiente manera:

A. +++ : ondas rápidas y vigorosas
B. ++ : ondas medias
C. + : ondas lentas
D. - : sin actividad de masa.

Motilidad individual y densidad

La evaluamos con una segunda gota de semen con cubre objeto (gota aplastada).

Densidad la expresamos en:

- DDD (↑ densidad más de 1.000.000 sp/mm^3)
- DD (+ 500.000 sp/mm3)
- D (↓ densidad menos de 500.000 sp/mm^3)

La motilidad individual se estima a mediano aumento sobre el porta objeto de espermatozoides totales que presentan movimiento progresivo uniforme.

Con disolución de esta gota con suero fisiológico y a mayor aumento estimamos la proporción de espermatozoides vivos y muertos, sin utilizar coloración supravital.

LC:MCH:AF:FH:RR:hdsg

DEGENERACION TESTICULAR

ALFREDO FERRARIS

Definición: es una patología que afecta a la espermatogénesis y se caracteriza por procesos degenerativos que en sus últimas consecuencias termina con la atrofia del epitelio seminal, produciendo la hialinización de la membrana basal e incluso la pérdida de las células de Sértoli.

Dentro de la patología testicular, esta afección es de las más comunes junto a los cambios inflamatorios, fibrosis testicular e hipoplasia testicular.

Es la causa más común de la reducción de la fertilidad o esterilidad definitiva e irreversible de un reproductor. Cita el Prof. Lagherlöff que en países donde se ha erradicado la brucelosis, esta patología ocuparía el 50 a 60% de los casos que llegan a las clínicas de reproducción.

Es un proceso progresivo que tiende a incrementarse a medida que aumenta la edad de los animales. Por lo tanto, en los toros más viejos se presenta más la casuística y con grados de irreversibilidad más frecuente.

Se caracteriza por cambios necrobióticos en la diferenciación del epitelio germinal (en mayor o menor grado), llegando a reducir las capas epiteliales de los conductos seminales hasta destruirlos totalmente. Esta reducción puede alcanzar hasta quedar un solo extracto de células o que la totalidad del túbulo seminífero sea destruído. Las células intersticiales no sufren modificaciones y algunos autores incluso afirman que aumentan en número.

La degeneración testicular (DT) puede ser unilateral o bilateral dependiendo de la noxa si es local o general.

La mayoría de los testículos afectados muestran anormalidades en tamaño y en consistencia, es así que los testículos con tamaño normal generalmente aparecen más blandos a la palpación, mientras que los reducidos de tamaño pueden manifestarse blandos o duros.

El reblandecimiento o disminución del tono testicular es casi siempre indicio de rapidez en el proceso degenerativo. La consecuencia final es una fibrosis testicular, etapa ésta que se llega en un tiempo prudencial y en definitiva ésto puede verse en animales más viejos.

Si la fibrosis es muy evolucionada el órgano se nos presenta tenso y duro, pero más pequeño que los normales. Pueden existir depósitos de calcio en los conductos degenerados como consecuencia de la éxtasis tubular, y al cortar el testículo sagitalmente se observan manchas amarillo-blanquecinas.

Causas: Dificilmente existe un órgano más sensitivo y que reacione en toda su extensión como lo es el testículo. Richard Goette (1921) sostiene que la mayoría de las atrofias testiculares son inespecíficas.

La reacción del epitelio germinal, varía cuantitativamente pero no cualitativamente, es decir que diferentes causas pueden producir los mismos cambios cualitativos, pero los cuantitativos van a variar de acuerdo a la intensidad de la causa que los produce.

a. Constitución débil del animal: ésta débil constitución del animal, se refleja generalmente en una lábil constitución endócrina que actuando en el gobierno de la espermatogénesis es influenciada por las causas actuantes. Hay susceptibilidades de razas descriptas por algunos autores europeos citando predisposición especial a la degeneración testicular, así como a otras patologías.

Está descripto también que por el solo hecho de "transplantar" un toro desde su establecimiento donde fue criado y llevado a un centro de inseminación artificial (I.A.)a menudo son inducidos a una depresión de su producción seminal.

b. Enfermedades sistémicas:

1. las enfermedades infecciosas que cursan con fiebre a menudo nos llevan a la D.T.

   El clásico ejemplo lo tenemos en Fiebre Aftosa.

2. intoxicaciones endógenas o exógenas con curso agudo o crónico.

   Esta categoría incluye estados agudos como ser intoxicaciones alimenticias (acidosis, indigestiones, etc.)

   Es importante destacar o alertar en nuestro medio el uso indiscriminado de testosterona y otros anabolizantes causantes de D.T.

c. Factores nutricionales: no se conocen factores nutricionales en el toro que afecten específicamente la espermatogénesis. Se entiende que dietas adecuadas para el crecimiento y mantención son adecuadas también para la óptima fertilidad. La carencia de Vitamina A, directamente adquiere más significación en el cerdo.

d. Temperatura: la temperatura, como entidad primaria o secundaria a los otros procesos, adquiere primordial importancia. Los testículos están a menor temperatura que la corporal y ésto es un prerrequisito para una normal espermatogénesis. Los testículos retenidos en el abdomen o en el canal inguinal son estériles.

La espermatogénesis es reducida o suspendida por la misma razón si el cremaster es corto y el testículo no puede descender al saco escrotal. Aveces, se produce degeneración en toros con excesiva grasa escrotal (patología importante en el caso de cebamiento de toros que van a exposición o en cabañas). Es conocida por todos la esterilidad de verano en carneros expuestos a días muy calurosos y en este caso actuará como factor predisponente la excesiva cantidad de lana escrotal.

El cebamiento de los toros produce un depósito excesivo de grasa que no permite mantener el equilibrio de termoregulación; hace retener calor al testículo, con la consiguiente degeneración testicular.

e. Inflamaciones: las lesiones de escroto o testículo son comunes en la clínica diaria. En las orquitis unilaterales, los cambios inflamatorios elevan la temperatura en el testículo afectado y el calor se trasmite al testículo contralateral lo que induce a una rápida degeneración testicular.

Lagerlöff aconsejaba, en casos de orquitis unilaterales inespecíficas la orquidectomía unilateral para que no se trasladara la patología al testículo opuesto. Lo mismo ocurre con las periorquitis y las epididimitis y las adherencias de la parietal con la visceral de la túnica vaginal.

