

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS ASSOCIADAS À
HISTOLOGIA TESTICULAR DE TOUROS JOVENS NELORE**

Cynthia Cantagessi de Souza

**CAMPO GRANDE, MS
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**ANÁLISES ULTRASSONOGRÁFICAS ASSOCIADAS À
HISTOLOGIA TESTICULAR DE TOUROS JOVENS NELORE**

Ultrasonographic analysis associated with testicular histology of Nelore young
bulls

Cynthia Cantagessi de Souza

Orientadora: Prof. Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.
Área de concentração: Produção
Animal.

**CAMPO GRANDE, MS
2016**

Certificado de aprovação

CYNTHIA CANTAGESSI DE SOUZA

**Análises ultrassonográficas associadas a histologia
testicular de touros jovens Nelore**

**Ultrasonographic analysis associated with histology
testicular Nelore young bulls**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul, como requisito à obtenção do
título de mestra em Ciência Animal.

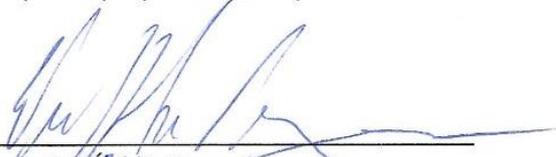
Área de concentração: Produção
Animal.

Aprovado(a) em: 16/03/2016

BANCA EXAMINADORA:



Dra. Eliane Vianna da Costa e Silva
(UFMS) – (Orientadora)



Dr. Ériklis Nogueira
EMBRAPA CPAP



Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS

*Ao meu avô, Altamiro, por mesmo longe, estar
sempre aqui comigo. Saudades eternas.*

*Aos meus pais, Denilson e Simone, por todo esforço e
amor que a mim sempre dedicaram.*

*Ao meu namorado, Vitor, pelo companheirismo
durante toda essa jornada.*

*À minha orientadora, Lili, por ser sempre mais que
uma orientadora.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à Nossa Senhora Aparecida, pela graça da vida.

Aos meus pais, Denilson e Simone, por serem os melhores pais que alguém poderia ter. Por estarem sempre ao meu lado, apoiando todos os meus sonhos, por mais loucos que possam parecer. Sem vocês, eu não sei o que seria de mim. Gratidão eterna é pouco para expressar o que sinto, mas mesmo assim, vou tentar da maneira que posso, nesse momento: Obrigada! Eu amo vocês.

À minha irmã, Adriana, que do seu jeito torto e único, está sempre do meu lado, me dando forças quando preciso. Obrigada pelos nossos momentos, irmãzinha! Sem você nada seria a mesma coisa.

Ao meu namorado, Vitor, que há seis anos está ao meu lado, me fazendo companhia. Obrigada pela paciência e compreensão, nesses momentos de correria, principalmente desse último ano... Obrigada por todo o apoio que sempre me deu. Te amo.

Aos meus avós, Ederlina, Orlando e Anézia, pela torcida, nos bastidores, para que tudo desse certo. Sei que posso contar com vocês e sou muito grata por isso.

Ao meu avô, Altamiro, que não está mais entre nós, mas é e sempre será, para mim, exemplo de força, determinação, caráter e amor.

À minha orientadora, Eliane, por ser sempre um exemplo de profissional, que trabalha com dedicação, amor e ética.

À minha “mãe da Vet”, Lili, por ter estado comigo do início ao fim da minha jornada na Medicina Veterinária, guiando meus passos e me dando apoio e oportunidades. Estou me despedindo da Veterinária, mas você ficará sempre comigo, no meu coração, como um exemplo de profissional e, muito mais do que isso, como um exemplo de ser humano a ser seguido. Serei sempre grata por tudo o que você fez por mim, prof!

Aos técnicos de laboratório, Sr. Ludomir e Sr. Luiz, pela companhia durante todos os anos em que frequentei o Laboratório de Reprodução Animal.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFMS, por todo conhecimento e ensinamento compartilhados, e em especial ao Prof. Carlos Eurico Fernandes, pela grande contribuição na realização desse trabalho.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação, Ricardo, pela disposição em ajudar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que de alguma forma contribuíram, meu sincero agradecimento!

“Não sou nada.

Nunca serei nada.

Não posso querer ser nada.

À parte isso, tenho em mim todos os sonhos do mundo.”

(Álvaro de Campos)

Resumo

SOUZA, C.C. Análises ultrassonográficas associadas à histologia testicular de touros jovens Nelore. 2016. 45f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

O objetivo deste estudo foi caracterizar os múltiplos pontos hiperecoicos (MPH) observados na imagem ultrassonográfica do parênquima testicular de touros Nelore. Foram utilizados 11 bovinos da raça Nelore, com idade entre 15 e 17 meses. Os animais foram submetidos à avaliação ultrassonográfica, para identificação dos indivíduos que apresentavam parênquima testicular heterogêneo, com MPH. Após avaliação, os animais foram orquiectomizados e fragmentos do parênquima testicular foram coletados para a realização de análises histológicas. Determinou-se a porcentagem de túbulos seminíferos que apresentavam aspecto de hipoespermatogênese e que estavam no estágio final da espermatogênese. Avaliou-se a presença ou ausência de hipoespermatogênese, degeneração testicular e organização tubular e estimou-se a presença de fibrose, tecido de sustentação e perivascular. A avaliação histopatológica não apresentou alterações estruturais, nem a presença de calcificações ou fibroses que possam justificar a aparência de MPH na imagem ultrassonográfica. Animais com MPH possuíam maior taxa de hipoespermatogênese, quando comparados àqueles que tinham o parênquima homogêneo que, por sua vez, possuíam maior taxa de espermatogênese em estágio final. Essas alterações devem ser acompanhadas ao longo do tempo e associadas em futuras pesquisas com avaliações de fertilidade, a fim de garantir maior confiabilidade no diagnóstico e no prognóstico, oferecendo maior segurança ao uso do recurso ultrassonográfico na clínica andrológica. Ademais, sugere-se a realização de estudos histopatológicos a partir da coleta de fragmentos testiculares guiada por ultrassom, visando à obtenção de tecido dos locais exatos onde foram visualizados pontos hiperecoicos na imagem.

Palavras-chave: exame andrológico, patologia testicular, pontos hiperecoicos, zebu.

Abstract

SOUZA, C.C. Ultrasonographic analysis associated with testicular histology of Nelore young bulls. 2016. 45f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2016.

The aim of this study was to characterize the multiple hyperechoic points (MHP) observed in the ultrasound image of the testicular parenchyma Nelore bulls. Eleven bulls were used, aged between 15 and 17 months. The animals underwent ultrasonographic evaluation, to identify the individuals with heterogeneous testicular parenchyma, with MPH. After evaluation, the animals were orchietomized and testicular parenchyma fragments were collected to conduct histological analysis. It was determined the percentage of seminiferous tubules presenting hypospermatogenesis aspect and who were in the final stage of spermatogenesis. We evaluated the presence or absence of hypospermatogenesis, testicular degeneration and tubular organization and estimated the presence of fibrosis, perivascular tissue and support. Histopathology showed no structural changes, or the presence of calcifications and fibrosis, which may justify MHP appearance in the ultrasound image. Animals with MHP had hypospermatogenesis higher rate compared to those who had the homogeneous parenchyma, in turn, had a higher rate of spermatogenesis in the final stage. These changes must be accompanied over time and in future research associated with fertility evaluations in order to ensure greater reliability in the diagnosis and prognosis, providing greater security to the use of ultrasound in clinical soundness. Furthermore, it is suggested to carry out histopathological studies from the collection of testicular fragments guided by ultrasound in order to obtain tissue of the exact locations where they were displayed hyperechoic points in the picture.

Keywords: breeding soundness, hyperechoic points, testicular pathology, zebu.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	Fisiologia reprodutiva do touro	11
2.1.1	Aspectos relevantes do desenvolvimento embrionário testicular	11
2.1.2	Anatomia e histologia dos testículos	12
2.2	Ultrassonografia aplicada à reprodução animal	13
2.2.1	O funcionamento da ultrassonografia.....	14
2.2.2	Padrões ultrassonográficos do sistema reprodutivo masculino.....	16
2.2.3	Monitoramento do desenvolvimento sexual masculino	17
2.2.4	Aferição de medidas testiculares	19
2.3	Alterações ultrassonográficas do parênquima testicular	20
2.3.1	Múltiplos pontos hiperecoicos	23
	REFERÊNCIAS	26
	ARTIGO - Análises ultrassonográficas associadas à histologia testicular de touros jovens	
	Nelore	32
	Resumo	32
	Introdução	33
	Material e métodos	35
	Resultados	36
	Discussão	37
	Conclusão	40
	Agradecimentos	40
	Referências	40

1 INTRODUÇÃO

A expressiva demanda por proteínas de alto valor biológico, resultante do crescimento da população mundial, reflete-se na busca por maior eficiência na produção de alimentos, visando à sustentabilidade na produção agropecuária (EISLER et al., 2014). Quando o foco é a bovinocultura, o Brasil ocupa posição de destaque: é detentor do segundo maior efetivo bovino do mundo, com 212,34 milhões de cabeças, e responsável por aproximadamente 16% da produção mundial de carne (IBGE, 2014; USDA, 2015).

A representatividade do país deve-se, sobretudo, à sua ampla extensão territorial, que permite que cerca de 95% do efetivo bovino seja criado em regime extensivo, bem como à composição racial do rebanho, que tem aproximadamente 80% da genética *Bos indicus* em sua formação (ABCZ, 2012). Tal espécie, usualmente denominada zebu, adquiriu genes de termotolerância ao longo da evolução e, portanto, possui características adaptativas vantajosas para sistemas de produção em meio ambiente tropical (HANSEN, 2004).

Aliado a tais fatores, o desenvolvimento de biotecnologias reprodutivas tem contribuído positivamente para a produtividade nacional (NOGUEIRA et al., 2013). Isso se deve ao fato de que, quanto maior a eficiência reprodutiva de um rebanho, maior será seu progresso genético e econômico, haja vista a disponibilidade de animais para seleção e venda (BERGMANN, 1999). Ademais, segundo Trenkle & Wilham (1977), o mérito reprodutivo é economicamente cinco vezes mais importante para a produção de bezerros que o desempenho no crescimento e 10 vezes mais importante que a qualidade do produto.

As biotecnologias da reprodução mais difundidas atualmente são a inseminação artificial, a inseminação artificial em tempo fixo, a transferência e a produção *in vitro* de embriões (NOGUEIRA et al., 2013). Segundo dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA, 2012), aproximadamente 10% das fêmeas bovinas em idade reprodutiva são inseminadas artificialmente, o que torna a monta natural a responsável pela maioria dos acasalamentos do país.

Nesse contexto, o impacto individual exercido pelo macho sobre a produtividade e a fertilidade do rebanho é maior que o da fêmea, considerando-se o maior número de acasalamentos que pode realizar, tanto na monta natural quanto na inseminação artificial, que são predominantes nos criatórios do país (BARBOSA et al., 2005).

A relevância do touro na pecuária requer, portanto, que atenção seja dada à seleção desses animais, não só pela abordagem do melhoramento genético, como também pela perspectiva do potencial biológico reprodutivo. A seleção do potencial fértil é realizada por

meio de exames andrológicos, que incluem a avaliação clínica do animal — principalmente quanto aos aspectos da locomoção, o exame específico do aparelho reprodutor e a análise da qualidade do sêmen (COSTA-E-SILVA et al., 2015).

A ultrassonografia portátil de modo B, aplicada em larga escala na reprodução de fêmeas, tem sido utilizada também como técnica complementar ao exame andrológico (GINTHER, 2014; KASTELIC, 2014). A ferramenta, que permite uma avaliação não invasiva do sistema genital, tem sido empregada principalmente na determinação das medidas testiculares, no diagnóstico de patologias e no acompanhamento do desenvolvimento sexual (CARTEE et al., 1989; CHANDOLIA et al., 1997; ARAVINDAKSHAN et al., 2000; ABDEL-RAZEK & ALI, 2005).

