

FERTILIDADE DE GANHÃO SENIL, PORTADOR DE MIELOENCAFALOPATIA PROTOZOÁRIA EQUINA, SOB TRATAMENTO COM ANTIPROTOZOÁRIO DICLAZURIL - RELATO DE CASO

DANIEL HENRIQUE VIEIRA CAVALCANTE¹; AMANDA AZAMBUJA DA SILVA²;
CAROLINA BICCA NOGUEZ MARTINS³; FERNANDA AQUINO FRANCO⁴;
PAULA MOREIRA DA SILVA⁵; CHARLES FERREIRA MARTINS⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas – danielmarechal@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – fazambujaamanda@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – carolinabicc0@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – fernandaafranco@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – paulamoreiras@bol.com.br

⁶ Universidade Federal de Pelotas – martinscf68@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Em equinos há carência de pesquisas vinculando reprodução e terapêutica, em ganhões na faixa da senilidade e ainda portadores de doenças neurodegenerativa. Muitos destes animais, por sua importância como segregador e alto valor de sua progênie precisam ser monitorados constantemente e sua espermatogênese ser mantida viável, com intuito de que suas características morfológicas e funcionais desejáveis possam ser perpetuadas em gerações futuras.

Embora, ainda não associada a alterações na qualidade espermática, especula-se que, a doença neurológica conhecida como mieloencefalite protozoária equina (MPE), que tem o *Sarcocystis neurona* (Filo: Apicomplexa) como parasita causador (PRICKETT, 1968), pode afetar a qualidade espermática de ganhões, além de contribuir para mudanças no seu comportamento sexual. Baixa motilidade, morfologia espermática anormal e aumento da fragmentação do DNA do esperma poderão estar associados com o tratamento prolongado de fármacos antiprotozoários, terapia necessária nesses ganhões, que estão sob estresse psicológico e físico da temporada de acasalamento.

Com relação à resposta imune desta doença em equinos, a hipótese de maior susceptibilidade à MPE, em decorrência da imunossupressão foi confirmada quando se constatou que animais de exposições, competições, em transporte e fêmeas gestantes apresentavam maior risco de desenvolver a doença devido à imunossupressão causada pelo estresse temporário (MACKEY et al., 2000). Estes achados podem ocorrer devido ao aumento de produção de interleucina 4 (IL-4) pelos linfócitos T auxiliares (CD4+) que favorecem uma resposta com preponderância de células Th2, sendo esta inapropriada para a maioria dos microrganismos intracelulares. A resposta imune adequada para estes agentes é do tipo Th1 (mediada por células), em resposta ao aumento da produção de interferon gama (IFN-γ) pelos linfócitos (SPENCER et al., 2005).

O Diclazuril (2,6-dicloro-α-(4-clorofenil) - 4 - (4,5-di-hidro-3 ,5-dioxo-1 ,2,4-triazina-2 (3H) il) benzenoacetoneitrilo) é um derivado de triazina (antiprotozoário). Nesta base, foi desenvolvida uma formulação oral, altamente biodisponível de sal de sódio de diclazuril, ou seja, diclazuril, para o tratamento e profilaxia de MPE. Diclazuril apresenta aplicação clínica no tratamento de equinos com MPE, sendo rapidamente absorvido, com picos de concentrações plasmáticas que ocorre em 8 a 24 horas após a administração oral do sal de sódio de diclazuril (DIRIKOLU et al., 2006).

Pouco se sabe, com certeza, sobre os efeitos colaterais de fármacos em garanhões e seus efeitos nocivos a fertilidade ou qualidade espermática, onde se incluem os antiprotozoários. A toxicidade reprodutiva do diclazuril em garanhões até o momento não foi testada. Portanto, como até o momento, não há registros científicos descrevendo os efeitos do uso prolongado do diclazuril em garanhões, esse estudo tem o objetivo de relatar a fertilidade de um garanhão com vinte e três anos de idade, pertencente à raça Crioula, portador de MPE, sob tratamento com antiprotozoário diclazuril, prévio e durante duas temporadas de monta.

2. METODOLOGIA

Um garanhão ativo da raça Crioula, de 23 anos de idade, pesando 500 Kg, portador de sinais clínicos de incoordenação motora dos membros pélvicos, característicos de doença neurológica foi diagnosticado com mieloencefalopatia protozoária equina, após ter sido submetido a diagnóstico sorológico e diferencial para outras doenças que se assemelham clinicamente.