Dermatitis y otras lesiones de escroto son determinantes de degeneración testicular. Los toros están expuestos a traumatismos de la bolsa testicular causados por espinas y barro; sarnilla y otros ectoparásitos que inmediatamente pueden provocar degeneración testicular que generalmente es leve, pero que puede producir una esterilidad temporaria. A menudo en nuestro medio se están presentando dermatitis por el uso de iodados en los tratamientos antiparasitarios escrotales.

f. Lesiones vasculares: incluye la torsión y compresión del cordón testicular, la biopsia testicular y lesiones vasculares degenerativas de mayor frecuencia en toros de edad avanzada.

g. Lesiones obstructivas: en los conductos eferentes en la cabeza del epidídimo que lleva al edema y degeneración de los tubulos seminíferos por éxtasis retrograda

h. Plantas venenosas: están descriptas en carneros y ratas.

i. Causas hormonales: en perros , la D.T. acompaña a los tumores de pituitaria e hipotálamo. También en perros se produce D.T. por la producción de esteroides por las células de Sértoli y de Leydig cuando éstas son tumorales. La administración de ACTH produce D.T. en ratas.

j. Autoinmunidad: es experimental, son causas también de D.T., se han producido degeneraciones testiculares en cobayos, ratones, toros y carneros con la inyección de material a base de espermatozoides autólogos e isólogo juntamente con el adyuvante de Freund.

CAMBIOS CLINICOS PATOLOGICOS Y MORFOLOGICOS

i. son atacados los elementos biológicos más diferenciados (espermátidas)

ii. su desarrollo es inhibido o retardado o las células degeneran y pierden su conección con las células vecinas. Consecuentemente la degeneración varía de leve afección de la capa de espermátidas a la completa destrucción de todo el epitelio con engrosamiento e hialinización de la basal transitando hacia la fibrosis.

DIAGNOSTICO

A. Fertilidad: la baja de fertilidad es el primer síntoma de D.T. (Settergren, 1971).

B. Exámen clínico: haciendo hincapié en una correcta historia (en animales nuevos, no disponemos de records reproductivos).

Tamaño, consistencia y elasticidad testicular adquieren singular importancia en el exámen clínico.

C. Exámen de semen y expermiograma: anomalías en espermatozoides (inmaduros, gotas proximales, muchos defectos de cola por los cambios epididimarios, anomalías en cabeza, baja concentración espermática y células gigantes. La diferencia entre D.T. e Hipoplasia parcial, puede ser difícil en toros jóvenes. Como la degeneración es rápida se aconsejaría esperar el resultado de varias muestras de semen durante un par de meses antes de dar el diagnóstico definitivo.

AF:hdsg

HIPOPLASIA TESTICULAR

LUIS CUENCA

Es una afección congénita: desde el principio el testículo hipoplásico carece de potencial para un desarrollo normal, aún bajo las mejores condiciones ambientales.

O sea que hay una inhabilidad intrínseca del epitelio seminal para diferenciarse normalmente cuali o cuantitativamente (lagerloff, 1934; Galloway, 1976).

Hay un disturbio primario en la espermatogénesis de carácter hereditario.

Puede ser debido a:

- falta de desarrollo de células germinales (durante período fetal)
- falla en la migración de células germinales a la gonada
- falla en la multiplicación de células germinales en la gonada
- amplia degeneración de células germinales

FORMAS: TOTAL O PARCIAL } con grados de severidad evidenciada por:

- → subfertilidad
- → menor tamaño testicular
- → cuadro seminal
  - concentración
  - motilidad
  - morfología
- → cuadro histiológico

El grado de severidad está dado por el número de túbulos afectados y éso se refleja en los hallazgos clínicos.

Como comentario al Cuadro 1, se puede decir que el mismo intenta demostrar que según se trate de un tipo u otro de hipoplasia podrá haber: desde una sintomatología clara y definida en la que tanto el exámen clínico genital como el exámen de semen no dejan lugar a dudas en cuanto al diagnóstico, hasta casos en los que solamente se nota que la congelabilidad y la fertilidad se encuentran ligeramente disminuídas y en los que el diagnóstico se hace difícil y requiere un estudio prolongado del caso con múltiples exámenes clínicos e investigación de la perfomance reproductiva de sus ancestros y su descendencia.

Cuadro 1: HIPOPLASIA: Esquema de la posible gradación en la presentación de la sintomatología.

SINTOMATOLOGIA (Líbido mantenida)			
Tamaño Testicular:	de 1/2 a 2/3	→	hasta normal
Consistencia:	alterada ↑ o ↓	→	hasta normal
Elasticidad:	disminuída	→	hasta normal
CALIDAD SEMEN:	aspecto acuoso	→ poco denso →	normal
Concentración:	muy disminuída	→ disminuída →	normal
Motilidad:	muy disminuída	→ disminuída →	
Morfología:	alto % de graves alteraciones cefálicas y/o espermatozoides inmaduros	→ aumento de alteraciones graves →	escasas alteraciones
Otras células:	. células pseudo gigantes . núcleos picnóticos	→ aumento de alteraciones graves →	escasas alteraciones
Congelabilidad:	muy pobre	→ disminuída →	ligeramente disminuída
Fertilidad:	muy pobre	→ disminuída →	ligeramente disminuída

Cuadro 1: HIPOPLASIA: Esquema de la posible gradación en la presentación de la sintomatología.

SINTOMATOLOGIA (Líbido mantenida)			
Tamaño Testicular:	de 1/2 a 2/3	→	hasta normal
Consistencia:	alterada ↑ o ↓	→	hasta normal
Elasticidad:	disminuída	→	hasta normal
CALIDAD SEMEN:	aspecto acuoso	→ poco denso →	normal
Concentración:	muy disminuída	→ disminuída →	normal
Motilidad:	muy disminuída	→ disminuída →	
Morfología:	alto % de graves alteraciones cefálicas y/o espermatozoides inmaduros	→ aumento de alteraciones graves →	escasas alteraciones
Otras células:	. células pseudo gigantes . núcleos picnóticos	→ aumento de alteraciones graves →	escasas alteraciones
Congelabilidad:	muy pobre	→ disminuída →	ligeramente disminuída
Fertilidad:	muy pobre	→ disminuída →	ligeramente disminuída

Se han estudiado bien tres tipos de hipoplasia:

I. Hipoplasia clásica (Lagerlöff)

II. Hipoplasia con espermatogénesis detenida (Knudsen)

III. Hipoplasia tipo baja resistencia de células germinales (Settergren)

HIPOPLASIA CLASICA

(Lagerlöff, 1934 - Settergren, 1953 - 1964)

Hay ausencia de células germinales en parte o toda la gonada.. Origen genético. Es trasmisible a hijos machos y hembras.

CLINICA

- Tamaño testículo de 50 a 80% del normal
- Consistencia:alterada ↓ o ↑
- Elasticidad: disminuída
- Esterilidad o marcada subfertilidad
- Hipoplasia ovárica en la descendencia

CUADRO SEMINAL

- Azoospermia o:
- Semen acuoso, concentración 50.000 a 400.000 alto porcentaje de patológicos e inmaduros.

HISTOPATOLOGIA

- Casos graves: túbulos vacíos sin células de la espermatogénesis, sólo células de Sertoli.
- Casos moderados: hay por lo menos 1/3 de los túbulos funcionantes con distintos grados de espermatogénesis.