Quanto à detecção de patologias, a ultrassonografia permite que sejam especificadas a localização e a natureza de alterações teciduais que não seriam facilmente visíveis apenas pelo exame físico. As patologias testiculares mais comuns, como orquites e degenerações, podem ter seus diagnósticos auxiliados pela técnica, caracterizando-se por padrões de imagens distintos do homogêneo, que é o considerado normal para testículos (GNEMMI & LEFBVRE, 2009).

Uma alteração ainda pouco estudada em bovinos é a presença de múltiplos pontos hiperecoicos (MPH) no parênquima testicular, tornando-o heterogêneo. Em humanos, tal alteração é atribuída à microlitíase, condição marcada pela deposição de cálcio no interior dos túbulos seminíferos, comumente associada às patologias neoplásicas (COELHO et al., 2005; RICHENBERG et al., 2015). Cardilli et al. (2009), trabalhando com bovinos da raça Nelore, relataram a presença de MPH nos testículos de animais pré-púberes e associaram os achados ao padrão da microlitíase, sugerindo o descarte precoce desses tourinhos.

Contudo, devido às alterações fisiológicas pelas quais passa o parênquima testicular durante o desenvolvimento sexual dos touros, é temeroso descartar os animais sem uma prévia análise das possíveis causas da existência dos MPH. Dessa forma, justifica-se o estudo mais aprofundado sobre o tema, visando à compreensão das alterações do parênquima testicular.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiologia reprodutiva do touro

2.1.1 Aspectos relevantes do desenvolvimento embrionário testicular

Durante o desenvolvimento fetal, os mamíferos passam por uma fase bipotencial, em que apresentam estruturas embrionárias indiferenciadas, ainda comuns a machos e fêmeas (JOST et al., 1970). Essas estruturas têm origem nas cristas gonadais, derivadas do mesoderma intermediário. A proliferação das células do epitélio mesodérmico, acompanhada pela sua penetração no mesênquima subjacente, dá origem aos cordões sexuais primários. As células germinativas primordiais, até então presentes entre as células endodérmicas do saco vitelino, migram até as cristas gonadais e invadem os cordões primários que, ligados ao epitélio superficial, caracterizam a gônada indiferenciada (SADLER, 2005).

Na presença do cromossomo Y, inicia-se o processo de determinação sexual do macho, desencadeado pelo gene SRY, que codifica o fator determinante do testículo (FDT) e induz a diferenciação da gônada bipotencial nesse sentido (MELLO et al., 2005). O FDT estimula a condensação dos cordões sexuais primários – a partir de então denominados *cordões seminíferos*, que penetram na medula da gônada e se anastomosam, formando a rede testicular. Surge, então, a túnica albugínea, cápsula fibrosa e espessa que extingue a conexão do epitélio de superfície com os cordões seminíferos (MOORE & PERSAUD, 2008).

Os cordões são compostos, portanto, pelas células germinativas primordiais – que darão origem às espermatogônias, e por células de sustentação de Sertoli, derivadas do epitélio de superfície da gônada. As células intersticiais de Leydig se originam do mesênquima da crista gonadal e começam a se desenvolver logo após a diferenciação dos cordões, situando-se entre eles. Os cordões seminíferos permanecem sólidos até a puberdade, quando adquirem luz e passam a ser denominados túbulos seminíferos (SADLER, 2005).

Após a formação testicular, inicia-se a diferenciação da genitália interna e externa, fenômeno dependente da produção de hormônios sexuais fetais (DOMENICE et al., 2002). Nesse processo, a testosterona, oriunda das células de Leydig, estimula o desenvolvimento dos ductos de Wolf, que dão origem à genitália masculina interna, composta pelos epidídimos, vesículas seminais e ductos deferentes. Por meio da ação da enzima 5 α -redutase, parte da produção desse hormônio desdobra-se em di-hidrotestosterona, evento fundamental para a diferenciação da genitália masculina externa, representada pelo pênis e escroto

(MELLO et al., 2005).

Além dos andrógenos, o hormônio anti-mülleriano (AMH), produzido pelas células de Sertoli, é fundamental nessa diferenciação por ser responsável, nessa fase, pela inibição dos ductos de Müller, que se diferenciariam em tubas e útero na sua ausência (DOMENICE et al., 2002).

O último evento embriológico relevante para a formação testicular é a descida dos testículos para o escroto, que se inicia na metade da vida fetal do touro e visa favorecer a termorregulação testicular e a consequente produção espermática. A migração é precedida pela formação do processo vaginal, uma extensão do saco peritoneal até a parede abdominal, que abriga o ligamento inguinal do testículo, denominado gubernáculo. Esse ligamento é responsável por guiar a descida dos testículos, levando-os a passar através do anel inguinal e alojar-se, por fim, no escroto (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

2.1.2 Anatomia e histologia dos testículos

Os testículos possuem contorno alongado e oval, sendo o eixo longo vertical. Situam-se fora da cavidade abdominal e alojam-se no escroto, uma espécie de bolsa composta por camadas de pele, túnica dartos, fáschia do escroto e túnica vaginal, subdividida em camada parietal e visceral. A túnica albugínea, que encontra-se entre a túnica vaginal e o testículo, emite trabéculas para a glândula, subdividindo o parênquima em lóbulos. Essas trabéculas convergem para formar uma faixa axial de tecido conjuntivo de aproximadamente cinco milímetros de espessura, denominada mediastino (SISSON & GROSSMAN, 2000).

Cerca de 90% do parênquima testicular de touros adultos é composto por túbulos seminíferos, onde o processo de espermatogênese é conduzido. Entre os túbulos localizam-se as células intersticiais, ou células de Leydig – que são as principais produtoras de hormônios esteroides androgênicos, além de vasos sanguíneos e linfáticos (DYCE et al., 2004).

No epitélio do túbulo seminífero encontram-se as células de Sertoli, que são células de sustentação de formato cilíndrico, que se estendem da lâmina basal até o lúmen e, pouco antes da puberdade, formam a barreira hematotesticular. Além dessas, estão presentes as células da linhagem espermatogênica (espermatogônias, espermatócitos e espermátides), que dividem-se e diferenciam-se para formar os espermatozoides, que por sua vez situam-se ao longo da margem do lúmen (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

O epitélio seminífero é circundado por uma membrana basal e uma parede formada por fibras colágenas, fibroblastos e células mioides. Os túbulos seminíferos direcionam-se

para o mediastino testicular, onde se localiza a *rete testis*, uma rede de canais responsável por coletar os produtos do epitélio seminífero. Da *rete testis* originam-se os ductos eferentes, que se unem em um único ducto espiralado em uma estrutura compacta, denominado epidídimo (KIERSZENBAUM, 2008).

O epidídimo divide-se em cabeça, corpo e cauda. A cabeça curva-se sobre a extremidade dorsal do testículo; o corpo, estreito, situa-se ao longo da parte lateral da borda caudal e a cauda, por sua vez, está inserida na extremidade ventral da gônada. O ducto deferente, prolongamento da cauda do epidídimo, junta-se às artérias, veias, vasos linfáticos e plexo testicular, bem como aos feixes de tecido muscular liso e a lâmina visceral da túnica vaginal, formando o funículo espermático. Posteriormente, segue até a parte caudal da bexiga urinária e forma a ampola do ducto deferente, finalizando seu trajeto no colículo seminal (SISSON & GROSSMAN, 2000).

O aparelho reprodutivo do touro compõe-se, ademais, pelas glândulas acessórias, que consistem nas vesículas seminais, próstata e glândulas bulbouretrais, bem como pelo pênis e prepúcio, que não serão objeto de estudo aprofundado nesse trabalho.

2.2 Ultrassonografia aplicada à reprodução animal

A ultrassonografia é utilizada por cerca de 15 a 20% dos médicos veterinários em suas rotinas de trabalho. Isso se deve, sobretudo, à facilidade de transporte e manuseio do equipamento, resultante da sua portabilidade e certa resistência às condições de campo (GNEMMI & LEFEVBRE, 2009), além do valor do investimento, que tem se tornado cada vez mais acessível à maioria dos profissionais (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005). A técnica revolucionou a pesquisa na reprodução de animais de grande porte, sendo a ela atribuída grande parte dos avanços dessa área nos últimos 30 anos (GINTHER, 2014).

Devido à complexidade da reprodução e da disposição anatômica interna do sistema reprodutivo feminino, a maioria dos estudos ultrassonográficos estão relacionados à fisiologia reprodutiva da fêmea (HAHN et al., 1999). A ferramenta é frequentemente utilizada para a realização de diagnóstico de gestação, determinação do sexo fetal, determinação de anomalias nos órgãos reprodutivos e para o monitoramento do desenvolvimento folicular, entre outras importantes utilidades (RIBADU & NAKAO, 1999; FRICKE & LAMB, 2002).

Em machos, a ultrassonografia é utilizada com menor frequência e, entre as principais aplicações nesses animais, está a complementação do exame andrológico, possibilitando a detecção e caracterização de patologias testiculares que não seriam diagnosticadas apenas

pelo exame físico externo (KASTELIC & BRITO, 2012). Além disso, trabalhos têm associado a técnica à biometria testicular (CARTEE et al., 1989; BAILEY et al., 1998) e ao estudo do desenvolvimento sexual masculino (CHANDOLIA et al., 1997; ARAVINDAKSHAN et al., 2000; ABDEL-RAZEK & ALI, 2005).

2.2.1 O funcionamento da ultrassonografia

A ultrassonografia em escala de cinza compreende, basicamente, três modos: o modo A, ou de amplitude, o modo B, ou de brilho, e o modo M, de movimento. O primeiro é o modo mais antigo e o de operação mais simples de um sistema de ultrassom, geralmente utilizado em oftalmologia. Já o modo M produz imagens que representam o movimento de uma estrutura ao longo de uma linha e é comumente empregado quando se deseja avaliar o coração (AUGUSTO & PACHALY, 2000).

O modo B, por sua vez, produz uma imagem bidimensional e é o mais adequado para a aplicação na reprodução de animais de grande porte (FRICKE & LAMB, 2002). Os primeiros relatos de uso nessa área foram feitos em 1980, quando o sistema reprodutivo de éguas começou a ser estudado por meio dessa técnica. Quatro anos depois, a ferramenta foi utilizada para o estudo dos ovários, útero e feto de novilhas. Somente no final da década de 90 a ultrassonografia de modo B passou a ser utilizada para avaliar o sistema reprodutivo de machos, tanto equinos quanto bovinos, dando início a uma série de pesquisas sobre esses animais (GINTHER, 2014).

A técnica consiste em uma ferramenta diagnóstica baseada na emissão de ondas sonoras cujas frequências superam o limite audível pelo ser humano, de 20 mil Hz, e são classificadas, dessa forma, como ultrassom (WILLIAMS et al., 2001). As ondas são geradas por vibrações de cristais de quartzo, em decorrência da propriedade piezoelétrica destes, que possibilita sua expansão e contração, em resposta a pulsos de corrente elétrica. Esses movimentos produzem as ondas sonoras que, quando alcançam os tecidos, são refletidas. Os ecos são, então, recebidos pelos cristais e convertidos novamente em sinais elétricos, que por sua vez são transformados em imagem, no monitor do aparelho (GINTHER, 2014).

Os cristais encontram-se alojados em transdutores, que podem ser classificados como lineares ou setoriais, sendo que os mais utilizados para a avaliação de órgãos reprodutivos bovinos são os primeiros. Como sugere o próprio nome, os lineares são formados por uma série de cristais dispostos em linha e produzem, dessa forma, uma imagem retangular. Já os transdutores setoriais, diferentemente, produzem uma imagem em formato de “porção de

torta” (GRIFFIN & GINTHER, 1992; FRICKE & LAMB, 2002; MOELLER, 2002).

