

# Estudio anátomo-histopatológico y ultraestructural de testículos de pavos (*Meleagris gallopavo*) que recibieron furazolidona en sus dietas

M. F. Peralta<sup>1</sup>, R. D. Miazzo<sup>1</sup>, M. A. Koncurat<sup>2</sup> y A. B. Vivas<sup>3</sup>

Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Ruta 36 Km. 601, 5800-Río Cuarto. Córdoba, Argentina.

---

## Anatomy-histopathologic and ultrastructure of turkey's testis (*Meleagris gallopavo*) treated with furazolidone in its diets

**ABSTRACT:** Furazolidone (Fz) is a nitrofuran member used like preventive or therapeutic drug in poultry productions. Notwithstanding, it produces damages in reproductive variables. The purpose of this study was to determine the effects of Fz on the testicular anatomy-histopathology and ultrastructure of turkeys treated with the drug since the first day of life. Twenty two one-day old male turkey were randomly assigned to receive or not Furazolidone in the diet at 0.04% w/w during 45 weeks. Macroscopic, microscopic and ultrastructural morphology of the testis were analyzed. Localized cysts and normal testicular tissue were observed macroscopically in the treated group. Microscopically these cysts presented dilated seminiferous tubules with only Sertoli cells, without germinal line and interstitial tissue was compressed. An important lipid degeneration and necrotic cells were saw at electronic microscope. In the macroscopically normal appearing areas, the cells of the germinal line delayed presented lipid vacuoles. An inter and intra lipidic degeneration, basal lamina increased, picnotic cells and protein fibrils bundles. It can be concluded that Furazolidone in the diet at 0.04% w/w during 45 weeks produces cystic patch with lipidic degeneration (inter and intratubular) and germinal line loss and normal testicular tissue with delayed germinal line in turkeys.

Key words: Furazolidone, turkey's testis, testis morphology

---

©2002 ALPA. Todos los derechos reservados

Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2002. 10(2): 77-80

**RESUMEN:** La furazolidona (Fz) es un nitrofurano utilizado como preventivo o terapéutico en producciones aviares, pero produce alteraciones en variables reproductivas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de Fz incorporado en la dieta sobre la anátomo-histopatología y la ultraestructura de los túbulos seminíferos de testículos de pavos. Se utilizaron 22 pavos machos de un día de edad, que fueron divididos en dos grupos: *Tratados y Controles*. El primer grupo recibió la droga mezclada en el alimento, a una dosis de 0,04% p/p, durante 45 semanas, el otro grupo recibió el alimento sin medicación. Se analizó la anátomo-histopatología y la ultraestructura del testículo. En el análisis macroscópico de las gónadas, en las aves tratadas se advirtieron quistes focalizados y zonas de tejido testicular normal. Los quistes microscópicamente se presentaron como túbulos marcadamente dilatados, con células de Sertoli, ausencia de la línea germinal y con intersticio comprimido. La ultraestructura de los mismos reveló importante degeneración lipídica y células necróticas. En la zona testicular de aspecto normal, dentro de los túbulos se advirtieron numerosas vacuolas lipídicas en las células de la línea germinal retrasada. Además, la ultramicroscopía detectó degeneración grasa inter e intratubular, alteraciones de la membrana basal, células picnóticas y depósito de fibras proteínicas. Se concluye que la furazolidona, administrada a dosis de 0,04% p/p durante 45 semanas, produjo en el testículo de pavo zonas quísticas conteniendo degeneración lipídica (tubular e intertubular) y pérdida de la línea germinal y zonas normales con retraso en la línea germinal.

Palabras clave: Furazolidona, testículos de pavo, morfología testicular.

---

Recibido Septiembre 28, 2001. Aceptado Junio 6, 2002

E-mail: mperalta@ayv.unrc.edu.ar

<sup>1</sup>Producción Avícola, Departamento de Producción Animal.

<sup>2</sup>Área de Microscopía Electrónica, Departamento de Patología Animal.

<sup>3</sup>Histología, Departamento de Anatomía Animal.