O exame clínico musculoesquelético foi conduzido em diferentes terrenos (macio e duro), sentidos de condução (linha reta e círculos) e marchas (passo e trote), sendo constatado claudicação de grau 2 (0 a 5). Foram registrados déficits de coordenação durante a locomoção em linha reta e exacerbados após a realização de manobras especiais (andar em círculo, descer rampa e recuo). Foi observada redução na amplitude dos movimentos e maior balanço muscular do membro pélvico direito ao trote. Sinais de ataxia e paresia bilateral dos membros pélvicos estavam presentes. Durante a execução dos testes dinâmicos foi diagnosticado déficit na propriocepção, com hipermetria e dismetria constante dos membros torácicos, atraso na troca de passos e, por vezes havia interferência entre os membros anteriores. Ao teste de mobilidade ativa de lateroflexão toracolombar à região sacra, notou-se moderada resistência ao deslocamento para o lado do examinador com discreto desequilíbrio.

O exame encefálico não demonstrou sinais clínicos de distúrbios no comportamento, posição e movimentação da cabeça e dos pares de nervos cranianos e na inspeção da região espinhal foi observado leve desalinhamento associado à miosite bilateral dos músculos longo dorsal em regiões torácica e lombar, caracterizando discreta lordose toracolombar. O animal manifestou reação acentuada à mobilização ativa do dorso e ventroflexão da região toracolombar a sacra com sinais reacionais de cinética coccígea, além de ausência reacional à mobilização ativa de lateroflexão da região toracolombar a sacra. Os reflexos cutâneos estavam responsivos em todas as áreas do corpo do animal.

Devido à múltipla etiopatogenicidade dos sinais apresentados pelo equino, foram sugeridos exames complementares para estabelecer o diagnóstico e o prognóstico mais provável, possibilitando o plano terapêutico mais adequado. As possibilidades etiológicas e exames avaliados foram: Mieloencefalite Protozoária Equina – Exame de sorologia (pesquisa sorológica de anticorpos contra *Sarcocystis neurona* [Método Western Blot – IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine, USA]) - Diagnóstico positivo; Mieloencefalopatia Degenerativa Equina – Exame radiográfico da região cervical (Mielografia cervical) – diagnóstico negativo; Tripanossomíase por *Trypanosoma evansi* (PCR para *T. evansi*) – Diagnóstico positivo (Expressão de discreta banda na coluna 4); Distrofia Muscular Nutricional – Hemograma completo e padrão enzimático muscular (Creatina Fosfatase - CPK e Desidrogenase Láctica – DHL) e determinação das concentrações de Glutathiona Peroxidase – GPx). O hemograma não apresentou alterações, porém a pesquisa enzimática de CPK e DHL revelou valores acima do

padrão [222 U/L (0-140 U/L) e 646 U/L (541,01-590,81 U/L)], respectivamente), condizentes com degeneração muscular. Apesar da determinação das concentrações de Glutathione Peroxidase – GPx eritrocitária em unidades por grama de hemoglobina ter sido superior aos padrões de referência não caracterizaram deficiência de vitamina E e selênio [272 UG/Hb (70-120 UG/Hb)]. O animal em questão apresentou sorologia positiva para *S. neurona* e os sinais clínicos apontavam para o diagnóstico de MPE, associado a tripanossomíase para *T. evansi*. Os demais exames não apresentaram alterações significativas.

Diante do diagnóstico das enfermidades identificadas acima, o animal foi submetido a tratamento para tripanossomíase (aceturato de diminazeno - 7mg/kg⁻¹), segundo SILVA et al., 2009 e a protocolo terapêutico com fármaco anticoccídeo, sendo fornecido 30g/dia diclazuril por via oral (PEIXOTO et al., 2003), durante as temporadas de acasalamento 2010/2011 e 2011/2012.

A avaliação clínica da cobertura foi realizada mensalmente, levando-se em consideração o grau de comprometimento (1=sem alteração; 2=leve; 3=moderado; 4=grave), sendo o garanhão submetido apenas a duas coberturas semanais, com intervalo de repouso de 48 horas entre coberturas, respeitando a idade do garanhão e a condição clínica do cavalo. As coletas de sêmen foram conduzidas artificialmente, em manequim, sob piso plano. A avaliação andrológica do garanhão foi realizada em duas temporadas (2010/2011 e 2011/2012), totalizando oito observações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela observação dos resultados da análise das diferentes características consideradas, pode-se verificar a ausência de efeitos do diclazuril, sobre o comportamento sexual do garanhão e a qualidade do sêmen.