Ademais, esses equipamentos podem produzir diferentes frequências, sendo as de 3,5, 5,0 e 7,5 MHz as mais utilizadas para reprodução bovina. Quanto maior a frequência utilizada, menor será a capacidade de penetração das ondas acústicas e melhor será a resolução da imagem obtida. As frequências mais altas são, portanto, as mais indicadas para a análise de estruturas pequenas, como folículos ovarianos, enquanto frequências mais baixas podem ser utilizadas para estruturas que exijam menor detalhamento, como fetos de gestações mais avançadas (ZALESKY, 1993; RIBADU & NAKAO, 1999; WILLIAMS et al., 2001).

Por fim, no modo B, a imagem é composta por milhares de pontos, denominados *pixels*, que possuem uma cor em uma escala de cinza que vai do 0 ao 255, onde 0 representa o preto e 255, o branco (RIBADU & NAKAO, 1999; KASTELIC & BRITO, 2012). A tonalidade dos pontos é proporcional à amplitude dos ecos de retorno refletidos para o transdutor (GRIFFIN & GINTHER, 1992), determinada pela ecogenicidade dos tecidos, ou seja, sua capacidade de refletir as ondas sonoras, que depende de sua densidade e rigidez (AHMAD, 1997).

Estruturas com fluidos, como folículos de Graaf ou a bexiga urinária, não refletem as ondas e aparecem, portanto, na cor preta. Essas estruturas são consideradas anecogênicas e produzem, assim, imagens anecoicas. De maneira contrária, estruturas densas, como ossos e tecidos fibrosos, possuem alta capacidade de refletir as ondas e aparecem em branco na tela, sendo denominadas hiperecogênicas (AHMAD, 1997; WILLIAMS et al., 2001).

Quando se deseja fazer comparações entre o padrão de eco de determinadas imagens, deve-se levar em consideração a ecogenicidade dos tecidos adjacentes. Portanto, as imagens podem ser hiperecoicas, quando o padrão de intensidade de pixels de determinada região for superior ao dos tecidos circundantes; isoecoicas, quando for semelhante, e hipoecoicas, quando for menor, ou seja, mais próximo ao preto (AHMAD, 1997).

É importante ressaltar que a análise visual das imagens produzidas pela ultrassonografia, embora seja eficiente em vários aspectos, é altamente subjetiva, visto que é baseada apenas no olho humano. Portanto, quando se pretende obter informações mais precisas sobre a estrutura e a função dos tecidos, em situações nas quais pequenas variações são relevantes, utiliza-se a análise computadorizada, por ser esta uma forma objetiva de quantificar a intensidade de pixels (KASTELIC & BRITO, 2012).

A obtenção de informações acerca das imagens ultrassonográficas do sistema reprodutivo masculino, em especial dos testículos, requer a exposição destes às ondas acústicas, por certo período de tempo. Nessa perspectiva, Coulter & Bailey (1988) afirmaram

que a exposição de tais órgãos pelo período de três minutos, a uma frequência de 5 MHz, não acarreta efeitos deletérios sobre o desenvolvimento testicular, a produção de espermatozoides e a qualidade seminal, durante pelo menos 69 dias após o tratamento, em touros de corte.

Do mesmo modo, a prévia coleta de sêmen não influencia o padrão ultrassonográfico (GOULETSOU et al., 2003). Além disso, pode haver um período de tempo considerável entre a visualização do ultrassom dos testículos e a observação de células espermáticas no ejaculado produzido pelo parênquima visualizado (EILTS & PECHMAN, 1988). Nesse sentido são os estudos de Arteaga et al. (2005), que concluíram que a ultrassonografia pode ser associada com a qualidade do sêmen avaliado duas a quatro semanas após a realização do exame ultrassonográfico, e não com a do sêmen coletado simultaneamente à obtenção da imagem.

Compreendida a técnica, conhecer o padrão de imagem dos órgãos abordados é o próximo passo do estudo ultrassonográfico do sistema reprodutivo, visto que somente entendendo a normalidade é possível detectar eventuais alterações.

2.2.2 Padrões ultrassonográficos do sistema reprodutivo masculino

A avaliação ultrassonográfica do sistema reprodutivo masculino via transretal possibilita a visualização da glândula bulbouretral, da próstata, das ampolas e das glândulas seminais, que não poderiam ser detalhadamente avaliadas apenas com a palpação retal. Em touros, a glândula bulbouretral apresenta-se como uma estrutura fusiforme hiperecogênica, uniformemente incorporada ao músculo bulbocavernoso (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005).

A próstata é também uma estrutura hiperecogênica, localizada sobre o lúmen uretral, que possui aparência anecoica. As ampolas são vistas como duas linhas dorsais, sobre o colo da bexiga, com lúmen não ecogênico, revestimento moderadamente ecogênico e parede muscular hiperecogênica. As glândulas seminais, por sua vez, são visualizadas ao lado das ampolas e possuem formato irregular, apresentando lóbulos isoecoicos de tecido glandular, separados por regiões hipoecoicas (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005).

Avaliações do epidídimo demonstraram que a cabeça e a cauda são identificadas nas extremidades proximal e distal dos testículos, respectivamente, e possuem ecogenicidade inferior à do parênquima testicular. A cauda apresenta numerosas estruturas tubulares anecoicas, da mesma forma que o plexo pampiniforme, observado na extremidade proximal do testículo (PECHMAN & EILTS, 1987). A cabeça do epidídimo, de textura mais homogênea que a cauda, é mais difícil de ser identificada (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005),

enquanto o corpo do epidídimo não é detectável em caprinos, de acordo com Gouletsou et al. (2003), mas mais facilmente detectável em bovinos.

As túnicas testiculares não são identificadas isoladamente, exceto quando há presença de líquido na cavidade vaginal, considerado normal quando não excede 2 mm de espessura. Quando não há fluido, mostram-se como uma fina linha ecogênica, que separa o escroto do parênquima testicular (PECHMAN & EILTS, 1987; CARDILLI et al., 2010).

A avaliação do testículo no plano longitudinal revela o mediastino como uma estrutura linear, com ecogenicidade maior que a do parênquima testicular. (GOULETSOU et al., 2003; ARTEAGA et al., 2005; KUMARI et al., 2015; SILVA et al., 2015). Já quando observado no plano transversal, apresenta-se como um ponto hiperecoico, no centro da imagem (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005; CARDILLI et al., 2010; CARDILLI et al., 2012).

Segundo Pechman & Eilts (1987), em touros com idade inferior a dois anos o mediastino é facilmente identificável, caracterizando-se por ser uma estrutura de 2 a 4 mm, diferentemente do que ocorre em animais com mais de quatro anos, em que a estrutura apresenta-se menos definida e mais estreita. Jucá et al. (2009), estudando carneiros, encontraram menor frequência do mediastino testicular de alta ecogenicidade no grupo de animais mais velhos. Contrariamente, Cardilli et al. (2012), estudando bovinos de 10 a 18 meses de idade, afirmaram que a espessura média do mediastino testicular, bem como a ecogenicidade dessa estrutura, aumentam em proporção direta com a idade do animal.

O parênquima testicular de animais adultos é homogêneo e moderadamente ecogênico (PECHMAN & EILTS, 1987; GOULETSOU et al., 2003). Entretanto, essa ecogenicidade não é constante: durante o desenvolvimento sexual do animal, os valores de intensidade de *pixels* apresentam variações, refletindo as mudanças que ocorrem no parênquima testicular, como a proliferação celular e a produção de fluido por esse órgão (CHANDOLIA et al., 1997).

2.2.3 Monitoramento do desenvolvimento sexual masculino

A ultrassonografia testicular é um método não invasivo útil para a determinação da fase de desenvolvimento reprodutivo masculino (EVANS et al., 1996). Sabe-se que os testículos passam por alterações em sua ecogenicidade durante o desenvolvimento, sendo que há um aumento desta desde o nascimento até a puberdade, já descrito em humanos, bovinos, bodes e carneiros, entre outros animais (TAPPING & CAST, 2008; ANDRADE et al., 2012; BRITO et al., 2012; KUMARI et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Hamm & Fobbe (1995), estudando 143 meninos com idade entre seis meses e 16 anos

e 11 homens com idade média de 30 anos, chegaram à conclusão de que a ecogenicidade testicular aumenta com a maturação sexual, visto que os testículos pré-púberes apresentaram-se homogêneos e com baixos valores de ecogenicidade, quando comparados aos testículos maduros, também homogêneos, porém com ecogenicidade média.

Em bovinos, diversos estudos foram feitos nesse sentido. Chandolia et al. (1997), acompanhando bezerros da raça Hereford, de duas a 46 semanas de idade, relataram um padrão de alteração da ecogenicidade testicular. Os autores descreveram um aumento inicial, entre o nascimento e seis a oito semanas de idade, que associaram à proliferação celular do parênquima. De 20 semanas em diante, houve um novo aumento, atribuído ao início da divisão de espermatogônias e à formação gradual de células mais maduras da espermatogênese. A partir da 30^o semana, descreveram uma queda da ecogenicidade, justificada pela formação de lúmen nos túbulos, bem como pela proliferação das células de Sertoli, que aumentam a secreção de fluido, necessária para as células germinativas em maturação. Um último aumento, a partir da quadragésima semana, foi associado, no estudo em questão, ao aumento da densidade celular, resultante da formação de espermátides e sua maturação em espermatozoides.

Em trabalho semelhante, com bovinos de corte europeus, Aravindakshan et al. (2000) relataram um aumento gradual da ecogenicidade testicular até aproximadamente 16 semanas, o qual associaram à proliferação celular. Em seguida, houve uma queda na intensidade de *pixels*, atribuída pelos autores a um aumento significativo no volume de túbulos seminíferos e a uma proporção aumentada de fluido no tecido, que começam por volta desse período em bezerros, e refletem a transformação de um testículo pré-púbere em um testículo púbere, contendo células de Sertoli e espermatogônias. O valor da intensidade de *pixels* voltou a subir outra vez a partir da 32^o semana, aproximadamente e, segundo os pesquisadores, está relacionado à formação gradual de tipos de células mais maduras, coincidindo com o início da espermatogênese.

Estudando bovinos da raça Nelore, Cardilli et al. (2012) encontraram ecogenicidade média do parênquima testicular de 18,47; 28,48; 25,19; 29,53 e 45,17, aos 10, 12, 14, 16 e 18 meses de idade, respectivamente. Corroborando com os trabalhos anteriores, que relataram um padrão de aumento seguido por uma queda e, novamente, por um aumento, os autores afirmaram que a ecogenicidade do parênquima testicular aumenta em proporção direta com a idade destes.

Brito et al. (2012) confirmaram o que foi dito pelos demais pesquisadores, alegando que, até a puberdade, o valor de intensidade de *pixels* do parênquima testicular de touros

Nelore varia. Os autores relacionaram tais alterações à diferenciação das células de Sertoli, à formação da barreira hematocelular, ao aumento do diâmetro dos túbulos seminíferos e tamanho do lúmen, ao aumento da proporção do parênquima testicular ocupado pelos túbulos seminíferos e à rápida expansão da população de todos os tipos de células germinativas, que conduzem ao início da espermatogênese.

Entretanto, depois de atingida a puberdade, a ecogenicidade dos testículos de bovinos não se altera significativamente, indicando que um determinado estágio de desenvolvimento do parênquima testicular deve ser alcançado antes de alcançada puberdade (BRITO et al., 2012). Em caprinos, entretanto, o padrão ultrassonográfico testicular não se mantém após a puberdade, conforme relatado por Carazo et al. (2014), que atribuíram tal alteração à influência do fotoperíodo.

Conclui-se, portanto, que a ultrassonografia é uma técnica eficiente para o estudo do desenvolvimento do sistema reprodutivo de machos, visto que os dados oferecidos pelas análises de suas imagens podem ser uma ferramenta útil para prever a puberdade e a fertilidade de touros (ABDEL-RAZEK & ALI, 2005). Ademais, Cardilli et al. (2014) consideram que a técnica pode ser utilizada como indicador de precocidade sexual, visto que a ecogenicidade testicular de animais púberes é superior àquela de animais pré-púberes, com a mesma idade.