## Introducción

La furazolidona (Fz) es un integrante de los nitrofuranos, utilizados en animales de granja como profiláctico ó terapéutico contra un amplio rango de bacterias y protozoos. Sin embargo, se han observado efectos adversos en algunas variables productivas y reproductivas, luego de la adición de esta droga en la dieta de aves. Por ejemplo, se ha detectado disminución en el peso gonadal, descenso en variables histomorfométricas testiculares y retraso en la línea germinal en pollos parrilleros sexualmente maduros, que habían recibido dosis de 0,015 a 0,035% de furazolidona en la dieta, durante 5 semanas (Andrabi, *et al.*, 1998). Asimismo, en pollos púberes tratados con furazolidona a dosis de 0,04% p/p durante períodos de tiempo prolongado y dosis de 0,04-0,08% p/p durante 4 semanas, se notó descenso en las variables histomorfométricas y retraso en la línea germinal (Miazzo *et al.*, 1998; Peralta, *et al.*, 1996). Inclusive en pavos púberes, que habían recibido 0,04% p/p de furazolidona durante períodos de tiempo prolongados, se notó dilataciones testiculares quísticas, descenso de las variables histomorfológicas, y notable retraso en la línea germinal (Peralta, M. F., 1999).

Otras investigaciones analizando las alteraciones microscópicas y ultramicroscópicas testiculares, advierten distinto grado de alteración en los túbulos seminíferos, llegando a la ausencia de la línea germinal en patos que habían recibido Fz desde el nacimiento, a dosis altas durante períodos prolongados (Webb y Van Vleet, 1990, 1991).

Debido a los efectos nocivos observados en trabajos anteriores en testículos de pavos, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la Furazolidona, adicionada en el alimento a dosis de 0,04% p/p durante 45 semanas, sobre la anátomo-histopatología y la ultraestructura de los túbulos seminíferos de testículos de pavos.

## Materiales y Métodos

Se utilizaron 22 pavos machos, línea Hybrid, de 1 día de edad, que fueron pesados, individualizados y distribuidos al azar en dos grupos: TRATADOS y CONTROLES. Las aves fueron alojadas en dos corrales, de 4 x 4 m cada uno, en la Unidad de Cría Aviar de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Dicha Unidad reúne las condiciones ambientales y de manejo exigidas para la cría de este tipo de animales. El primer grupo recibió Fz (Lab. Nutrer, 98% de pureza) en el alimento, a una dosis de 0,04% p/p, durante 45 semanas, mientras que el Control no recibió la droga. Las dietas fueron fabricadas en la planta piloto de alimentos balanceados de la Unidad de Cría Aviar y fueron administradas de acuerdo a los requerimientos nutricionales, según la edad de los animales (Cuadro 1). Tanto el agua como el alimento fueron provistos *ad libitum*. En cuanto al manejo de la luz, los pavos recibieron, durante las primeras 24 h de vida, luz continua y posteriormente se fue reduciendo la misma una hora

Cuadro 1. Composición del alimento balanceado según la edad de los pavos.

	Edad (semanas)		
	0-9 Iniciador	10-22 Crecimiento	23-44 Reproducción
Maíz	36,59	55,74	70,24
Harina de soja	36,92	20,85	12,50
Poroto de soja	10,00	7,95	-
Afrechillo de trigo	7,90	10,70	16,80
Harina de carne (45)	-	-	7,60
Harina de pescado	7,00	-	-
Harina de hueso	3,50	3,20	2,10
Corrector vit. mineral*	1,15	1,15	0,95
Sal	0,20	0,20	0,20
Conchilla	0,06	0,20	3,15
Metionina	0,12	0,03	0,06
Análisis proximal:			
Proteína (%)	28,00	26,50	20,00
Energía metab.(Kcal/Kg)	2.802	2.798	2.851
Lisina (%)	1,77	1,59	1,12
Metionina (%)	0,65	0,54	0,38
Metionina + Cistina (%)	1,07	0,95	0,73
Calcio (%)	1,28	1,21	1,00
Fósforo disponible (%)	0,64	0,60	0,50

\*Microingredientes del Núcleo vitamínico Mineral (Basf-Argentina S.A.):

Minerales (ppm): Yodo: 1,5; Manganeso: 120,0; Hierro: 80,0; Zinc: 120,0; Cobre: 10,5; Selenio: 0,30.

Vitaminas: A: 12000 UI/kg, D<sub>3</sub>: 4500 UI/kg, E: 45 UI/kg, K: 2,5 mg/kg; B<sub>1</sub>: 3,0 mg/kg, B<sub>2</sub>: 15,0 mg/kg; B<sub>6</sub>: 5,0 mg/kg; B<sub>12</sub>: 0,04 mg/kg; Biotina: 0,3 mg/kg; Niacina: 100,0 mg/kg; Colina: 600 mg/kg.

por día, hasta lograr un fotoperíodo de 14 horas luz: 10 horas oscuridad (14:10).