Cuadro 2: EXAMEN INICIAL DE SEMEN (Toro 218 kg)

Fecha →	18/6		27/6		12/7	
	A	B	A	B	A	B
Volumen ml.	2.5	3.0	1.5	2.0	1.0	1.5
- Densidad	D	(D)	(D)	(D)	acuoso	acuoso
- Actividad de masa	(+)	(+)	(+)	(+)	0	0
- Motilidad %	30	35	20	30	10	10
Cuadro Seminal						
Concentración/mm^3	650.000	500.000	450.000	400.000	350.000	300.000
- Anomalías cabeza	3.4		5.8		5.2	
- Piriformes	7		5		6	
- Angostos base	4		3		3	
Gota cit. proximal	1		2.5			
Gota cit. distal	3		4		10	
P. media	0		0.5		1	
Acrosomas	0.5		0.5		-	
- Cabezas sueltas	18.5		2.8		11.5	
Cola curvada simple	2		2		2.5	
Cola enrollada debajo	4		2		4.5	
Cola enrollada alrededor	2		1		5	

Histopatología: mayoría de túbulos vacíos o con una capa de epitelio germinal, algunos túbulos con presencia de espermios.

Resumen de hallazgos:

- Historia: baja fertilidad
- Examen clínico: tamaño testículo ↓ consistencia ↓ elasticidad ↓
- Semen: Examen inicial: act. masa ↓ motilidad ↓
  Cuadro seminal: concentración ↓ anomalías cabeza ↑ cabezas sueltas ↑

Diagnóstico: Hipoplasia testicular

HIPOPLASIA CON ESPERMATOGENESIS DETENIDA

(Knudsen, 1958 - 1961)

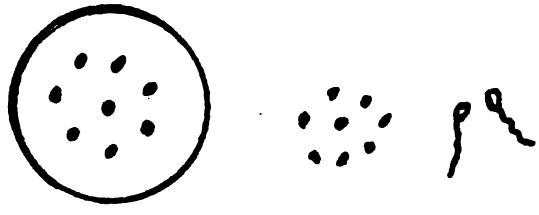
Línea consanguínea de Holstein

Hay espermatogénesis, pero en la mayoría de los túbulos detención de la espermatogénesis no complementándose una diferenciación normal del epitelio.

CAUSAS
- 1 Adherencia cromosómica - falla al separarse en anafase (espermatocito primario)
  - abundantes núcleos picnóticos
- 2 Husos múltiples - falla en la división celular → formación de células pseudogigantes multinucleadas.

CLINICA → ligera disminución de tamaño testicular, consistencia y elasticidad normales.

CUADRO SEMINAL → semen acuoso o poco denso. Centrifugado con presencia de alto número de núcleos picnóticos y/o células gigantes multinucleadas.



Cuadro 3: EXAMEN INICIAL DE SEMEN (Toro 2 Fylla)

Fecha →	25/4		2/5		9/5	
	A	B	A	B	A	B
Volumen	5ml.	5ml.	5ml.	5,5ml.	7ml.	4ml.
Densidad	DDD	DDD		DDD	DD(D)	DD
. Actividad de masa	++	+(+)	(+)	+(+)	++	+(+)
. Motilidad	50%	40%	40%	40%	50%	40%
CUADRO SEMINAL						
Concentración/mm^3	1.500.000	1.900.000	1.100.000	1.400.000	1.100.000	1.200.000
. Anomalías cabeza total	6%		5%		6%	
Gota citopl. prox.	5		3		2,5	
Gota citopl. distal	3.5		0.5		0,5	
An. pieza media	1.5		3		-	
Acrosomas	-		1		-	
. Cabezas sueltas	18.5		13.5		8	
Cola curvada simple	0.5		2		-	
Cola enrollada debajo	1.5		-		-	
Cola enrollada alrededor	0.5		2		-	

Resumen de hallazgos

- Historia: Nunca tuvo buena fertilidad - hijos e hijas con hipoplasia
- Examen clínico: consistencia testicular ↓ elasticidad ↓
- Semen: Examen inicial: Actividad de masa ↓ Motilidad ↓
  Cuadro seminal: Anomalías de cabeza ↑ Cabezas sueltas ↑

Histopatología: Atrofia del epitelio seminal con fibrosis testicular

Diagnóstico: Hipoplasia testicular tipo "baja resistencia de células germinales".

HIPOPLASIA TIPO "BAJA RESISTENCIA DE CELULAS GERMINALES"

(Lundgren, 1972; Settergren, 1973)

Origen genético

Toros que en general presentan testículos clínicamente normales o en el límite inferior de la normalidad, con cuadro seminal normal, tal vez con fertilidad y/o congelabilidad ligeramente disminuída pero que intrínsicamente tienen una predisposición a hacer una degeneración del epitelio germinal ante factores externos o aún sin causa aparente.

Clínica: Hay una graduación en la severidad de la afección: desde testículos chicos y semen acuoso, hasta la normalidad.

- Los únicos hallazgos iniciales pueden ser menor fertilidad y congelabilidad.

- En algunos casos puede acompañarse de hipoplasia ovárica en la descendencia.

EN EL URUGUAY

Se han diagnosticado casos por examen clínico y espermiograma. Es difícil conseguir el material para histopatología.

Aspiraciones: poder instrumentar el estudio sistemático (historia, examen clínico, espermiograma e histopatología) de la prevalencia de disturbios de la espermatogénesis (de origen congénito o adquirido) y su posible relación con hipoplasia ovárica, con el fin de evitar su difusión.

Todo reproductor del que se venda semen deberá estar libre de estos problemas genéticos.

LC:hdsg

EPIDIDIMITIS DE LOS TOROS

MARIO CHIOSSONI

La epididimitis de los toros es una afección con múltiples etiologías; reconoce los siguientes agentes causales:

- Brucella abortus
- Corynebacteria
- Pseudomona
- E. Coli
- Estafilococos
- Mycoplasma
- Clamidia
- Epivag
- Agentes traumáticos

La vía de infección es por vía sanguínea o descendente, por el conducto deferente en casos de vesiculitis.

Geográficamente aparece por lo general en la cola del órgano. Es mucho menos significativa que la vesiculitis y ocurre en mayor proporción en toros adultos no vírgenes. Según Ferraris, Aragunde y Carbo (1974) en trabajo evaluatorio realizado sobre 2000 toros durante dos años, la ocurrencia fue:

Epididimitis: 3 casos en toros jóvenes, 21 casos en adultos
Semino-vesiculitis: 50 casos en toros jóvenes, 25 en adultos
En Young, sobre 423 toros jóvenes, la incidencia fue del 0,7%.

Cuadro 1: Datos extraídos de trabajos realizados en Young. 1981-82

Total revisados Clínicamente	Observados por Vesículas	o/o	Observados por Epidídimo	o/o
1494	179	11.0	39	3.8

Total Toros Colectados	Vesiculitis	o/o	Epididimitis	o/o
423	13	3.7	3	0.7

Dep.Vet. CADYL. 1981-1982.

Granuloma Espermático

Se produce por una lesión perivascular, con éstasis por obstrucción y con extravasación de semen. posterior liberación de ácido micólico desencadenando una reacción de tipo granulomatosa.