2.2.4 Aferição de medidas testiculares

A ultrassonografia possui grande importância no estudo da reprodução de machos pois, além de permitir o acompanhamento do desenvolvimento sexual dos touros, também pode ser empregada na determinação das medidas dos testículos de forma direta. Taskinen et al. (1996), comparando o uso do paquímetro, do orquidômetro e da ultrassonografia para aferir o volume testicular em humanos, não encontraram diferenças entre esses métodos. Considerando-se o custo do equipamento de ultrassom, os pesquisadores indicaram o uso da técnica para medir o volume testicular quando esse aparelho já estiver sendo utilizado, por exemplo, para a investigação de alguma patologia testicular.

Segundo Cartee et al. (1989), a ultrassonografia de modo B pode ser utilizada para aferir com precisão o diâmetro testicular. Estudando bovinos da raça Hereford, os pesquisadores não encontraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diâmetros testiculares médios obtidos pela ultrassonografia, com o animal vivo, e aqueles obtidos pela medição física, aferidos após orquiectomia. Além disso, os autores relataram correlações positivas

entre o diâmetro testicular obtido pela ultrassonografia e o obtido pela medição física ($r=0,99$; $p<0,0005$), bem como entre aquele e a circunferência ($r=0,96$; $p<0,03$), o peso ($r=0,99$; $p<0,009$) e o volume dos testículos ($r=0,99$; $p<0,003$).

Entretanto, Bailey et al. (1998), comparando comprimento e largura testiculares obtidas pelo paquímetro e pela ultrassonografia em bovinos vivos, com as medidas reais conferidas após a orquiectomia, relataram que, para a largura, ambos os instrumentos são confiáveis, visto que o paquímetro apresentou correlação de $r=0,73$ ($p<0,05$) e a ultrassonografia, $r=0,83$ ($p<0,05$).

Com relação ao comprimento, de acordo com os autores supracitados, o paquímetro obteve maior correlação com a medida *post mortem* ($r=0,80$; $p<0,05$), quando comparado ao ultrassom ($r=0,51$; $p<0,05$), o que pode ser explicado pelo tamanho do transdutor geralmente utilizado nessas avaliações, possivelmente menor que o tamanho testicular, visto que os animais avaliados tinham aproximadamente 36 meses de idade.

Estudando touros europeus, Gábor et al. (1998) concluíram, da mesma forma, que a imagem ultrassonográfica do escroto foi inferior à medida da circunferência escrotal, para a previsão do volume testicular.

Já Peixoto et al. (2016), avaliando a aplicabilidade do paquímetro e da ultrassonografia para determinar o volume testicular de catetos, concluíram que ambos são confiáveis. Entretanto, a eficiência de cada instrumento depende da fórmula utilizada para o cálculo, sendo que a de Lambert é a mais adequada quando o ultrassom é usado. Ademais, esses autores apontaram que a ultrassonografia apresenta vantagens sobre o uso do paquímetro, pois além de ser capaz de auxiliar a determinação desta medida, pode ser utilizada para a avaliação do parênquima testicular, indicando alterações patológicas não visíveis a olho nu.

De maneira geral, as ferramentas de avaliação convencionais, além de mais fáceis de se utilizar, demonstram maior grau de precisão da medida aferida em alguns casos (BAILEY et al., 1998; ABDEL-RAZEK & ALI, 2005), o que não descarta, contudo, o uso da ultrassonografia como uma ferramenta confiável nesse sentido.

2.3 Alterações ultrassonográficas do parênquima testicular

O exame andrológico de rotina baseia-se, principalmente, no exame físico, em características seminais, na circunferência escrotal e na palpação testicular e tem como finalidade uma abordagem clínica sistemática de reconhecimento da fertilidade de touros. Entretanto, em alguns casos, técnicas complementares são necessárias para a determinação de

um diagnóstico específico e a ultrassonografia insere-se nesse contexto. A ferramenta, menos invasiva que a biópsia, permite o diagnóstico das principais patologias testiculares, especificando a natureza e a localização de alterações associadas com anomalias (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009)

De acordo com Gnemmi & Lefebvre (2009), entre as alterações mais comuns encontradas em bovinos que podem ter seus diagnósticos confirmados com o auxílio da ultrassonografia estão orquites, cistos e degenerações testiculares, bem como hematomas, abscessos, hidroceles, hematocelos, hipoplasias e neoplasias testiculares.

Em um levantamento conduzido por Rabelo et al. (2015), a orquite foi a responsável por aproximadamente 40% das enfermidades de escroto e testículos de touros avaliados no estado de Goiás, entre 2007 e 2013. Contudo, outros autores afirmam ser rara tal patologia (TAPPING & CAST, 2008; GNEMMI & LEFEBVRE, 2009), sendo que sua causa mais frequente é a brucelose (BICUDO et al., 2007).

No exame físico da fase aguda da orquite, nota-se uma sensibilidade dolorosa no escroto, que se apresenta com maior volume, quente e edematoso. Já na fase crônica, este apresenta-se insensível à palpação e com volume reduzido. A imagem ultrassonográfica mostra um parênquima heterogêneo e a evolução da patologia produz imagens hiperecoicas, associadas à presença de fibrose ou mineralização (BICUDO et al., 2007; GNEMMI & LEFEBVRE, 2009).

Os cistos intratesticulares simples são geralmente assintomáticos e de tamanho variado (TAPPING & CAST, 2008). A patogenia não é conhecida, mas sugere-se que possa ser congênita, pós-traumática ou pós-inflamatória. Na imagem ultrassonográfica, os cistos possuem aparência anecoica bem definida, com paredes imperceptíveis. Quando, contudo, estão acompanhados de hemorragias e infecções, os cistos perdem sua aparência anecoica e passa a apresentar ecos suspensos (VITAL et al., 2007).

A degeneração testicular é a maior causa da redução de fertilidade em machos, sendo mais frequente em touros de origem europeia que nos de origem zebuína. Entre as causas principais de surgimento da degeneração estão alterações que elevam a temperatura testicular, tais como infecções, traumas, lesões vasculares, varicocele, dermatite, excesso de gordura escrotal, edema ou hidrocele (BICUDO et al., 2007). A degeneração caracteriza-se pela perda de integridade do parênquima testicular, conduzindo a uma redução no seu tamanho. Na ultrassonografia, o tecido perde sua estrutura homogênea e torna-se hiperecoico, devido a presença de fibroses e, com o passar do tempo, passa a apresentar sombras acústicas (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009).

Hematomas são raros, associados a traumas, e a sua visualização na ultrassonografia depende da fase de organização. Inicialmente, apresentam-se como uma área anecoica e, com o passar do tempo, é possível visualizar uma massa de ecogenicidade mista, com uma cápsula ecoica definida. Da mesma forma, a aparência ultrassonográfica dos abscessos relaciona-se com a fase de organização, sendo que, na maioria das vezes, o parênquima apresenta-se bastante heterogêneo (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009).

A hidrocele é caracterizada pela presença excessiva de fluido entre as lâminas da túnica vaginal, levando a um edema, geralmente indolor (TAPPING & CAST, 2008). A patologia é frequentemente secundária à torção do cordão espermático ou à compressão do plexo pampiniforme. Na imagem ultrassonográfica, é possível observar um espaço anecoico, visto que há presença de fluido, com pontos ecogênicos. Quando, contudo, há presença de sangue, caracteriza-se a hematocele, e o espaço, inicialmente anecoico, torna-se hiperecoico com o decorrer do tempo (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009).

De caráter hereditário, a hipoplasia testicular caracteriza-se pelo desenvolvimento incompleto das camadas germinativas dos túbulos seminíferos, levando à diminuição da concentração espermática e aumento das alterações morfológicas dos espermatozoides (BICUDO et al., 2007). A alteração pode ser uni ou bilateral e é a anomalia reprodutiva mais comum em touros jovens. O parênquima testicular apresenta menor ecogenicidade, quando comparado ao seu padrão de normalidade (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009).

As neoplasias testiculares apresentam-se geralmente, em bovinos, como um aumento unilateral do escroto e possuem ecogenicidade variada, dependendo de sua natureza (GNEMMI & LEFEBVRE, 2009). Em homens, os tumores dividem-se em quatro grandes grupos: de células germinativas, do cordão sexual e estroma gonadal, do tecido linfóide e as metástases. Aproximadamente 50% dos casos relatados em humanos são de seminomas, um tipo de tumor de células germinativas. O aspecto ultrassonográfico desse tipo de neoplasia é de lesão hipoeicoica homogênea, com limites bem definidos, podendo ou não estar associada à microlitíase testicular. Além disso, pode apresentar-se como lesão volumosa e heterogênea, com áreas císticas associadas ou, ainda, infiltrando todo o testículo (SOUZA et al., 2005).

Além das patologias citadas, tem sido relatada a presença de MPH no parênquima testicular de animais, tanto bovinos (BARTH et al., 2008; CARDILLI et al., 2009) quanto ovinos (ANDRADE et al., 2012). Esses achados não estão relacionados a alterações de tamanho, forma, posição, simetria, mobilidade, consistência e sensibilidade testiculares (CARDILLI et al., 2009).

2.3.1 Múltiplos pontos hiperecoicos

Cardilli et al. (2009), estudando 114 bovinos da raça Nelore, encontraram três animais que apresentavam MPH no parênquima testicular, dos nove aos 15 meses de idade. Os autores relacionaram a aparência ultrassonográfica com as microlitíases testiculares, bastante estudada em humanos e, diante disso, sugeriram que essa alteração possa ser motivo de descarte precoce dos animais, visto que, no homem, ela se relaciona com diversas patologias testiculares.

A microlitíase testicular é uma patologia geralmente assintomática, marcada pela presença de microcalcificações de 1 a 2 mm de diâmetro no interior dos túbulos seminíferos, distribuídas de forma aleatória pelo parênquima (COELHO et al., 2005). São consideradas microlitíases clássicas aquelas que, na avaliação ultrassonográfica, apresentam mais de cinco pontos hiperecoicos por imagem e limitadas as que apresentam valores inferiores. Na maior parte dos casos relatados em humanos, a incidência é da microlitíase testicular bilateral (CHIANG et al., 2012; COOPER et al., 2014).

A alteração está comumente associada ao criptorquidismo, varicocele, torção testicular, síndrome de Klinefelter, síndrome de Down, síndrome de Carney, pseudohermafroditismo, infertilidade e neoplasias testiculares, entre outras doenças (COELHO et al., 2005). Apesar de ter origem desconhecida, pesquisadores sugerem que a microlitíase seja resultado da degeneração do epitélio seminífero, que permanece no lúmen e acumula-se na forma de glicoproteínas, envoltas por camadas de cálcio. Outras correntes indicam que as microlitíase são resultado da disfunção das células de Sertoli, relacionada à embriogênese gonadal anormal (KOCAOGLU et al., 2005).

Segundo Dutra et al. (2011), essa patologia é uma condição rara. Esses autores relataram a ocorrência da alteração em 0,71% de uma população de pacientes pediátricos estudados durante cinco anos, que buscaram auxílio médico por apresentarem alguma afecção inguino-escrotal. Ademais, nesse estudo, 3,93% (5 de 127) dos pacientes que possuíam criptorquidismo apresentavam também microlitíases, assim como 100% (1 de 1) dos que tinham hipotrofia testicular.

Cooper et al. (2014) encontraram incidência superior de microlitíase testicular, de 2%, em 3.370 crianças norte-americanas que foram submetidas a avaliações ultrassonográficas escrotais, entre os anos de 2003 e 2012. Os autores relataram associação significativa entre a microlitíase e a presença de tumor testicular maligno. Nesse sentido, diversas são as recomendações para monitoramento de pacientes que apresentem imagens ultrassonográficas

características dessa alteração, tendo em vista que, apesar de benigna, pode ser a manifestação precoce de um tumor (COELHO et al., 2005; DOMINGUEZ-HINAREJOS et al., 2007; PRICE et al., 2014; MATUREN, 2015).