Estudios macro y ultramicroscópico del testículo: finalizado el período experimental, se sacrificaron las aves (11 Controles y 11 Tratadas) por sangría a blanco y se les extrajeron ambos testículos, en acuerdo a las normas establecidas por el Comité de Bienestar Animal de la Universidad Nacional de Río Cuarto. Para realizar el análisis anátomo-histopatológico las muestras fueron fijadas en formol tamponado y posteriormente fueron teñidas con hematoxilina-eosina, de acuerdo a la técnica convencional. Para el análisis ultramicroscópico, las muestras fueron fijadas con glutaraldehído al 2,5%, en tampón fosfato, refijadas con tetróxido de osmio, deshidratadas e incluidas en EMBED 812 (Electron Microscopic Sciences). Los cortes ultrafinos se contrastaron con acetato de uranilo y citrato de plomo. La observación se realizó en un microscopio electrónico (Elmiskop 101, SIEMENS).

## Resultados y Discusión

El análisis anátomo-histopatológico de las gónadas de las aves tratadas reveló la presencia de quistes, con un contenido acuoso y de aspecto traslúcido en el 30% de los órganos. Generalmente se presentaban en el polo superior de los testículos izquierdos mientras que el resto del órgano presentaba aspecto normal.

Estas observaciones concuerdan con las registradas por Webb y Van Vleet, 1990 y Khan *et al.*, 1995, aunque estos investigadores notaron alteraciones más severas: quistes abarcando gran parte del órgano en patos y pollos púberes que recibieron altas dosis de Fz, durante un período breve de tiempo (0,0025-0,007% p/p durante 28 días).

En el análisis histopatológico de la zona quística mencionada anteriormente, se observaron túbulos hiperplásicos, tapizados sólo por células de Sertoli con ausencia de la línea germinal. Las células de Leydig se notaron comprimidas, pero secretoras. Por su parte, en el análisis histológico de la zona de apariencia macroscópica normal, la línea germinal de las aves tratadas se presentaba desordenada, principalmente en estadios de espermatocitos I y espermátides, ambos tipos de células rodeados de vacuolas lipídicas y unos pocos espermatozoides. Por el contrario los túbulos de las aves controles presentaron una espermatogénesis normal, con un alto porcentaje de espermatozoides y unas pocas espermátides en transformación.

La existencia de grandes cantidades de espermatocitos I muestra una detención en el proceso de espermatogénesis a este nivel. Por lo que se podría hipotetizar que el espermatocito I sería la célula blanco de la toxicidad de la Fz. Estas observaciones concuerdan con las registradas por otros investigadores en pavos y pollos que habían recibido este nitrofurano a igual dosis que en esta experiencia, pero durante períodos de tiempos diferentes (entre 8 a 40 semanas) (Andrabi, *et al.*, 1998 y Siddique, *et al.*, 1996; Miazzo *et al.*, 1998; Peralta *et al.*, 1996, 1997, Peralta, M. F., 1999).

En el análisis ultraestructural de la zona testicular quística se observó marcada degeneración grasa. En el intersticio se detectaron células necróticas y depósito de fibrillas de proteína, semejantes a colágeno (Figura 1). Por su parte, en el análisis de la zona testicular de apariencia normal, se observó degeneración grasa y los túbulos seminíferos presentaban inclusiones lipídicas. Las células germinales se presentaban desordenadas, con citoplasma de aspecto granular y alteraciones de la membrana basal. Además, en el espacio intersticial también se observó degeneración grasa, células picnóticas (CP) y depósito de fibrillas de proteínas (Figura 2). Las pocas espermátides que se encontraban, se observaron sin integridad de membrana y rodeadas de vacuolas lipídicas (Figura 3).

Nuestros hallazgos concuerdan parcialmente con las observaciones de Gruenewald, D. *et al.*, (1994) y de Ichihara, I. *et al* (1993) realizadas en túbulos seminíferos de ratas adultas, ya que describen la coexistencia de túbulos atroficos y relativamente normales con incremento en el grosor

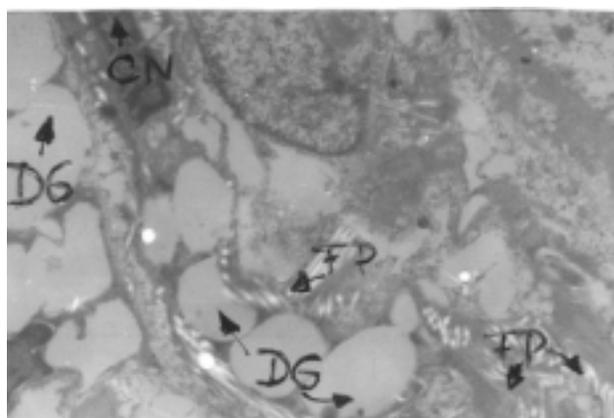


Figura 1. Fotomicrografía electrónica de túbulo seminífero de la zona testicular quística. Se advierte marcada degeneración grasa (DG). Nótese la célula necrótica (CN) y los depósitos de fibrillas de proteínas (FP) (x 9800).