La espermeostasis se debe a túbulos epididimarios aberrantes en cabeza que son restos de canalículos mesonéfricos y en segundo lugar a la colusión de los conductos eferentes.

Blom y Christensen manifiestan que la espermiostasis alta está genéticamente determinada por un factor hereditario recesivo.

No siempre aparece en jóvenes.

Puede ser uni o bilateral, ésto es importante, pues al ser lenta la formación del granuloma, el torito es fértil al principio.

Según McEntee, si la oclusión es en los túbulos eferentes, la presión negativa hacia atrás puede producir degeneración testicular, a pesar de ésta se mantiene el tono testicular por la secreción testicular sostenida.

Aplasia segmentaria del conducto mesonefrico

Tiene importancia debido a su posible naturaleza hereditaria. Por lo general es unilateral derecha; sino hay otra enfermedad agregada, el toro es fértil.

La presencia de espermiostasis ocurre en la zona cercana a la aplasia. Puede faltar todo o una parte que puede ser del deferente.

En algunos casos la vesícula homolateral es hipoplástica o falta.

El diagnóstico se realiza por palpación y se corrobora por disminución grave de la concentración espermática.

Datos clínicos importantes, cola chica y vacía unilateral, cabeza con disimilitud de tamaño con la heterolateral, en cambio en la aplasia segmentaria el cuerpo y la cola están más llenas que la contraria.

Toros con trastornos hormonales presentan cambios en el epitelio del epidídimo con reducción de la motilidad, necrospermia, colas de mico y dobladas.

Semino Vesiculitis

Dentro de las potologías que afectan a las vesículas seminales reconocemos en nuestra práctica de campo, que lo observado por los autores como Van Der Sluis (1953-1961); McEntee (1962); Carrol y Pathak (1967), se produce en los toros con que debe enfrentarse nuestro grupo de trabajo. Esto es, que la seminovesiculitis es la afección más común dentro de las patologías halladas en los exámenes de capacidad reproductiva en toros jóvenes.

A pesar de haberse encontrado algún caso de aplasia vesicular, lo mismo que de hipoplasia, vamos a tratar aquí la seminovesiculitis como el tema más importante.

Cuadro 2: Incidencia de la inflamación en las glándulas accesorias del toro. FUENTE: The Veterinary Bulletin. 1974.

Estudios de Campo	Número Animales	Vesículas Seminales	o/o
Van Der Sluis (1953)	828	35	4.2
Van Der Sluis (1961)	2278	18	0.8
McEntee (1962)	343	16	4.7
Carrol (1963)	7359	181	2.5
Pathak (1967)	41	7	17.0

La edad de esta afección según McEntee puede ser muy temprana 6 á 10 meses pero en nuestro medio se toma contacto con los toros por primera vez a los 18 meses aproximadamente.

Cuadro 3: Incidencia de la edad en la vesiculitis seminal bovina. FUENTE: Leslie Ball. American Journal of Veterinary Res.

EDAD (años)	Total Examinados	Número Afectados	o/o
1	1202	71	5.9
2	2344	47	2.0
3	1199	15	1.3
4	819	8	1.0
5	720	7	1.0
6	462	6	1.3
7	213	4	1.9
8	101	0	0
9	42	2	4.8
10 y más	76	5	6.6
TOTAL	7178	165	

Normalmente no hay signos externos de la afección, aunque hemos sido consultados, en algún caso, por cuadros de cólico en toros de cabaña sobrealimentados, con abceso de vesícula.

Se desprende de lo dicho, que el sistema de cría convencional influye mucho en el cuadro que encuentra el veterinario. En algunos casos se han encontrado lesiones inflamatorias en el epidídimo acompañadas a seminovesiculitis aunque lejos está de ser la norma.

El diagnóstico se efectúa cuando se trata de evaluar la capacidad reproductiva de los toros jóvenes con miras a su posterior venta y en toros adultos en los casos que el productor evalúa, previo al entore, sus toros padres.

A pesar de que se posee mucha mayor cantidad de datos de toros jóvenes que de adultos, creemos que el rango de edades que publicó Ball (Colorado State University) en 1964, se repite en nuestra realidad; según este autor, en un total de 7.178 toros de 1 á 10 años había 165 afectados, 133 estaban dentro del rango de 1 á 3 años. Las condiciones de manejo que describimos creemos que son fundamentales. Autores extranjeros constatan el aumento de la afección en toros jóvenes criados en conjunto.

La patogenia de la infección puede deberse a infecciones ascendentes o descendentes de prepucio (sodomía), epidídimo y testículo.

El Doctor McEntee, en comunicación personal, nos decía que es más común que sea descendente.

Mirando los datos llegamos a la comprobación que éste 11% presenta o ha presentado lesiones vesiculares, pero no todos tienen pus en el exámen del semen (Cuadro 1).

Me preguntarán ustedes qué criterio se usa entonces para observarlos. Se observan estos toros pues tenían una o dos vesículas aumentadas de tamaño y de tono o habían perdido su lobulación. Esto nos muestra que ya a edad temprana, un alto número de individuos han superado, o lo están haciendo, el problema en sus vesículas. Evidentemente que si se hicieran controles anteriores, el cuadro cambiaría.

En cuanto a la etiología, quiero hacer una precisión. La bibliografía cita gran cantidad de agentes: Epivag (Virus aislado por Mare y Rensburg en 1961); IBR Virus (Kenney, 1971); Clamidia ha sido responsabilizada por varios autores como agente primario de seminovesiculitis e inclusive Evgster (1971) reprodujo la enfermedad por su inoculación intravenosa; Mycoplasma también es citado por varios autores, así como Corynebacteria pyogenes y renale; E. Coli; Pseudomona; Brucela; Micobacterium tuberculosis y paratuberculosis.

Galloway, en 1970, da una presunta explicación al síndrome de seminovesiculitis de Ball, responsabilizando a una reacción inmunológica y Parsons, en 1971, produce una seminovesiculitis alérgica en toros.

En la pequeña experiencia nuestra, se han constatado aislamiento de Pseusomona y Corynebacteria principalmente, pero no nos animamos a responsabilizar a estos agentes, como primarios, viendo la literatura extranjera y la experiencia clínica. Creemos lógico suponer que estos gérmenes actúen complicando infecciones a Mycoplasma y Clamidia.

Con el Doctor Cuenca ya hace algunos años utilizando la técnica de Galloway se intentó corroborar en el laboratorio esta suposición.

Esta técnica puede ser realizada a campo. Luego de exteriorizar el pene del toro y convenientemente sujeto (previa higiene con solución fisiológica) pasar una sonda de polietileno por la uretra lo más alto posible y por medio de masaje de vesícula, por la vía rectal, colectar semen para el cultivo.

El cultivo de semen extraído por otros métodos no tiene validez debido a la contaminación.