Chiang et al. (2012), contudo, não encontraram nos seus estudos relação entre microlitíase testicular e câncer e, portanto, não acreditam que há evidências suficientes para associar a alteração à malignidade de tumores testiculares.

Por sua vez, Coley (2005) relatou o caso de um paciente que, aos oito anos de idade, sentia dor no testículo esquerdo e na imagem ultrassonográfica apresentou microlitíase bilateral, que se repetiu em exame realizado um ano depois. Contudo, quatro anos após a primeira avaliação, quando o paciente tinha 12 anos, não foram encontradas microlitíases, e o crescimento testicular foi considerado normal.

Da mesma maneira, avaliando 31 pacientes, Chiang et al. (2012) relataram dois casos de diminuição das microlitíases e quatro casos de resolução completa da alteração, em pacientes com idades entre nove e 12 anos. Segundo esses autores, não havia característica clínica comum entre eles, mas esse quadro apoia a teoria de que a microlitíase é resultado da degeneração das células dos túbulos seminíferos e não de uma possível calcificação de causa inflamatória, visto que esta é de natureza crônica e não poderia ser resolvida espontaneamente.

A presença de MPH no parênquima testicular foi relatada também em cordeiros, por Andrade et al. (2012). Segundo esses autores, dois de 18 cordeiros avaliados aos 224 dias de idade possuíam calcificações de grau leve em seus testículos. Na avaliação realizada aos 252 dias, mais três animais apresentaram essa alteração. Os achados não foram associados a alterações clínicas, mas sim com o avanço da idade dos animais. Assim como Cardilli et al. (2009), esses autores não realizaram avaliação histológica e, portanto, não conseguiram afirmar, com certeza, a natureza de tais alterações.

Barth et al. (2008) relataram a presença de lesões fibrosas no testículo de touros adultos criados intensivamente, no oeste do Canadá, e extensivamente, na Argentina. Tais lesões eram visualizadas na imagem ultrassonográfica como focos hiperecoicos de tamanhos variados e, histologicamente, mostravam-se constituídas por massas de tecido fibroso nos túbulos seminíferos. Em alguns casos, as células germinativas e as células de Sertoli estavam totalmente ausentes e havia material de hialina no lúmen. Em outros, era possível encontrar túbulos completamente íntegros, imediatamente ao lado das massas fibrosas. Ademais, não foram identificadas células inflamatórias próximas às lesões.

Entre as possíveis causas para essas lesões, Barth et al. (2008) elencaram o

desenvolvimento embrionário inadequado, a presença de doença infecciosa que possa ter afetado a saúde e desenvolvimento dos túbulos, a termorregulação anormal dos testículos, trauma e mudanças no desenvolvimento testicular. A última refere-se ao possível rompimento do túbulo e extravasamento de espermatozoides, que provocaria reação do tecido peritubular, resultando em fibrose.

Contudo, tal hipótese foi descartada pela idade dos animais, visto que tal evento ocorreria, provavelmente, entre oito e 10 meses, e os animais estudados começaram a apresentar as lesões com idade entre cinco a seis meses. Por fim, eliminando suposições que não seriam possíveis devido às condições do experimento, Barth et al. (2008) consideraram que a hipótese mais provável é a da associação com um surto de doença respiratória que aconteceu na Argentina.

Pinho et al. (2013), avaliando a influência de lesões fibrosas observadas na imagem ultrassonográfica do parênquima testicular de touros Nelore, concluíram que estas não afetam a qualidade seminal. Nesse sentido, os autores corroboram com o encontrado por Eilts & Pechman (1988) e Barth et al. (2008) que, da mesma forma, observaram que a presença de fibroses não interferiu na qualidade do sêmen.

Diante dos relatos de observação de MPH no parênquima testicular de animais de produção e a incerteza sobre sua natureza e origem, é importante buscar compreender tais características, tendo em vista a grande importância do macho para a reprodução e a consequente rentabilidade do rebanho.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAZEK, A.K.; ALI, A. Developmental changes of Bull (*Bos taurus*) genitalia as evaluated by caliper and ultrasonography. **Reproduction in Domestic Animals**, v.40, p.23-27, 2005.
- ABCZ - Associação Brasileira dos Criadores de Zebu. **Pecuária Brasileira: Produção a Pasto**. 2012. Disponível em: <http://issuu.com/revista_abcz/docs/documento_abcz_pecuariabrasileira>. Acesso em: 28 out. 2015.
- AHMAD, N. Basic principles of diagnostic ultrasonography. **Pakistan Veterinary Journal**, v.17, n.3, p.156-160, 1997.
- ANDRADE, A.K.G.; SOARES, A.Q.; CARTAXO, F.Q. et al. Achados ultrassonográficos nos testículos e epidídimos de carneiros deslanados jovens e clinicamente sadios. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.2, p.371-379, 2012.
- ARAVINDAKSHAN, J.P.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI, P.M. et al. Pattern of gonadotropin secretion and ultrasonographic evaluation of developmental changes in the testis of early and late maturing bull calves. **Theriogenology**, v.54, p.339-354, 2000.
- ARTEAGA, A.A.; BARTH, A.D.; BRITO, L.F.C. Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. **Theriogenology**, v.64, p.408-415, 2005.
- ASBIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Índex ASBIA: Importação, Exportação e Comercialização de Sêmen**. 2012. Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2012.pdf>>. Acesso em: 28 out. 2015.
- AUGUSTO, A.Q.; PACHALY, J.R. Princípios físicos da ultrassonografia: Revisão Bibliográfica. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.3, n.1, p.61-65, 2000.
- BAILEY, T.L.; HUDSON, R.S.; POWE, T.A. et al. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo. **Theriogenology**, n.49, p.581-594, 1998.
- BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M. **A importância do exame andrológico em bovinos**. São Carlos: EMBRAPA – CPPSE, 2005. 13p. (Circular Técnica, 41).
- BARTH, A.D.; ALISIO, J.; AVILÉS, M. et al. Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. **Animal Reproduction Science**, v.106, p.274-288, 2008.
- BERGMANN, J.A.G. Seleção de zebuínos para precocidade sexual. In: I SIMPÓSIO NACIONAL DE GADO DE CORTE, 1, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1999. p.51-57.
- BICUDO, S.D.; SIQUEIRA, J.B.; MEIRA C. Patologias do sistema reprodutor de touros.

Arquivos do Instituto Biológico, v.69, n.2, p.43-48, 2007.

BRITO, L.F.C.; BARTH, A.D.; WILDE, R.E. et al. Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in beef bulls. **Theriogenology**, n.78, p.69-76, 2012.

CARAZO, L.R.B.; GUIMARÃES, J.D.; MACHADO, T.P. et al. Ultrassonografia testicular em caprinos jovens da raça Alpina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.388-394, 2014.

CARDILLI, D.J.; TONIOLLO, G.H.; PASTORE, A.A. et al. Alterações do padrão ultrassonográfico do parênquima testicular em bovinos jovens da raça nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, p.367-370, 2009.

CARDILLI, D.J.; TONIOLLO, G.H.; PASTORE, A.A. et al. Padrões ultrassonográficos do parênquima, mediastino e túnicas testiculares em bovinos jovens da raça Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v.11, n.4, p.899-905, 2010.

CARDILLI, D.J.; TONIOLLO, G.H.; PASTORE, A.A. et al. Ultrassonografia testicular em bovinos jovens da raça Nelore criados em sistema extensivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.1, p.75-82, 2012.

CARDILLI, D.J.; TONIOLLO, G.H.; PASTORE, A.A. et al. Precocidade sexual em bovinos Nelore avaliada por ultrassonografia testicular. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.4, p.1296-1298, 2014.

CARTEE, R. E.; GRAY, B. W.; POWE, T.A. et al. Preliminary implications of B-mode ultrasonography of the testicles of beef bulls with normal breeding soundness examinations. **Theriogenology**, v.31, p1149-1158, 1989.

CHANDOLIA, R.K.; HONARAMOOZ, A.; OMEKE, D.C. et al. Assessment of development of the testes and accessory glands by ultrasonography in bull calves and associated endocrine changes. **Theriogenology**, v.48, p.119-132, 1997.

CHIANG, L.W.; YAP, T.L.; ASIRI, M.M. et al. Implications of incidental finding of testicular microlithiasis in paediatric patients. **Journal of Pediatric Urology**, v.8, p.162-165, 2012.

COELHO, R.; BRITO, M.J.; CASELLA, P. et al. Microlitíase e tumor testicular. **Acta Médica Portuguesa**, v.18, p.485-487, 2005.

COLEY, B.D. Resolving testicular microlithiasis in a 12-year-old boy. **Journal of Ultrasound in Medicine**, v.24, p.1445-1448, 2005.

COOPER, M.L.; KAEFER, M.; FAN, R. et al. Testicular microlithiasis in children and associated testicular cancer. **Radiology**, v.270, n.3, p.857-863, 2014.

COSTA E SILVA, E.V.; COSTA FILHO, L.C.C.; SOUZA, C.C. et al. Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.39, n.1, p.22-31, jan./mar., 2015.

COULTER, G.H.; BAILEY, D.R.C. Effects of ultrasonography on the bovine testis and semen quality. **Theriogenology**, v.30, n.4, p.743-749, 1988.

DOMENICE, S.; COSTA, E.M.F.; CORREA, R.V. et al. Aspectos moleculares da determinação e diferenciação sexual. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.46, n.4, p.433-443, 2002.

DOMÍNGUEZ-HINAREJOS, C.; BONILLO-GARCÍA, M.A.; SANGÜESSA, C. et al. Calcificaciones intratesticulares en la edad pediátrica. **Actas Urológicas Españolas**, v.31, n.1, p.33-37, 2007.

DUTRA, R.A.; PEREZ-BÓSCOLLO, A.C.; MELO, E.C. et al. Clinical importance and prevalence of testicular microlithiasis in pediatric patients. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 26, n.5, p.387-390, 2011.

DYCE, K.M.; SACK, M.O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 813p.

EILTS, B.E.; PECHMAN, R.D. B-mode ultrasound observations of bull testes during breeding soundness examinations. **Theriogenology**, v.30, n.6, p.1169-1175, 1988.

EISLER, M.C.; LEE, M.R.F.; TARLTON, J.F. et al. Agriculture: Steps to sustainable livestock. **Nature**, v.507, n.7490, p.32-34, 2014.

EVANS, A.C.O.; PIERSON, R.A.; GARCIA, A. et al. Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. **Theriogenology**, v.46, p.345-357, 1996.

FRICKE, P.M.; LAMB, G.C. Practical applications of ultrasound for reproductive management of beef and dairy cattle. In: THE APPLIED REPRODUCTIVE STRATEGIES IN BEEF CATTLE WORKSHOP, 2002, Manhattan. **Proceedings...** Manhattan: Kansas State University, 2002. p.228-245.

GÁBOR, G.; SASSER, R.G.; KASTELIC, J.P. Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. **Theriogenology**, v.50, p.223-228, 1998.

GINTHER, O.J. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. **Theriogenology**, v.81, p.112-125, 2014.

GNEMMI, G.; LEFEBVRE, R.C. Ultrasound imaging of the bull reproductive tract: an important field of expertise for veterinarians. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v.25, 767-779, 2009.

GOULETSOU, P.G.; AMIRIDIS, G.S.; CRIPPS, P.J. et al. Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams. **Theriogenology**, v.59, p.1959-1972, 2003.

GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O.J. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. **Journal of Animal Science**, v. 70, p.953-972, 1992.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo: Manole, 2004. 513p.

HAHN, J.; STOUFFER, J.R.; FOOTE, R. H. Ultrasonographic and other testicular characteristics of Holstein bulls revisited. **Journal of Reproduction and Development**, v.45, p.405-410, 1999.

HAMM, B.; FOBBE, F. Maturation of the testis: ultrasound evaluation. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v.21, n.2, p.143-147, 1995.

