

Métodos de diagnóstico da hipoplasia testicular

Methods for diagnosing testicular hypoplasia

José Domingos Guimarães

Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa – UFV
Viçosa-Minas Gerais, Brasil
E-mail: jdguima@ufv.br

Resumo

Apesar da grande difusão das biotecnologias aplicadas a reprodução animal, em sua maioria, os nascimentos são oriundos de acasalamentos naturais. A avaliação, identificação e diagnóstico das alterações reprodutivas são fundamentais para otimizar o potencial reprodutivo dos machos, de modo a alcançar maior produção e melhoramento genético dos rebanhos. Entre as patologias mais importante está a hipoplasia testicular, pelo fato da maioria dos casos, ser de caráter hereditário e de grande potencial de difusão, seja pelos acasalamentos naturais ou como doadores de sêmen ou embriões em centrais comerciais de processamento. Todos os portadores desta patologia, sejam subfêrteis ou infêrteis, temporários ou definitivos, devem ser descartados como reprodutores. O avanço, a redução dos custos e a eminente difusão das avaliações genômicas se mostra a principal ferramenta na identificação e eliminação desses genes indesejáveis por meio de descarte dos animais ou linhagens portadoras como reprodutores.

Palavras-Chave: Subfertilidade, infertilidade, alteração de desenvolvimento, espermatogênese.

Abstract

Despite the widespread use of biotechnologies applied to animal reproduction, the majority of births result from natural mating. The evaluation, identification, and diagnosis of reproductive alterations are fundamental to optimizing the reproductive potential of males, in order to achieve greater production and genetic improvement of herds. Among the most important pathologies is testicular hypoplasia, due to the fact that most cases are hereditary and have a high potential for spread, either through natural mating or as semen or embryo donors in commercial processing centers. All carriers of this pathology, whether subfertile or infertile, temporary or permanent, should be discarded as breeders. The advancement, cost reduction, and imminent diffusion of genomic evaluations are proving to be the main tool in identifying and eliminating these undesirable genes through the culling of animals or carrier lines as breeders.

Keywords: Subfertility, infertility, developmental disorders, spermatogenesis.

Introdução

Atualmente as biotecnologias aplicadas a reprodução animal, tais como a inseminação artificial convencional ou IATF, transferência de embriões oriundos de produção *in vivo* ou produção *in vitro* de embriões, inseminação intraoocitária *in vitro* (ICSI) e os grandes avanços na hormonoterapia, apresentam grande difusão em sua aplicação nas diversas espécies de animais de produção, Pets e animais silvestres, este último principalmente nas ações de conservação de germoplasma e no crescimento das populações de animais com riscos de extinção. Contudo, em sua maioria dos nascimentos advém de acasalamentos naturais. Tal fato implica diretamente na saúde reprodutiva dos machos, visto que, normalmente um reprodutor é responsável por acasalar com grande número de fêmeas (proporção reprodutor / matrizes), tendo grande peso na produção e no melhoramento animal. Segundo Hafez (2004) e Jacob *et al.* (2008) o reprodutor é responsável por mais de 80 % do melhoramento genético dos rebanhos, pela sua capacidade de difusão de genes desejáveis relacionados as características adaptativas, produtivas ou mesmo de caracterização raciais, embora represente apenas 5% do rebanho (proporção de 1:20, macho vs fêmea).

Os problemas reprodutivos nos machos são classificados em impotência *coeundi* e *generandi*, a primeira, de fácil identificação e diagnóstico, está relacionada a incapacidade do macho realizar o acasalamento completo, entre eles os mais descritos na literatura são: aderência parcial ou total do pênis, fratura peniana, desvios lateral ou ventral na exposição do pênis, persistência do frênulo, formação parcial

do óstio prepucial impossibilitando a exposição do pênis, impossibilidade de ereção completa, processos infecciosos e inflamatórios no prepúcio, pênis e glândulas sexuais acessórias, ocasionado alta sensibilidade na tentativa de monta, além dos problemas locomotores, desde variadas lesões de cascos, laminites ou mesmo fraturas. A segunda, impotência *generandi*, relacionada a falhas na produção de espermatozoides, incapacidade de os mesmos realizarem a fecundação ou induzirem a mortalidade embrionária, se mostra mais complexas pelo fato de as etiologias serem extensas, muitas vezes de difícil diagnóstico na avaliação andrológica convencional, necessitando de avaliações complementares laboriais mais tecnológicas, tanto quanto aos testes como também a recursos de equipamentos mais sofisticados. Essas alterações ocasionam subfertilidade, infertilidade temporárias ou definitivas ou esterilidade.