Según Galloway habría dos tipos de seminovesiculitis con cambios intersticiales crónicos, muchas veces con presencia de pus en el semen y otro con trastornos degenerativos y con variable extensión de la inflamación, con semen Schalm positivo, pero sin pus visible y bilateral. La seminovesiculitis del primer tipo sería unilateral.

Creemos que esta descripción ya clásica, basada en la histopatología y estudio de semen, se adapta a lo que se ha encontrado estos años y a los resultados de los intentos terapéuticos que trataremos más adelante.

Creo importante destacar la metodología de acción que utilizamos en el trabajo de campo, frente al o a los toros problemáticos; no se toma una decisión hasta no tener todos los elementos de estudio disponibles, es decir que luego de palpar la o las vesículas presuntamente afectadas, se estudiará el semen colectado de más de un salto, con prueba de Schalm y estudio del frotis; se reúnen entonces todos los elementos necesarios para determinar no sólo el diagnóstico sino a qué grupo va el toro (rechazo-observado-normal).

La prueba de Schalm no tiene significación diagnóstica pues, como manifiesta Robers, los leucocitos pueden provenir de otros lugares del tracto genital.

En cuanto al semen producido por los toros, se encuentran grandes variaciones entre eyaculados y entre individuos.

En algunos toros hay aumento del pH y disminución del volumen del eyaculado con enlentecimiento del movimiento espermático.

En algunos casos, y de ahí la importancia de hacer todos los exámenes antes de tomar una determinación, es que algunos toros (que a la palpación rectal hacen presumir por el tamaño, forma y consistencia de sus vesículas que presentarían una calidad seminal mala), producen un semen de calidad aceptable. Esto también coincide con lo expuesto por Ball quien comunica que en toros con seminovesiculitis, aproximadamente un 40% tenían semen de buena calidad y un 50% de los mismos era cuestionable (Cuadro 4).

En cuanto a la terapéutica utilizada por nosotros, los resultados han sido casi siempre no muy convincentes.

Hemos usado tratamientos inespecíficos como yoduro de sodio o potasio solos o combinados con antibióticos. En otros casos, previo antibiograma, hicimos tratamientos específicos con el antibiótico al cual el semen mostraba sensibilidad "in vitro".

Cuadro 4: Comparación de calidad de semen en toros afectados y no afectados de vesiculitis seminal. FUENTE: Leslie Ball; American Journal of Veterinary Research.

Clasificación del semen	Número de Afectados	o/o	Número de no Afectados	o/o
No satisfactorio	16	9.5	331	4.6
Cuestionable	84	50.0	841	11.7
Satisfactorio	68	40.5	6000	83.7
Total	168	100.0	7172	100.0

Hasta el momento, en general no se ha tenido mucho éxito comparando con toros sin tratamientos. Se ha encontrado en toros con vesiculitis y células inflamatorias en el semen que el número de curaciones espontáneas luego de un período variable de 3 á 6 meses es muy parecido al de toros con tratamiento. Aproximadamente el 70% de los toros se han dejado sin vender; muestran luego cuando se examinan (6 á 8 meses después) una fibrosis pronunciada en la o las vesículas afectadas y semen aceptable, sin pus o con muy pequeña cantidad de leucocitos.

Se debe considerar con el propietario la posibilidad de tratamiento o nó de los toros de 2 años afectados, estudiar el momento del examen, tiempo para intentar la curación, costo, perspectivas de venta fuera de la temporada normal (agosto-diciembre), y si es costumbre propia o de las de sus clientes, vender o comprar de 3 años

La escuela norteamericana es firme defensora de la solución quirúrgica. Esta técnica que vimos practicar al Dr. Podestá siendo estudiantes, ya hace 20 años, está muy bien descripta por los Dres. P.Videla; Alfredo Witt; Repetto y Montes. En 1974, en el primer curso sobre "Evaluación de reproductores bovinos machos" en Tacuarembó, el Dr. Luis E. Queirolo, practicó otra técnica que no se ha visto publicada y que prácticamente puede ser usada en toros de campo.

Como conclusiones, quiero hacer algunas puntuaciones. La Asociación Rural del Uruguay en 1980, puso en práctica el examen de aptitud reproductiva potencial de los toros que fueran a venderse a las exposiciones auspiciadas por la misma.

Luego de un corto período se dejó eufemísticamente "en suspenso" la obligatoriedad y como motivación principal se adujo la causa económica: bajos precios de venta, alta oferta y baja demanda de toros, primaron para que se cometiese, a mi entender, un grave error.

La profesión había recibido con beneplácito esta obligatoriedad durante algún tiempo añorada. Creemos que se debe movilizar a la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay, para que con fundamentación, revea esta medida.

Quiero usar una frase que sintetiza un poco ésto: "Una pareja estéril o un hombre afectado por dolor en la micción consulta a su médico. Pero cuando un productor consulta a su veterinario, evidentemente no lo hace en las mismas circunstancias ni con el mismo espíritu. Lo económico, que en cierta manera no tiene preponderancia en medicina humana, es preponderante, sino exclusivo, en la cría de los bovinos".;

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

VAN DER LUIS L. Experiences whith the examination herd infertility Proc. Ier World Congr. Fert., Steril. N.York. 1953.

VAN DER LUIS L. The systematic examination of bulls on the grounds of fertility and recreding of the results in the pedigree herd books. 4º Congr.Animal Repr. The hag UE. 1961.

Mc. ENTEE, K. Seminal vesiculitis in the bull. Proc. us Linstck Sant. Washington. 1962.

CARROL, E.J.; BALL, L.; SCOTT, S.A. Breeding soundness in bulls sumary of 10.940 examinations. J.Amer.Vet.Med.Ass. 1963.

PATHAK, R.C. Importance of periodic examination of bull used for artificial insemination work. A study of bulls with seminal vesiculitis. Indian Vet. 1967.

BALL, L.; GRINER, L.A.; CARROL, E.J. The bovine seminal vesiculitis syndrome, lesions in genital organs of young bulls. Amer. J. Vet.R. 1968.

MARE J. RENSBURG. The isolation of virus associated with infertility in cattle a preliminary report. J.S.Afr.Vet.Med.Ass. 1961

KENNEY,R.M. Selected diseases of the testicle and epid. of the bull Proc. 6th. Int.Conf.Cattle deseases. 1970 Oklahoma. 1971.

MCH:hdsg

CALIDAD SEMINAL

FRANCISCO HAEDO

INTRODUCCION

Desde hace muchos años, el hombre ha tratado de encontrar el mejor método para evaluar la fertilidad de un reproductor. Los trastornos reproductivos en un macho son múltiples e indudablemente complejos. Hoy día, un examen clínico general, con examen externo e interno de los órganos genitales, más el estudio de calidad seminal, es el camino a seguir para valorar la potencial fertilidad de un reproductor macho.

Lagerlöf en 1934 fue el primero en analizar en detalle (utilizando para ello una gran cantidad de reproductores) la correlación entre la morfología espermática y su fertilidad. Establece por otro lado que esta correlación se mantiene si el porcentaje de espermatozoides anormales se encuentra dentro de los límites fisiológicos.