HANSEN, P.J. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.349-360, 2004.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v. 42, p.1-39, 2014. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf>. Acesso em: 28 out. 2015.

JOST, A.; PRICE, D.; EDWARDS, R.G. Hormonal factors in the sex differentiation of the mammalian foetus. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, n.259, p. 119-130, 1970.

JUCÁ, A.F.; MOURA, J.C.A.; GUSMÃO, A.L. et al. Avaliação ultrassonográfica dos testículos e das glândulas sexuais anexas de carneiros Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.650-659, 2009.

KASTELIC, J.P. Understanding and evaluating bovine testes. **Theriogenology**, v.81, p.18-23, 2014.

KASTELIC, J.P.; BRITO, L.F.C. Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. **Reproduction in Domestic Animals**, v.47, p.45-51, 2012.

KIERSZENBAUM, A.L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 677p.

KOCAOGLU, M.; BOZLAR, U.; BULAKBASI, N. Testicular microlithiasis in pediatric age group: ultrasonography findings and literature review. **Diagnostic and Interventional Radiology**, v.11, p.60-65, 2005.

KUMARI, S.; LUTHRA, R.A.; CHANDOLIA, R.K. et al. Ultrasonographic study of testicular development in beetal bucks. **Journal of Animal Research**, v.5, n.2, p.237-242, 2015.

MATUREN, K.E. Attributable risk calculations for testicular microlithiasis. **Journal of Clinical Ultrasound**, v.43, p.120-121, 2015.

MELLO, M.P.; ASSUMPÇÃO, J.G.; HACKEL, C. Genes envolvidos na determinação e diferenciação do sexo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.49, n.1, p.14-25, 2005.

MOELLER, S.J. Evolution and use of ultrasonic technology in the swine industry. **Journal of Animal Science**, v.80, p.E19–E27, 2002.

MOORE, K.L.; PERSAUD, T.V.N. **Embriologia Clínica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 536p.

NOGUEIRA, E.; MINGOTI, G.Z.; NICACIO, A.C. Biotécnicas reprodutivas para aceleração do melhoramento genético. In: ROSA, A.N.; MARTINS, E.N.; MENEZES, G.R.O. et al. (Ed). **Melhoramento Genético Aplicado em Gado de Corte**: Programa Geneplus - Embrapa. Brasília, DF: Embrapa, 2013.

PECHMAN, R.D.; EILTS, B.E. B-mode ultrasonography of the bull testicle. **Theriogenology**, v.27, n.2, p.431-441, 1987.

PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, M.A.; LIMA, G.L. et al. Use of non-invasive methods for evaluating the testicular biometry in collared peccaries (Pecari tajacu Linnaeus, 1758). **Anatomia Histologia Embryologia**, v.45, n.1, p.60-66, 2016.

PINHO, R.O.; COSTA, D.S.; SIQUEIRA, J.B. et al. Lack of relationship between testicular echotexture and breeding soundness evaluation in adult Nelore bulls. **Livestock Science**, v.154, p.246-249, 2013.

PRICE, N.R.; CHARLTON, A.; SIMANGO, I. et al. Testicular microlithiasis: The importance of self-examination. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v.50, p.E102–E105, 2014.

RABELO, R.E.; SILVA, L.A.F.; VULCANI, V.A.S. et al. Enfermidades diagnosticadas na genitália externa de touros: estudo retrospectivo (2007 – 2013). **Ciência Animal Brasileira**, v.16, n.1, p. 133-143, 2015

RIBADU, A.Y.; NAKAO, T. Bovine reproductive ultrasonography: a review. **Journal of Reproduction and Development**, v.45, p.13-28, 1999.

RICHENBERG, J.; BELFIELD, J.; RAMCHANDANI, P. et al. Testicular microlithiasis imaging and follow-up: guidelines of the ESUR scrotal imaging subcommittee. **European Radiology**, v.25, p.323–330, 2015.

SADLER, T.W. **Langman: Embiologia Médica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

SILVA, E.G.; GONÇALVES, M.T.; PINTO, S.C.C. et al. Análise quantitativa da ecogenicidade testicular pela técnica do histograma de ovinos da baixada ocidental maranhense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, n.3, p.297-303, 2015.

SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

SOUZA, L.R.M.F.; SZEJNFELD, D.; ABUD, T.G. et al. Neoplasias testiculares: aspectos ultra-sonográficos com correlação anatomopatológica. **Revista da Imagem**, v.27, n.4, p.243-252, 2005.

TAPPING, C.R.; CAST, J.E. Scrotal ultrasound: a pictorial review. **Ultrasound**, v.16, n.4, p.226-233, 2008.

TASKINEN, S.; TAAVITSAINEN, M.; WIKSTROM, S. Measurement of testicular volume: comparison of 3 different methods. **The Journal of Urology**, v.155, p.930-933, 1996.

TRENKLE, A.; WILHAM, R.L. Beef production efficiency. **Science**, v.198, n.4321, p.1009-1015, 1977.

USDA – UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. Out. 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF>. Acesso em: 28 out. 2015.

VITAL, R.J.; MATTOS, L.A.; SOUZA, L.R.M.F. et al. Aspectos ultra-sonográficos das alterações não-neoplásicas do testículo. **Radiologia Brasileira**, v.40, n.1, p.61-67, 2007.

WILLIAMS, S.; PIÑEYRO, P.; DE-LA-SOTA, R.L. Ultrasonografía reproductiva en producción porcina. **Analecta Veterinaria**, v.21, n.1, p.50-56, 2001.

ZALESKY, D.D. Using ultrasound technology in reproduction management. In: THE RANGE BEEF COW SYMPOSIUM, XIII, 1993, Cheyenne. **Proceedings...** University of Nebraska, 1993.

1 **Análises Ultrassonográficas Associadas à Histologia Testicular de Touros Jovens Nelore**

2

3 **CC Souza¹, VLD Queiroz², GG Macedo², CES Fernandes¹, AAAD Fortunato³, BX**
4 **Ferreira³, CESN Zúccari¹, EV Costa-e-Silva¹**

5 *¹Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS Brasil; ²Universidade*
6 *Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil; ³Grupo de Estudos e Pesquisa em*
7 *Reprodução Animal, Campo Grande, MS, Brasil.*

8

9 **Resumo:** O objetivo deste estudo foi caracterizar os múltiplos pontos hiperecoicos (MPH)
10 observados na imagem ultrassonográfica do parênquima testicular de touros Nelore. Foram
11 utilizados 11 bovinos da raça Nelore, com idade entre 15 e 17 meses. Os animais foram
12 submetidos à avaliação ultrassonográfica, para identificação dos indivíduos que apresentavam
13 parênquima testicular heterogêneo, com MPH. Após avaliação, os animais foram
14 orquiectomizados e fragmentos do parênquima testicular foram coletados para a realização de
15 análises histológicas. Determinou-se a porcentagem de túbulos seminíferos que apresentavam
16 aspecto de hipoespermatogênese e que estavam no estágio final da espermatogênese. Avaliou-
17 se a presença ou ausência de hipoespermatogênese, degeneração testicular e organização
18 tubular e estimou-se a presença de fibrose, tecido de sustentação e perivascular. A avaliação
19 histopatológica não apresentou alterações estruturais, nem a presença de calcificações ou
20 fibroses, que possam justificar a aparência de MPH na imagem ultrassonográfica. Animais
21 com MPH possuíam maior taxa de hipoespermatogênese, quando comparados àqueles que
22 tinham o parênquima homogêneo que, por sua vez, possuíam maior taxa de espermatogênese
23 em estágio final. Essas alterações devem ser acompanhadas ao longo do tempo e associadas
24 em futuras pesquisas com avaliações de fertilidade, a fim de garantir maior confiabilidade no
25 diagnóstico e no prognóstico, oferecendo maior segurança ao uso do recurso ultrassonográfico

26 na clínica andrológica. Ademais, sugere-se a realização de estudos histopatológicos a partir da
27 coleta de fragmentos testiculares guiada por ultrassom, visando à obtenção de tecido dos
28 locais exatos onde foram visualizados pontos hiperecoicos na imagem.

29

30 **Palavras-chave:** Exame andrológico; Patologia testicular; Pontos hiperecoicos; Zebu

31

32 **Introdução**

33 O impacto individual de machos sobre a produtividade e a fertilidade de rebanhos
34 requer que especial atenção seja dispensada à seleção do potencial biológico reprodutivo
35 desses animais. Nesse sentido, a avaliação do desempenho é fundamentada nos exames
36 andrológicos, compostos, em suma, pela avaliação clínica do animal quanto aos aspectos de
37 locomoção e saúde bucal, bem como pelo exame específico do aparelho reprodutor e análise
38 da qualidade seminal (Costa-e-Silva et al. 2015).

39 A ultrassonografia de modo B tem sido utilizada como meio não invasivo de avaliação
40 e interpretação complementar a esse exame (Kastelic e Brito 2012), por permitir que sejam
41 especificadas a natureza de alterações teciduais que não seriam facilmente detectáveis pelas
42 técnicas convencionais (Gnemmi e Lefebvre 2009). A ferramenta, baseada na emissão de
43 ondas sonoras de alta frequência, revolucionou o estudo da reprodução dos animais de grande
44 porte, sendo a ela atribuída grande parte dos avanços dessa área nos últimos 30 anos (Ginther
45 2014).

46 A maior parte dos estudos, contudo, está relacionada à fisiologia reprodutiva de
47 fêmeas, devido à complexidade da reprodução e da disposição anatômica interna do sistema
48 reprodutivo feminino (Hahn et al. 1999). Nesses animais, a ultrassonografia é frequentemente
49 utilizada para a realização de diagnóstico de gestação, determinação do sexo fetal,
50 determinação de anomalias nos órgãos reprodutivos e para o monitoramento do

51 desenvolvimento folicular, entre outras importantes utilidades (Ribadu e Nakao 1999).

52 Em machos, uma das possíveis aplicações da técnica é o estudo do desenvolvimento
53 sexual, por meio da análise computadorizada da imagem do parênquima testicular. Diversos
54 trabalhos têm relatado o aumento da ecogenicidade testicular durante o desenvolvimento
55 sexual masculino, tanto bovino (Chandolia et al. 1997; Aravindakshan et al. 2000; Abdel-
56 Razek e Ali 2005; Brito et al. 2012), quanto ovino (Andrade et al. 2012; Silva et al. 2015) e
57 caprino (Kumari et al. 2015).

58 Além disso, há uma outra vertente do uso da ultrassonografia, direcionada para a
59 aferição de medidas testiculares de forma direta. Estudos demonstraram que a técnica pode
60 ser empregada na obtenção de medidas do diâmetro testicular, bem como do comprimento e
61 largura desse órgão. Entretanto, apesar de ser uma ferramenta confiável, as técnicas
62 convencionais podem ser mais simples e menos onerosas para a determinação de tais medidas
63 (Cartee et al. 1989; Bailey et al. 1998).

64 A principal funcionalidade, portanto, é a já mencionada complementação ao exame
65 andrológico, auxiliando no diagnóstico de alterações testiculares e possibilitando decisões
66 rápidas e tratamentos apropriados. Nesse sentido, diversas são as patologias que podem ter
67 seus diagnósticos auxiliados com a contribuição da técnica, tais como orquites, cistos,
68 degenerações, hematomas, abscessos, hidrocele, hematocele, hipoplasia e neoplasias
69 testiculares (Gnemmi e Lefebvre 2009).

70 Entre as alterações detectáveis na ultrassonografia, tem sido relatada com certa
71 frequência a presença de múltiplos pontos hiperecoicos (MPH) no parênquima testicular de
72 animais de produção, geralmente não associada a alterações de tamanho, forma, mobilidade,
73 consistência e sensibilidade testiculares, tampouco à alteração da qualidade seminal. Alguns
74 trabalhos têm atribuído os achados a fibroses (Barth et al. 2008; Pinho et al. 2013) e
75 microcalcificações (Cardilli et al. 2009; Andrade et al. 2012), mas ainda são necessárias

76 elucidações sobre a natureza dessas alterações, visto que, em parte deles, não foi realizada
77 análise histológica.