Durante os doze meses que compreenderam as duas temporadas de monta, incluindo o período pré e pós tratamento, não houve alteração no comportamento sexual do garanhão, levando-se em comparação a graduação estabelecida na avaliação clínica do equino. A libido do mesmo foi mantida em pontuação 6, segundo a classificação de CHENOWETH (1980), representando o valor máximo da libido. Dessa forma, não foi observado declínio da função erétil,

Na avaliação clínica da cobertura foi possível observar maior dificuldade de movimentação pélvica durante o ato ejacutório e o desequilíbrio na coordenação dos movimentos dos membros pélvicos. Estes sinais clínicos são interpretados como sinais da doença neurodegenerativa crônica, somados a sinais de osteoartrose das articulações coxo-femorais e tíbio-tarso-metatarsianas, diagnosticadas previamente ao uso do diclazuril.

As variáveis espermáticas sofreram mudanças em virtude do tempo, sem qualquer interação com o tratamento. Menor número de espermatozóides viáveis no ejaculado e concentração espermática e maior percentual de anormalidades morfológicas foram observados em janeiro de 2012, que variou entre ejaculados dentro do mesmo período. A inexistência de efeito nocivo significativo do diclazuril sobre a qualidade espermática pode ser atribuído à ausência de alterações específicas na qualidade do sêmen nas coletas subsequentes, caracterizado pela melhora significativa nas diversas características do sêmen, dentro do mesmo período (janeiro/2012), indicando que o efeito prejudicial do diclazuril, sobre a função testicular, não se fez notar. Como tal, não foi observado, mas não se pode descartar a possibilidade do efeito farmacológico do produto utilizado e, subsequente presença de alterações no quadro espermático com doses do fármaco acima do utilizado (30g/dia). Entretanto, a motilidade não variou em

função do tempo, não correspondendo as demais características avaliadas e mostrou estabilidade, com exceção de setembro/2010.

No entanto, as oscilações, mesmo que presentes, não fugiram dos limites próximos a normalidade, descritos por CRABO (1971), levando em consideração que tais variáveis (concentração, % de normais, % de anormalidades de cabeça e % de anormalidades de cauda) são as mais representativas num exame andrológico, visando estimativas da qualidade da espermatogênese.

É importante realçar que, o relato de caso foi realizado apenas em um garanhão da raça Crioula com MPE, o que poderia ter contribuído para uma menor capacidade de detecção das alterações esperadas.

4. CONCLUSÕES

O Diclazuril, na dosagem utilizada neste estudo, não foi capaz de afetar a qualidade do sêmen do garanhão senil positivo para MPE, entretanto, os critérios utilizados para se estimar os efeitos do fármaco, sobre a qualidade do sêmen, podem não ter sido suficientemente sensíveis para detectar efeitos subclínicos de alterações histológicas discretas. Dessa forma, estudos no futuro, aleatorizados, controlados com placebo serão importantes no intuito de avaliar os efeitos endócrinos e fragmentação do DNA espermático.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHENOETH, P. J. Libido and mating ability in bulls. **Current Therapy in Theriogenology**, W.B. Saunders Philadelphia, p.342, 1980.

DIRIKOLU, L.; BOYLES, J.; KARPIESIUKE, W.; ATKINSON, A.; LEHNER, A. F.; GRANSTROM D. E.; HUGHES C.; TOBIN, T. New Therapeutic Approaches for Equine Protozoal Myeloencephalitis: Pharmacokinetics of Diclazuril Sodium Salts in Horses. **Veterinary Therapeutics**. v.7, n.1, 2006.

PEIXOTO, A.P.C.; KUCHEMBUCK, M.R.G.; GONÇALVES R.C. Mieloencefalite protozoária equina. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.4, n.1, p. 30-34, 2003.
PRICKETT, M. E. Equine spinal ataxia. **Proc AAEP**, v.4, p. 147, 1968.

SILVA, A. S.; ZANETTE, R. A.; OTTO, M. A.; GRESSLER, L. T.; PEREIRA, P. L.; MONTEIRO, S. G. Acetato de diminazeno no tratamento de eqüinos infectados naturalmente por *Trypanosoma evansi* no município de Cruz Alta - RS, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**. V.6, n. 1, p. 74-79, 2009.

SPENCER, M.; BISHOP, D.; DAWSON, B.; GOODMAN, C. Physiological and Metabolic Responses of Repeated – Sprint Activities. **Sports Med**, v. 35, n.12, p. 1025-1044, 2005.

MACKEY, R. J.; GRANSTROM, D. E.; SAVILLE, W. J. Equine Protozoal Myeloencephalitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.16, n.3, p. 405 - 425, 2000.

CRABO, B.; GUSTAFSSON, B.; NICANDER, L.; RAO, A. R. Subnormal Testicular Function in a Bull Concealed by Phagocytosis of Abnormal Spermatozoa in the Efferent Ductules. **The Journal of Society for Reproduction and Fertility** , v.26, p. 393 - 396, 1971.