La estructura del testículo bovino, tal como la describen los libros clásicos de histología, es válida sólamente para toros muy jóvenes. Cambios histopatológicos empiezan tan temprano como al segundo o tercer año de vida y aumenta con la edad de los toros. Estas alteraciones consisten en aumento de tejido conectivo intersticial en el testículo, mayor cantidad de tubulos con epitelio germinal atrofiado, mayor cantidad de tubulos con espermiostasis. Se ha demostrado que estas alteraciones se reflejan en la calidad seminal aún manteniendo una buena fertilidad. El efecto en la espermatogénesis de estos cambios histológicos moderados, a mediana edad y más marcados en toros viejos explicaría la mayor cantidad de cabezas patológicas que aparecen en los eyaculados en toros de mayor edad. Para fijar un standard en la morfología espermática, tendríamos que considerar no sólo el tipo de anormalidad, sino también la edad del animal.

Las máximas anormalidades permitidas en un semen normal de toro son las siguientes:

Cabezas anormales	10% en toros jóvenes
Cabezas anormales	20% en toros viejos
Gota citoplasmática proximal . .	5%
Anormalidades en cola	5%

La evaluación no se puede hacer exclusivamente en el número total de cabezas anormales. Se debe tener en consideración qué tipo de anomalía es la más frecuente. Formas de pera, angostas en la base, no desarrollados y cabezas sueltas anormales, son anormalidades más serias que otras; si ellas dominan el espermiograma las conclu-

---

D.M.V. FURCS. Técnico del Laboratorio Regional Noroeste
CIVET "Miguel C. Rubino" - M.G.A.P. Paysandú. URUGUAY.-

siones deben ser más cautelosas, incluso aunque el número total esté cerca del límite fisiológico.

Los espermatozoides van cambiando en muchos aspectos durante su pasaje a través del tracto genital.

Stallard y Austin (1967) demostraron una fagocitosis selectiva de espermatozoides en condiciones normales.

Los trabajos de Rao demuestran claramente que los espermatozoides con cabezas anormales disminuyen durante su pasaje por el tracto genital. Este fenómeno se interpreta como una absorción selectiva o disolución de los espermatozoides. La mayor reducción en número de espermatozoides anormales, en toros normales, ocurre en la cabeza del epididimo, el mecanismo no se conoce con certeza; una posible explicación es que los espermatozoides son autolisados y estos productos disueltos son transportados por el ducto.

La mayor parte del fluído testicular bovino es reabsorbido en la cabeza del epidídimo. Es también esta parte que tiene mayor cantidad de flujo sanguíneo por unidad de peso. La desaparición de los espermatozoides es claramente selectiva; las cabezas patológicas más susceptibles son las siguientes: formas de peras, angostas en la base, pequeñas anormales, micro y subdesarrolladas; éstas constituyen las anormalidades de cabeza más graves y aumenta considerablemente cuando hay cambios patológicos graves en los testículos. Cabezas angostas, pequeñas normales y gigantes son menos susceptibles a fogositosis o disolución a través del epidídimo.

Clínicamente, las anormalidades de cabeza conducen a pensar en problemas testiculares; otras afecciones como gota distal y las patologías de cola, estarían indicando un problema de reabsorción en el epidídimo aunque ésto no es absoluto. Como ejemplo, en las cabezas piriformes, el epidídimo tiene una absorción selectiva, cuando el testículo produce en demasía y supera la capacidad de absorción del epidídimo, aparecería recién en el eyaculado. Nos estaría indicando entonces una afección en el epitelio germinal. Cuanto mayor número, mayor gravedad.

Gota citoplasmática proximal disminuye constantemente desde la cabeza del epidídimo en adelante; el mayor descenso ocurre entre la zona C. y D, emigrando la gota citoplasmática a su posición distal. La migración es siempre completa en toros normales cuando los espermatozoides llegan a la zona D.

El abuso del reproductor aumenta el número de gotas citoplasmáticas distales en el eyaculado.

Las gotas citoplasmáticas proximales están altamente relacionadas con afecciones testiculares. En el caso de las distales nos estaría indicando mas bien: una disfunción epididimaria o un uso excesivo del reproductor, ya que en el epidídimo la gota emigra desde su posición anterior en la pieza media a la posterior, para después desprenderse.

La persistencia de gota citoplasmática parece ser gobernada por factores inherentes al testículo, más que funcionalidad epidimaria.

Es altamente demostrativo ver que haciendo una punción a nivel de la cabeza del epidídimo, se observa un 90 % de los espermatozoides con gotas citoplasmáticas proximales; si la punción la hacemos en la cola del epidídimo sólo un 1% de los espermatozoides tendrán gota , llegando un eyaculado normal a 0,6% aproximadamente

La incidencia de piezas media anormales es mayor en toros con patología testicular que en toros normales, lo que nos estaría indicando estos defectos que de alguna manera están relacionados con cambios patológicos en el testículo.

Defectos de cola muestran un comportamiento diferente que las cabezas anormales. El porcentaje es muy bajo en la parte proximal del tracto y va increscendo durante su pasaje a través del epidídimo. Esto indicaría que los factores que contribuyen a la formación de cabezas espermáticas anormales no son los mismos que aquellos que producen defectos de cola. Los defectos de cola en su mayoría, son debidos a alteraciones en el epidídimo.

En muchos casos es difícil determinar si estos cambios son permanentes o nó. Por éso se aconseja realizar, de ser posible, tres espermiogramas obtenidos con una semana de diferencia. El examen seminal seriado es importante para confirmar los hallazgos clínicos, prever la evolución y como ayuda para formular un pronóstico

EXAMEN SEMINAL

Para una mejor predicción de la fertilidad potencial de un toro y evaluar la capacidad productora de espermatozoides del mismo, se deben colectar dos eyaculados completos con vagina artificial La vagina artifial es el método descripto y es el que siempre se recomienda cuando se colecta semen para evaluar la capacidad reproductiva de un toro. Este método ofrece la ventaja de evaluar, al mismo tiempo, la libido, la habilidad de monta, mientras la colección se está realizando.

El electroeyaculador de uso más común en toros de carne, tiene el inconveniente serio de no saber hasta qué punto la muestra seminal que obtuvimos es representativa o nó; como ventaja, es más seguro para el operador y en condiciones extremas puede ser el método de elección

Para la colección de semen debe contarse en lo posible con una vaca en celo, en cepo adecuado, con un piso seco y firme.

En condiciones de campo, si hay que colectar varios toros, y la temperatura es baja, es conveniente preparar varias vaginas ya que la temperatura en el interior de ellas desciende rápidamente. La temperatura interna de la vagina artificial en el momento de la colección debe ser entre 41° y 43° (grados centígrados).

Colocando el agua a 60° se obtiene una temperatura cercana a la necesaria para la colección. Es de recalcar siempre que debe usarse un equipo individual para cada toro.