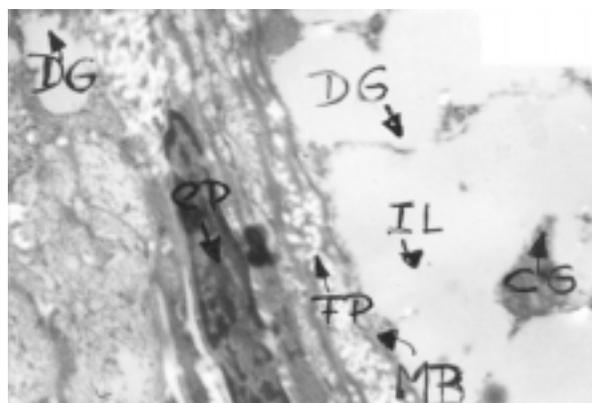


Figura 2. Fotomicrografía electrónica de túbulo seminífero de zona testicular de aspecto normal. Se observa degeneración grasa (DG). Túbulos seminíferos con inclusiones lipídicas (IL), citoplasma de aspecto granular (CG) y alteraciones en la membrana basal (MB). Nótese la degeneración grasa también en el espacio intersticial (DG), células picnóticas (CP) y depósito de fibrillas de proteínas (FP). (x 12000).

de la membrana basal, grandes depósitos de fibrillas de colágeno y un aumento de vasos sanguíneos, correlacionado con un descenso en los niveles de testosterona.

Coincidiendo con algunas de nuestras observaciones, Ali *et al.* (1988) advierten un descenso en la producción de espermatocitos I, espermatozoides con envoltura nuclear arrugada y espermátides con retículo endoplásmico distendido, en pavos que habían recibido esta droga a altas dosis durante 14 días (0,1-2% p/p)

Por su lado, en el estudio ultraestructural de patos púberes, Webb y Van Vleet (1991) encuentran una gradación en la patología, que va desde numerosas vacuolas lipídicas

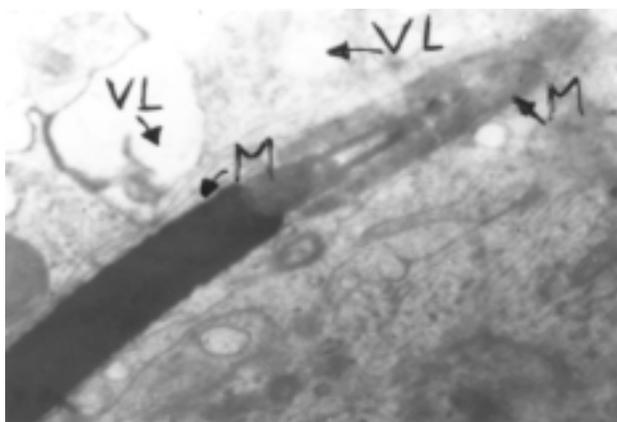


Figura 3. Fotomicrografía electrónica de espermátide. Nótese la pérdida de integridad de membrana (M) y la presencia de vacuolas lipídicas (VL) rodeando esta célula(x 15000).

sólo en las células de Sertoli, con organelas sin alteraciones y unas pocas espermatogonias de aspecto normal hasta la ausencia total de la línea germinal con túbulos tapizados sólo por células epiteliales. A juzgar por el reemplazo del epitelio seminífero y células de Sertoli por células epiteliales indiferenciadas de los túbulos, parecería que el efecto de la droga en los pavos púberes, se manifestó de manera diferente que en los pavos sexualmente maduros de esta investigación. Asimismo, estos autores afirman que el mecanismo que indujo estos cambios en los túbulos es muy semejante a la toxicosis con cloruro de sodio, sin embargo, de acuerdo a nuestros estudios y los de otros investigadores, los mecanismos de una y otra toxicosis serían muy diferentes (Miazzo et al., 1998 y Peralta et al., 1996, 1997). Posiblemente, este retraso en la espermatogénesis se produzca por alteraciones en el número de receptores de LH y/o en la unión de esta hormona a su receptor. Esto generaría una respuesta ineficiente a la testosterona, provocando descenso en los niveles de este esteroide que es fundamental para el desarrollo eficaz de la línea germinal. Además, posiblemente sus resultados morfológicos se deban a que la dosis era casi el doble, 0,07% p/p versus 0,04% p/p, evitando que los pavos generen mecanismos alternativos contra la injuria de la droga, ó que ellos tengan mayor sensibilidad al efecto de la Fz por ser púberes.