78 O objetivo deste estudo foi, portanto, associar a presença de MPH na imagem
79 ultrassonográfica do parênquima testicular de touros Nelore com a análise histológica.

80

81 **Material e métodos**

82 Foram utilizados 11 bovinos da raça Nelore, com idade entre 15 e 17 meses, oriundos
83 de um rebanho criado extensivamente em propriedade rural no estado de Mato Grosso do Sul,
84 Brasil. Os animais pertenciam a um mesmo grupo de manejo e eram mantidos em pasto de
85 *Brachiaria brizantha* cv *marandu*, recebendo suplementação mineral e água *ad libitum*.

86 Os touros foram submetidos ao exame clínico da genitália externa, por meio de
87 palpação e inspeção, bem como à aferição do perímetro escrotal (PE), por meio de fita própria
88 para mensuração, posicionada na porção de maior diâmetro do escroto.

89 Logo após, realizou-se a avaliação ultrassonográfica, com a finalidade de visualizar a
90 imagem do parênquima testicular, utilizando-se uma unidade portátil de ultrassom, equipado
91 com um transdutor linear de 7.5 MHz de frequência (Chisson 500vet). As configurações de
92 foco, brilho e contraste foram padronizadas. Posicionou-se o transdutor em cada testículo nos
93 planos transverso-caudal e longitudinal-lateral, de modo que o mediastino fosse facilmente
94 perceptível em cada imagem. Durante a avaliação, identificou-se os indivíduos que
95 apresentavam parênquima testicular heterogêneo, com MPH (Fig. 1).

96 As imagens foram armazenadas e analisadas posteriormente, utilizando-se o programa
97 Image J (Rasband 1997-2015), a fim de determinar a ecodensidade testicular. A ecotextura
98 testicular média de cada testículo foi obtida, nos dois planos, a partir da imagem do
99 parênquima testicular em cinco quadrados de 1 cm², definidos aleatoriamente (Aravindakshan
100 et al. 2000). A ecodensidade testicular por animal foi calculada pela média dos dois testículos,

101 representada pela Intensidade Ecográfica Testicular média (ECO).

102 Após a avaliação ultrassonográfica, os animais foram orquiectomizados e fragmentos
103 do parênquima testicular de 1cm³ foram coletados de forma aleatória, para a realização de
104 análises histológicas. Os fragmentos foram fixados em solução de Bouin por 24 horas e
105 lavados em álcool 70%. Em seguida, foram histologicamente processados, embebidos em
106 parafina e seccionados a 5 µm. As lâminas foram, então, coradas com Tricoma de Masson
107 (Carson e Hladik 2009) e a secção histológica avaliada em microscopia de campo claro. Dez
108 campos por lâmina foram analisados em aumento de 400x, considerando-se a estrutura
109 testicular.

110 A contagem total de túbulos seminíferos foi utilizada para calcular a porcentagem de
111 túbulos presentes apresentando aspecto hipoespermatogênico (somente estágio inicial da
112 espermatogênese, antes da fase meiótica) ou no estágio final da espermatogênese (segmentos
113 com espermátides arredondadas e alongadas ou espermatozoide no lúmen).

114 A hipoespermatogênese, a degeneração testicular e a organização dos túbulos foram
115 características avaliadas como presentes ou ausentes. O interstício foi classificado em
116 compactado, parcialmente separado ou separado, de acordo com o observado nas imagens. Na
117 matriz extracelular, estimou-se a presença de fibrose, tecido de sustentação e perivascular.

118 Foi realizada análise de variância pelo procedimento ANOVA para duas vias,
119 considerando no modelo ecogenicidade e testículo, a fim de comparar a porcentagem de
120 túbulos com hipospermatogênese e de espermatogênese em estágio final em touros com
121 ecogenicidade normal e em touros com parênquima apresentando MPH.

122

123 **Resultados**

124 Observou-se, em cinco dos 11 animais avaliados, a presença de MPH e em seis,
125 portanto, tal alteração não foi visualizada. O PE médio dos animais avaliados foi 21,18 cm,

126 com desvio padrão de 2,19 cm, sendo que os que apresentavam MPH obtiveram média de
127 $21,40 \pm 2,90$ cm, enquanto os que apresentavam parênquima homogêneo obtiveram média de
128 $21,00 \pm 1,67$ cm. A média de ECO dos animais foi de $147,95 \pm 18,96$, sendo a daqueles com
129 MPH igual a $140,38 \pm 20,48$, e a dos animais sem MPH, de $154,25 \pm 16,67$.

130 Na avaliação histológica, todos os animais avaliados apresentaram
131 hipoespermatogênese e em apenas um touro observou-se degeneração testicular. O interstício
132 mostrou-se parcialmente separado em 10 casos, sendo que o mesmo touro que apresentou
133 degeneração teve o interstício classificado como compactado. A organização tubular esteve
134 presente em todos os casos. O quadro histológico foi compatível com a idade e com a
135 condição fisiológica dos animais (Fig. 2).

136 Não foram encontradas áreas de fibrose nas amostras de touros que apresentaram
137 imagens com MPH. As áreas positivas para o Tricromo de Masson foram localizadas no
138 tecido intersticial, constituindo o estroma testicular. A matriz apresentou-se com áreas
139 azuladas na coloração de Tricromo de Masson, caracterizando a presença de colágeno
140 perivascular, sem deposição de tecido conjuntivo fibroso, uma vez que não foi detectada a
141 presença de lesões intersticiais ou tubulares. Estas áreas envolveram os capilares sanguíneos e
142 linfáticos.

143 Touros que possuíam o testículo com aparência heterogênea, devido à presença de
144 MPH, apresentaram alta porcentagem de hipoespermatogênese, sugerindo espermatogênese
145 incompleta. Por outro lado, touros com ecogenicidade testicular normal apresentaram maiores
146 porcentagens de túbulos em estágio final de espermatogênese, indicando maior maturidade
147 sexual (Tabela 1).

148

149 **Discussão**

150 O perímetro escrotal encontrado para a faixa etária estudada foi abaixo do relatado

151 pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (2013), como média da raça aos $15,0 \pm 0,1$
152 meses, igual a $26,7 \pm 3,2$ cm. A menor ECO observada nos animais que possuíam MPH na
153 visualização da imagem ultrassonográfica pode ser atribuída à maior porcentagem de
154 hipoespermatogênese desses animais, visto que estes apresentavam menor maturidade sexual
155 e sabe-se que a ecogenicidade testicular aumenta com a idade do animal, até a puberdade
156 (Aravindakshan et al. 2000).

157 A importância clínica da avaliação da ecogenicidade dos testículos consiste, ademais,
158 na possibilidade de visualização de alterações do parênquima, que não seriam detectadas por
159 meio do exame físico externo. Nesse sentido, a imagem ultrassonográfica com aspecto
160 heterogêneo decorrente da presença de MPH tem sido descrita em diversos trabalhos em
161 animais de produção e não interfere, geralmente, na qualidade seminal (Eilts e Pechman 1988;
162 Barth et al. 2008; Andrade et al. 2012; Pinho et al. 2013). No presente estudo, não foi possível
163 determinar a relação com a qualidade seminal, visto que não foram feitas coletas de sêmen,
164 uma vez que eram animais muito jovens.

165 Em bovinos, pesquisadores têm atribuído esse achado às microlitíases, mais
166 frequentemente estudada em humanos (Cardilli et al. 2009). A alteração é uma condição
167 patológica rara e caracteriza-se pela presença de microcalcificações de 1 a 2 mm de diâmetro,
168 no interior dos túbulos seminíferos (Ganem et al. 1999; Coelho et al. 2005). Entre outras
169 teorias, acredita-se que tais calcificações sejam decorrentes da degeneração celular dentro dos
170 túbulos seminíferos (Villalobos-Gollás et al. 2008).

171 A etiologia ainda não foi totalmente definida, mas alguns estudos relatam a
172 microlitíase associada a outras doenças, tais como criptorquidismo, varicocele, torção
173 testicular, síndromes de Klinefelter, Down e Carney, pseudohermafroditismo, infertilidade,
174 enfermidades inflamatórias e, principalmente, neoplasias testiculares (Coelho et al. 2005;
175 Villalobos-Gollás et al. 2008). Nesse estudo não foram observadas quaisquer outras patologias

176 nos animais que apresentavam MPH, que pudessem ser associadas à presença da alteração.

177 Ademais, não foi detectada, na avaliação histológica do parênquima dos touros jovens
178 Nelore, a presença de calcificações que pudessem caracterizar a microlitíase, conforme o
179 descrito em humanos. Dessa forma, a hipótese sugerida pelos estudos que associam a
180 presença de MPH a essa alteração não se consolidou, pelo presente estudo. Deve-se
181 considerar, contudo, que os trabalhos que fizeram tal atribuição (Cardilli et al. 2009; Andrade
182 et al. 2012) não realizaram análise histológica.

183 Outro estudo, realizado com bovinos de origem europeia, relatou, em avaliação
184 histológica, a presença de fibroses em animais que apresentavam MPH na imagem
185 ultrassonográfica do parênquima testicular (Barth et al. 2008). Todavia, no presente estudo,
186 não se pode afirmar que trata-se da mesma situação, uma vez que lesões intersticiais ou
187 parenquimatosas não foram comprovadas histologicamente. Nesse sentido, Kumar et al.
188 (2005) afirmam que fibrose ocorre em resposta a uma lesão ou estímulo persistente, que dá
189 origem a um tecido cicatricial, portanto, irreversível.

190 Contrariamente ao esperado, alguns casos de resolução espontânea das microlitíases,
191 ao longo do tempo, foram relatados em humanos, reforçando a teoria de que a microlitíase
192 decorre degeneração de túbulos seminíferos (Coley 2005; Chiang et al. 2012).

193 É importante frisar que os estudos em animais, nos quais sugeriu-se a microlitíase
194 como causa dos MPH, foram realizados com base em coletas de dados em curto espaço de
195 tempo, o que pode não ter possibilitado a visualização de uma possível progressão ou
196 regressão da alteração. No presente estudo, realizou-se apenas uma avaliação e, portanto, não
197 é possível descartar a hipótese de resolução futura dos MPH e, até mesmo, a hipótese de
198 tratar-se de uma alteração decorrente do desenvolvimento sexual, visto que, nos casos
199 apresentados em humanos, as alterações regrediram antes destes tornarem-se adultos.

200 Essas alterações devem ser acompanhadas ao longo do tempo e associadas em futuras

201 pesquisas com avaliações de fertilidade, a fim de garantir maior confiabilidade no diagnóstico
202 e no prognóstico, oferecendo maior segurança ao uso do recurso ultrassonográfico na clínica
203 andrológica. Ademais, sugere-se a realização de estudos histopatológicos a partir da coleta de
204 fragmentos testiculares guiada por ultrassom, visando à obtenção de tecido dos locais exatos
205 onde foram visualizados MPH na imagem.

206

207 **Conclusão**

208 A avaliação histopatológica de tecidos caracterizados pela presença de MPH na
209 imagem ultrassonográfica não apresentou alterações estruturais, nem a presença de
210 calcificações ou fibroses, que possam justificar tal aparência. Animais com MPH na imagem
211 possuíam maior taxa de hipoespermatogênese, quando comparados àqueles que tinham o
212 parênquima homogêneo que, por sua vez, possuíam maior taxa de espermatogênese em
213 estágio final.

214

215 **Agradecimentos**

216 Os autores agradecem aos proprietários da fazenda, por abrirem para a equipe a
217 oportunidade do desenvolvimento desse trabalho. Agradecem também a USProducts, pela
218 cessão do equipamento de ultrassom.

219

220 **Conflito de interesses**

221 Nenhum dos autores tem conflito de interesses a declarar.

222

223 **Referências**

224 Abdel-Razek AK, Ali A, 2005: Developmental changes of Bull (*Bos taurus*) genitalia as
225 evaluated by caliper and ultrasonography. *Reprod Dom Anim* **40**, 23–27.