Por otra parte, cuando transcurre mucho tiempo entre los preparativos para la colección y la colección en sí, la vagina se enfría el animal pierde estímulo y es difícil conseguir que eyacule.

El tubo de colección debe de estar aislado del medio ambiente, en forma adecuada, para protegerlo del shock térmico: elevadas temperaturas en verano, baja temperatura en invierno.

EVALUACION MICROSCOPICA I.

Es estrictamente necesario hacer algunas pruebas inmediatamente de colectado el semen; otras se pueden hacer más tarde en el laboratorio. Rutinariamente en el campo se realizan las siguientes pruebas y anotaciones: Volumen - Aspecto - Color - Actividad de Masa Motilidad Individual - pH - Densidad.

Volumen: Puede variar notablemente entre diferentes reproductores e incluso varía entre diferentes colecciones del mismo individuo. Normalmente hay una correlación positiva entre volumen, circunferencia escrotal y peso vivo del reproductor. Se estima como normales eyaculados entre 2 - 10 ml. Usualmente el segundo eyaculado es más voluminoso que el primero; la concentración espermática es menor; el parámetro que se mantiene más constante entre diferentes eyaculados es la concentración total de espermatozoides por eyaculado. Es de resaltar que sólo el 10% del volumen total de un eyaculado es ocupado por los espermatozoides, el resto o sea el 90% lo constituyen las secreciones de las glándulas anexas. Otro aspecto a resaltar es la reserva espermática en el epidídimo que es del orden del $15x19^9$ al $20x10^9$, reserva ésta suficiente para aproximadamente 20 eyaculados.

Color: Debemos mencionar que un buen semen es de color blanco amarillento. Algunos toros producen semen francamente amarillento o amarillento verdoso, este color es normal para esos toros y se debe al contenido de flavinas en el semen.

Color rosado es indicio de presencia de sangre y flóculos, es indicación de pus o detritos celulares. Sangre fresca puede originarse por simple rotura de vasos, debido a fricción de la mucosa peneana en la vagina artificial, o responder a cuadros patológicos más complicados. Un color rosado achocolatado nos estaría indicando sangre más digerida debido quizas a una lesión más profunda en el tracto genital.

Aspecto: Parámetro que nos permite una idea de la concentración espermática. Su aspecto varía entre: cremoso = 1 millón de espermatozoides por mm^3. Lechoso = 500 mil a 1 millón de espermatozoides por mm^3. Opalescente = de 200 mil a 500 mil por mm^3. Acuoso = menos de 200 mil por mm^3.

EVALUACION MICROSCOPICA II.

Es necesario un microscopio de óptica común y una platina térmica, regulada a 37° (grados centígrados) para evaluar inmediatamente de colectado el semen, la actividad de masa y la motilidad individual.

Actividad de Masa: Se coloca una gota de semen en porta objeto en platina caliente (37°) bajo una magnificación de 100 - 150 aumentos y se lo califica de la siguiente manera:

- = sin actividad de masa; + = movimientos lentos; ++ = movimientos rápidos con formación de cresta en las ondas; +++ = movimientos muy rápidos (remolinos) con grandes crestas en las ondas.

Motilidad Individual: Una pequeña gota de semen es colocada en un porta objeto calentado con platina térmica. Se observa bajo cubre y se mira usando una capacidad resolutiva de 300 veces. Su estimación se basa en la determinación subjetiva de espermios que se mueven con "movimiento progresivo" rectilíneo y homogéneo en relación con aquellos inmóviles o con otro movimiento, como por ejemplo, circular, pendular, regresivo, etc., que indicarían alguna alteración o shock. Un toro normal debería tener una motilidad del 60 al 80%. Cuando el semen está muy concentrado se le puede diluir con solución Ringer para facilitar su lectura.

Densidad: Es una medida subjetiva y se evalúa mirando una gota de semen cubre objeto a 300 aumentos. Se la califica usando una escala que va de una D a tres D, dependiendo si en el campo microscopio entre espermatozoide y espermatozoide no hay lugar para otro, lo hay para uno o lo hay para dos espermatozoides respectivamente. Por ejemplo: D DD DDD, según el espacio libre entre espermatozoides.

pH: Se conoce colocando una gota de semen sobre una tira de papel pH o usando azul de bromo timol en conección con el test de catalasa. El pH debe estar del lado ácido 6.7 - 7 en un toro normal. El pH aumenta en semen contaminado con orina, en los de baja concentración espermática y frente a una infección. Semen colectado con electro eyaculador tiene un pH más alto y variable que el colectado con vagina artificial. En general el significado clínico del pH es muy relativo.

Catalasa: Se mide mezclando semen con peroxido en un tubo especial que nos permite cuantificar la cantidad de oxígeno producida en 20 minutos. La presencia de catalasa en el semen de toro nos estaría indicando un proceso inflamatorio en las vesículas seminales.

EVALUACION EN EL LABORATORIO

Una vez realizada la evaluación inmediata que necesariamente se debe efectuar en el campo, con semen fresco, se da comienzo en seguida a preparar el material que se va a remitir al laboratorio para su posterior procesamiento.

Básicamente se remiten:
- todos los datos que se solicitan en el formulario de remisión;
- dos eyaculados consecutivos del reproductor perfectamente identificados;
- del segundo eyaculado se colocan 2-3 gotas de semen dentro del tubo que contiene formol salino, agitándolo para evitar la aglutinación de los espermatozoides. El formol salino lo suministra el laboratorio;
- Frotis delgados (de la misma manera que cuando realiza frotis de sangre) Fijar dos de ellos al calor suave de la llama. El otro se realiza en forma escalonada y relativamente gruesa, fijados al alcohol.

Se coloca en una conservadora refrigerada y se remite al Laboratorio Central o al Sub Centro más cercano.

Con este material y usando coloraciones especiales, estudiaremos la morfología espermática.

Son muchas las coloraciones que se han descripto y usado en los diferentes laboratorios especializados en reproducción: el Laboratorio Rubino utiliza la misma metodología que ya desde el año 1934, Lagerlöf adoptó en su Departamento de Obstetricia y Ginecología del Colegio Real de Veterinaria de Uppsala, Suecia. Son dos técnicas que se complementan perfectamente.

Uno es una preparación seca coloreada por un método desarrollado por Williams en 1920, que luego describiremos en detalle; se observa en un microscopio de óptica común y nos da un claro contorno de la forma y tamaño del espermatozoide.

Williams:

Fuscina stock	10 gramos fuscina básica
Fuscina stock	100 cc. agua destilada
Solución Fenol	10 cc. fenol 96%
Solución Fenol	170 cc. agua destilada
Eosina Azulada	1 gramo eosina azulada
Eosina Azulada	100 cc. alcohol 96%

Filtrar Fuscina Stock, tomar 10 cc. y mezclar con 100 cc. de fenol. Tomar 100 cc. de la mezcla y agregar 50 cc. de eosina azulada. Dejar por 14 días y filtrar antes de usar.