Se concluye que la furazolidona, administrada a dosis de 0,04% p/p, durante 45 semanas, produjo en el pavo degeneración grasa testicular. En algunos túbulos el daño producido por la degeneración grasa es irreversible desde la línea germinal, afectando también el espacio intersticial y produciendo pérdida de la línea germinal. En otras zonas tubulares produjo línea germinal desordenada, con alteraciones en las células germinales, siendo uno de los blancos de su efec-

to tóxico los espermátocitos I y las espermátides. Sin embargo, el mecanismo por el cual se producen dichos efectos no está totalmente dilucidado, ya que podría estar relacionado con alteraciones en los niveles de testosterona, ó LH o en el mecanismo de acción de ambas hormonas, lo que será motivo de ulteriores investigaciones.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto, al Consejo Nacional de Investigación Científico y Técnica y al Consejo de Investigación de Córdoba por el aporte económico sin el cual hubiera sido imposible la realización de esta investigación. Además, un agradecimiento muy especial al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Pergamino (Buenos Aires) por su aporte técnico.

## Literatura Citada

- Ali, B., J. Silsby, K. Loseth, B. Crabo y M. El Hallawani. 1988. Some effect of furazolidone on the testis and plasma levels of testosterone luteinizing hormone and prolactin in mature male turkeys. *Int. J. Androl.* 11 (2): 141-152.
- Andrabi, S., Ahmad, M. y Shahab, M. 1998. Furazolidone treatment suppresses pubertal testosterone secretion in male broiler breeder. *Vet. Hum. Toxicol.* 40 (6): 321-325.
- Gruenewald, D., Naai, M., Hess, D. y Matsumoto, A. 1994. The brown norway rat as a model of male reproductive aging: evidence for both primary and secondary testicular failure. *J. of Gerontology* 49 (2): B42-B50.
- Ichihara, I., Kawamura, H. y Pelliniemi, L. 1993. Ultrastructure and morphometry of testicular Leydig cells and the interstitial components correlated with testosterone in aging rats. *Cell Tissue Res* 271: 241-255.
- Khan, M., Zaman, Q., Islam, N y Muhammad, G. 1995. Furazolidone toxicosis in young broiler chicks: morphometric and pathological observations on heart and testes. *Vet. Hum. Toxicol.* 37 (4): 314-318.
- Miazzo, R.D., A. Vivas and M. F Peralta. 1998. Histomorphometric researchs on the furazolidone treated cockerel (*Gallus domesticus*) testes through digital imagen. *Biocell.* 22 (2): H.13.
- Peralta, M. F., A. Vivas, R. D. Miazzo, R. Bosch y E. Moschetti. 1996. Efecto de la furazolidona sobre testículo de pollo prepúber (*Gallus domesticus*). *Avances en Producción Animal*, 21 (1-2): 190-196.
- Peralta, M. F., A. Vivas, R. D. Miazzo y S. Ferrero. 1997. Disminución de la altura del epitelio seminífero de testículos de pavos (*Meleagris gallopavo*) al adicionar furazolidona en sus dietas (Resultados preliminares). *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 5 (supl. 1): 456-458.
- Peralta, M. F. 1999. Efecto de la furazolidona sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en pavos machos (*Meleagris gallopavo*). Tesis Magister en Cs. Agropecuarias y Veterinarias, mención Reproducción Animal. P. 120, Río Cuarto, Córdoba.
- Siddique, M., M. Khan, G. Muhammad y N. Islam. 1996. Reversibility of furazolidone induced changes in testes and secondary sex characters of White Leghorn cockerels. *Vet. Hum. Toxicol.*, 38 (6): 413-417.
- Webb, D. and J. Van Vleet. 1990. Cystic Testicular degeneration in furazolidone toxicosis of sexually immature ducks. *Avian Dis.* 34: 693-700.
- Webb, D. and J. Van Vleet. 1991. Ultrastructural alterations in furazolidone induced cystic testicular degeneration in ducklings. *Avian Dis.* 35: 107-114.