- 226 Andrade AKG, Soares AT, Cartaxo FQ, Penã-Alfaro CE, Guerra MMP, 2012: Achados
227 ultrassonográficos nos testículos e epidídimos de carneiros deslanados jovens e
228 clinicamente sadios. *Arq Bras Med Vet Zootec* **64** (2), 371-379.
- 229 Aravindakshan JP, Honaramooz A, Bartlewski PM, Beard AP, Pierson, RA, Rawlings NC,
230 2000: Pattern of gonadotropin secretion and ultrasonographic evaluation of developmental
231 changes in the testis of early and late maturing bull calves. *Theriogenology* **54**, 339-354.
- 232 Bailey TL, Hudson RS, Powe TA, Riddell MG, Wolfe DF, Carson RL, 1998: Caliper and
233 ultrasonographic measurements of bovine testicles and a mathematical formula for
234 determinig testicular volume and weight in vivo. *Theriogenolohy* **49**, 581-594.
- 235 Barth AD, Alisio L, Avilés M, Arteaga AA, Campbell JR, Hendrick SH, 2008: Fibrotic
236 lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. *Anim Reprod Sci* **106**, 274-
237 288.
- 238 Brito LFC, Barth AD, Wilde RE, Kastelic JP, 2012: Testicular ultrasonogram pixel intensity
239 during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and
240 quantitative testicular histology in beef bulls. *Theriogenology* **78**, 69–76.
- 241 Cardilli DJ, Toniollo GH, Pastore AA, Canola JC, Mercadante MEZ, 2009: Alterações do
242 padrão ultrassonográfico do parênquima testicular em bovinos jovens da raça nelore. *Acta*
243 *Sci Vet* **37** (4), 367-370.
- 244 Carson FL, Hladik C, 2009: *Histotechnology: a self-instructional text*. 3.ed. (ASCP Press,
245 Hong Kong).
- 246 Cartee RE, Gray BW, Powe TA, Hudson RS, Whitesides J, 1989: Preliminary implications of
247 B-mode ultrasonography of the testicles of beef bulls with normal breeding soundness
248 examinations. *Theriogenology* **31** (6), 1149-1157.
- 249 Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2013: *Manual para exame andrológico e avaliação*
250 *de sêmen animal*. 3.ed. (CBRA, Belo Horizonte).

- 251 Chandolia RK, Honaramooz A, Omeke DC, Pierson R, Beard AP, Rawlings NC, 1997:
252 Assessment of development of the testes and accessory glands by ultrasonography in bull
253 calves and associated endocrine changes. *Theriogenology* **48**, 119-132.
- 254 Chiang LW, Yap TL, Asiri MM, Ong CCP, Low Y, Jacobsen AS, 2012: Implications of
255 incidental finding of testicular microlithiasis in paediatric patients. *J Pediatr Urol* **8** (2),
256 162-165.
- 257 Coelho R, Brito MJ, Casella P, Bragança G, Machado MC, 2005: Microlitíase e tumor
258 testicular. *Acta Med Port* **18**, 485-487.
- 259 Coley BD, 2005: Resolving testicular microlithiasis in a 12-year-old boy. *J Ultrasound Med*
260 **24**, 1445–1448.
- 261 Costa-e-Silva EV, Costa-Filho LCC, Souza CC, Oliveira, CC, Queiroz VLD, Zúccari CESN,
262 2015: Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. *Rev Bras Reprod*
263 *Anim* **39** (1), 22-31.
- 264 Eilts BE, Pechman RD, 1988: B-mode ultrasound observations of bull testes during breeding
265 soundness examinations. *Theriogenology* **30** (6), 1169-1175.
- 266 Ganem JP, Workman KR, Shaban S, 1999: Testicular microlithiasis is associated with
267 testicular pathology. *Urology* **53**, 209-213.
- 268 Gnemmi G, Lefebvre RC, 2009: Ultrasound imaging of the bull reproductive tract: an
269 important field of expertise for veterinarians. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* **25**,
270 767–779.
- 271 Guinter OJ, 2014: How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in
272 reproduction in large animals. *Theriogenology* **81**, 112–125.
- 273 Hahn J, Stouffer JR, Foote RH, 1999: Ultrasonographic and other testicular characteristics of
274 holstein bulls revisited. *J Reprod Dev* **45** (6), 405–410.
- 275 Kastelic JP, Brito LFC, 2012: Ultrasonography for monitoring reproductive function in the

- 276 bull. *Reprod Dom Anim* **47** (Suppl. 3), 45–51.
- 277 Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN, 2005: *Bases patológicas das doenças*. (Elsevier,
278 Rio de Janeiro).
- 279 Kumari S, Luthra RA, Chandolia RK, Pandey AK, Swami DS, Kumar K, 2015:
280 Ultrasonographic study of testicular development in beetal bucks. *J Anim Res* **5** (2), 237-
281 242.
- 282 Pinho RO, Costa DS, Siqueira JB, Martins LF, Teixeira LA, Guimarães SEF, Guimarães JD,
283 2013: Lack of relationship between testicular echotexture and breeding soundness
284 evaluation in adult Nelore bulls. *Livest Sci* **154**, 246–249.
- 285 Rasband WS, ImageJ US, 1997-2015: National Institutes of Health, Bethesda,
286 Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- 287 Ribadu AY, Nakao T, 1999: Bovine reproductive ultrasonography: a review. *J Reprod Dev* **45**
288 (1), 13–28.
- 289 Silva EG, Gonçalves MTC, Pinto SCC, Soares DM, Oliveira RA, Alves FR, Araújo AVC,
290 Guerra PC, 2015: Análise quantitativa da ecogenicidade testicular pela técnica do
291 histograma de ovinos da baixada ocidental maranhense. *Pesq Vet Bras* **35** (3), 297-303.
- 292 Villalobos-Gollás M, Negrete-Pulido O, Mendez-Probst C, Fuentes-Corona R, Sotomayor-de-
293 Zavaleta M, Feria-Bernal G, 2008: Importancia de microlitiasis en ultrasonido de
294 neoplasias de células germinales de testículo. *Actas Urol Esp* **32** (2), 190-193.
- 295
- 296 **Endereço do autor (para correspondência):** CC SOUZA, Faculdade de Medicina
297 Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS,
298 Brasil. Email: cynthiacantagessi@hotmail.com.

299 **Tabelas**

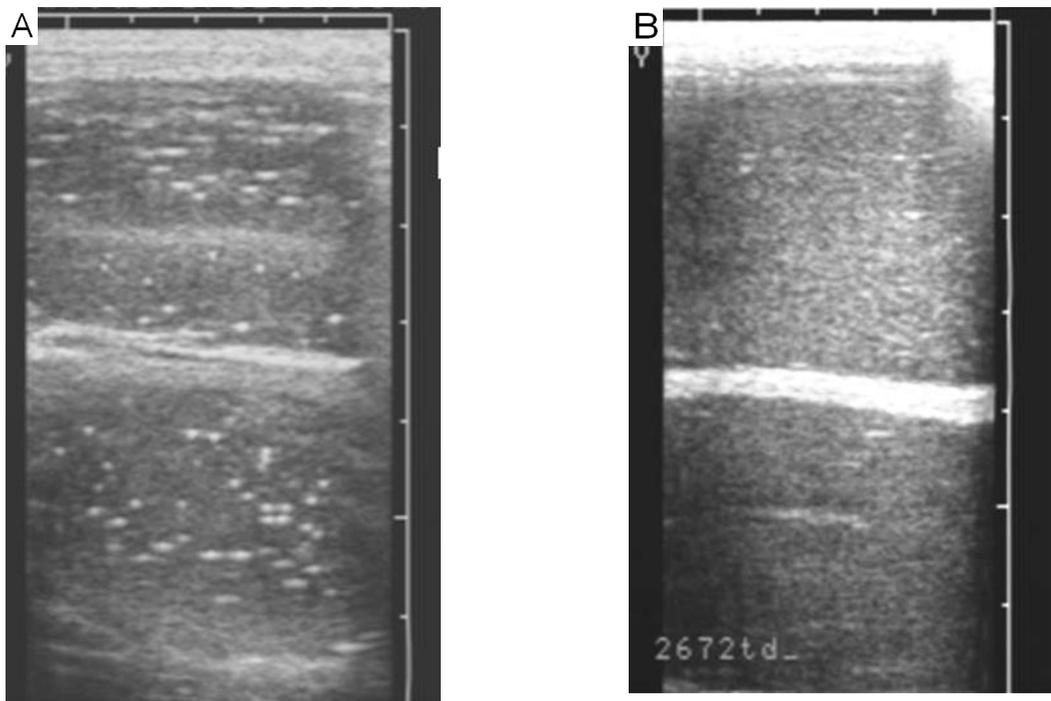
300

301 Tabela 1. Média (\pm SEM) de túbulos seminíferos com hipoespermatogênese e classificados
 302 como estágio final de espermatogênese, em touros com ecogenicidade normal e com aspecto
 303 de múltiplos pontos hiperecoicos, na avaliação ultrassonográfica.

Avaliação da imagem ultrassonográfica	Testículo	Hipoespermatogênese (%)	Estágio final da espermatogênese (%)
Múltiplos Pontos	Direito	72,7 \pm 3,3 ^a	2,0 \pm 0,70 ^a
Hiperecoicos (n=5)	Esquerdo	31,5 \pm 3,7 ^b	2,6 \pm 0,62 ^a
Parênquima	Direito	5,1 \pm 6,4 ^c	15,3 \pm 1,21 ^b
homogêneo (n=6)	Esquerdo	13,2 \pm 3,71 ^d	5,2 \pm 0,70 ^c

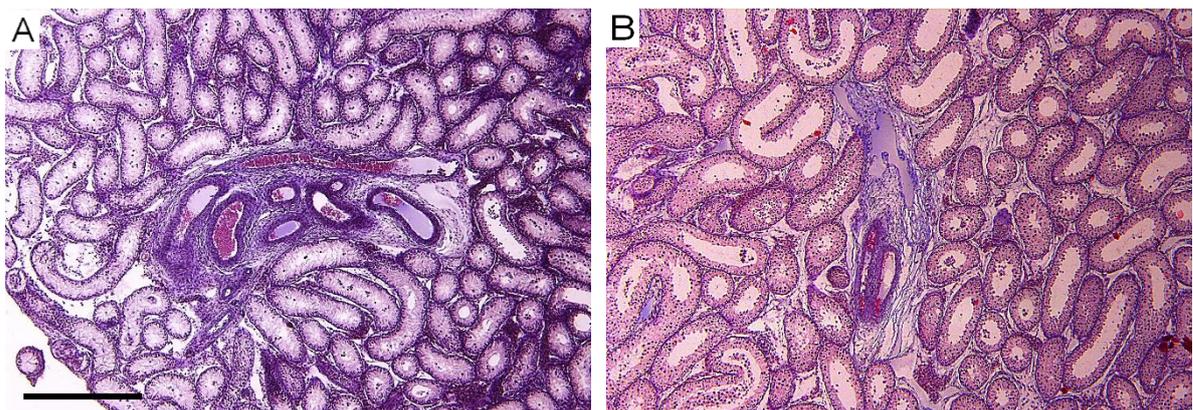
304 Letras diferentes representam diferença significativa ($P < 0,05$).

305 SEM, erro padrão da média.

306 **Figuras**

307

308 Fig. 1 Imagem ultrassonográfica transversal do testículo direito de macho Nelore com a
 309 presença de múltiplos pontos hiperecoicos (A) e sem a presença dos pontos hiperecoicos. (B).



310

311 Fig. 2. Cortes histológicos testiculares caracterizando uma área de tecido de sustentação
 312 perivascular rica em fibras colágenas. A, túbulos seminíferos com hipoespermatogênese;
 313 discreto edema intersticial. B, túbulos com células germinativas parcialmente preenchidos.
 314 Tricromo de Masson. Barra = 500 μ m.