Tiempos de coloración:

- Alcohol absoluto . . . . . 5 minutos
- Solución de cloramina al 0.5%. . 10 minutos
- Lavado de agua
- Lavado en alcohol 96%
- Colorear con Williams . . . . . 10 minutos
- Lavar con agua
- Secar
- Observar 500 espermatozoides en inmersión

Detalles en cambio en el acrosoma y gotas citoplasmáticas no se distinguen muy claramente; estas estructuras se notan bien con el microscopio de fase, usando preparaciones húmedas. Las preparaciones húmedas se hacen poniendo una gota de semen en una solución de 1 cc. de formol salino. Una gota de esta preparación es colocada entre porta y cubre objeto y se observan 200 espermatozoides en un microscopio con contraste de fase. Las preparaciones húmedas tienen la ventaja de no producir daños mecánicos como por ejemplo: desprendimientos de cabezas, de gotas citoplasmáticas, doblamiento de cola, etc., además de ser una técnica simple y rápida de realizar.

Formol-Salino

$Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$	6.19 gramos
KH_2PO_4 , , , ...	2.54 gramos
Formalina 40%	125 ml.
ClNa	5.41 gramos
Agua destilada c.s.p.	1000 ml.

Giemsa Modificado (Watson 1975)

3.8 gramos de Giemsa disuelto en mortero con metanol absoluto (375 ml.) agregar gliserol (125 ml.) y dejar en estufa a 37° una semana

Solución Giemsa . . . . . 3 ml.
. . . . . Sorensen phosfatobuffer ph 7(2 ml)
. . . . . Agua destilada (35 ml.)

Tiempo de coloración

- Hacer frotis y dejar al aire
- Fijar por inmersión en formol salino (15 minutos)
- Lavar en agua corriente (15 minutos)
- Secar y sumergir en Solución Giemsa (90 minutos)
- Lavar brevemente en agua destilada y secar
- Observar en inmersión (100 espermatozoides)

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

1. BANNE, A. Sexual functions of bulls in relation to hereditary rearing intensity and somatic condition. Acta Agriculture Scandinavisca. 4:2. 1954.

2. BIALG, SMITH, V.R. The distribution od spz. in the bovine male rep. tract. Journal Animal Science. 15:1305. 1956.

3. BLOOM, L. The ultraestructure of the bull sperm. Nord. Vet. Med. 17: 193-212. 1965.

4. CHENOWETH, P. Breeding soundness evaluation in bulls. Current therapy in Theriogenology:135. 1980.

5. LAGERLOF, N. Semen examination as a help so sexual health control in domestical animal breeding. Vol.9. N.2. April-June. 1964

6. McENTEE, K. 15th FAO/SIDA International Post Graduate Course Animal Rep. pathology. 1983.

7. RAO, R.; DANE, A. Changes in the morphology of the spermatozoa during their passage through the genital tract in dairy bulls with normal and impaired spermatogenesis. Theriogenology July. Vol.4. N.1. 1980.

8. SETTERGREN, I. Physical examination of the bovine female reproductive system - Royal Vet. Col Uppsala

9. SETTERGREN, I. Bull Fertility examination. Handout dated. 1983

FH:hdsg

HISTOPATOLOGIA

RODOLFO RIVERO

La histopatología es el último eslabón de la metodología de trabajo que comienza a nivel de campo y concluye con la misma en el Laboratorio.

Haremos referencia a dos grandes escuelas de histopatología testicular, la de Slotopolski y la de Lagerlöff.

El primero describió cinco etapas: en la primera las espermátidas estaban afectadas en proceso degenerativo con formación de células gigantes, se piensa que son fusión de células en degeneración que se integra en células gigantes.

En la segunda etapa, las espermátidas han desaparecido; quedan los espermatocitos y las espermatogonias y células de Sertoli están presentes.

En la tercera fase, más grave, los espermatocitos han desaparecido y sólo quedan células de Sertoli y espermatogonias.

En la cuarta etapa, las espermatogonias han desaparecido y sólo están presentes células de Sertoli.

En la quinta etapa, incluso éstas han desaparecido y hay destrucción del epitelio germinal, con hialinización de la membrana basal.

Es una descripción muy ilustrativa, pero cuando el técnico tiene que observar la lámina puede encontrar distintas etapas de éstos cuadros en una misma preparación, por lo que Lagerlöff lo agrupó en tres grupos. El primero sería la etapa más leve que está en relación con cuadros relativamente leves y presentan alteraciones y cambios degenerativos en ciertas áreas (no es difuso).

La degeneración es a nivel de la espermátida y se puede ver en casos células gigantes; la capa de espermatocitos es observable.

En el segundo grupo que puede estar relacionado con la fase 2 y 3 de Stolopolsky. La espermatogonia está intacta pero la degeneración principal está a nivel de los espermiocitos.

Se puede ver vacuolización, picnosis, cariorrexis y cariolisis.

En el grupo tres, la etapa más grave; todas las etapas de degeneración están presentes, variando desde una detención de la espermatogénesis a nivel de espermátida, hasta una completa destrucción de los túbulos con etapas iniciales de fibrosis en pequeñas áreas.

También pueden observarse células gigantes, por destrucción del epitelio germinal.

Se presentan dificultades de diagnóstico si no se tiene la historia clínica, además del cuadro seminal completo que es fundamental para llegar a una conclusión con relación a la histología. Sólo resta un concepto referente a la degeneración: las células de Leydig permanecen intactas o podrían estar incrementadas en su número.

Hay una discusión sobre cuales son las células más sensibles en un cuadro de degeneración.

Según Slotopolsky la espermátida es la célula más sensible a los cambios degenerativos. Según Lagerlöff, opinión actualmente más aceptada, el espermiocito sería el más sensible.

La fibrosis que en una primera instancia se consideró que correspondería a una reacción del intersticio, se considera en la actualidad una reacción a punto de partida del epitelio germinal.

B I B L I O G R A F I A R E C O M E N D A D A

1. GALLOWAY, D. 10 ma. Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú Uruguay. 1982.

2. JUBBAND KENNEDY. Patología de los animales domésticos. 2da. Edición. 1969.

3. KENNETH Mc. ENTEE. Reproductive Pathology. FAO-SIDA INTERNATIONAL POSTGRADUATE COURSE ON ANIMAL REPRODUCTION. Vol. III SUECIA. 1983

4. LAGERLÖFF. Sterility in Bulls. Vet. Rec. 48:1160-1170. 1936

5. LAGERLÖFF. Infertility in male Domestics Animals. 13th. Int. Vet. Congress. Zurich. Suiza. 1938.

6. LAGERLOFF. Biogical aspect of infertility in male domestic animals. Int. J. Fertil. 2:99-129. 1957.

7. SETTERGREN, I. 14. Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú Uruguay. 1986.

RR:hdsg

FECHA DE DEVOLUCION			

Calidad seminal

ha ción	Nombre del solicitante