As patologias mais frequentes identificadas na literatura são: degeneração testicular, imaturidade sexual, maturidade sexual retardada, hipoplasia testicular unilateral e bilateral, espermiogênese imperfeita, espermocitose, disfunção epididimária, fibrose testicular, orquite, epididimite, hidrocele unilateral e bilateral, traumas testiculares com a quebra da barreira hematotesticular, tumores das células de Leydig, Sertoli e seminoma em estágios avançados, deficiência hormonal, além de alterações congênitas na formação dos órgãos tubulares, tais como aplasias segmentares do epidídimo e do ducto eferente unilateral ou bilateral (Vale Filho, 1980; Gomes Vale et al., 2023). Entre todas elas, se destaca a hipoplasia testicular, não somente pelo fato de causar subfertilidade ou infertilidade, mas principalmente por ser de caráter hereditário, com capacidade de difusão não somente para os descendentes machos como também para as fêmeas (Lagerlof, 1934; Lagerlof e Settergren, 1953, 1961; Vale Filho et al., 1981; Settergren, 1982. McEntee, 1990), sendo sua identificação e o descarte fundamental para evitar sua difusão nas populações de animais, principalmente pelo avanço das biotecnologias que poderiam acelerar esse processo de difusão.

Caracterização Clínica e etiologias

A hipoplasia testicular se caracteriza por apresentar a redução no tamanho dos testículos, podendo ser unilateral ou bilateral, a mais frequentemente relatada e a unilateral esquerda (Lagerlof, 1934; Lagerlof e Settergren, 1961; Vale Filho et al., 1981; Settergren, 1982. McEntee, 1990). Esta patologia já foi descrita em diferentes espécies, bovinos (Lagerlof, 1934; Vale Filho, 1980; McEntee, 1990), pequenos ruminantes (Mathew e Raja, 1978), equinos (Parkinson, 1996), suínos (Holst, 1949), caninos (Chiquiloff e Nascimento, 1976) e bubalinos (Vale e Ohashi, 1994, Vale et al., 2009).

Esta patologia foi inicialmente atribuída a genes recessivos de localização autossômica, de penetrância incompleta e de expressividade variada (Lagerlof, 1934; Lagerlof e Settergren, 1953), de modo que estudos recentes, baseados em avaliação de associação genômica -GWAS (Venhoranta et al, 2013; Neves et al., 2019 e Silva et al., 2022) tem corroborado as citações anteriores, com a hereditariedade desta patologia. Venhoranta et al. (2013) estudando esta patologia em animais das raças Northen Finncattle e Swedish Mountain, verificaram a localização de genes específicos associados à migração não pareada de células germinativas primordiais, durante o desenvolvimento embrionário, causando hipoplasia gonadal hereditária em ambos os sexos. Neves et al. (2019) obtiveram uma média de herdabilidade de 0,16 (0,8 a 0,23) e que as regiões genômicas associadas a hipoplasia testicular se localizavam nas janelas genômicas localizadas em BTA1, BTA3, BTA4, BTA5, BTA9, BTA22, BTA23 e BTA25, e que explicariam juntas 22,69% do total da variância genética aditiva para expressão da patologia. Moura (2013) também utilizando estudos de associação genômica (GWAS) observou associação da hipoplasia testicular a um número maior de cópias do gene TSPY comparado a animais clinicamente normais, bem como elenca possíveis marcadores gênicos para fertilidade situados nos BTA11, BTA16 e BTAX, com frequência média de hipoplasia testicular de 5,79% para touros Gir Leiteiro. Já Silva et al. (2022), também pelo estudo genômico e citogenético, verificaram duas regiões associadas aos cromossomos BTA6 e BTA29, onde constataram a translocação de um fragmento do cromossomo BTA6 para o cromossoma BTA29, sendo associado ao quadro de hipoplasia testicular. Pela sua apresentação variada, a hipoplasia testicular é classificada em diferentes categorias:

Hipoplasia Testicular Clássica.

Este quadro, o mais descrito na literatura científica, sendo a gônada esquerda a de maior frequência (Lagerlof, 1934; Lagerlof e Settergren, 1961). Podendo se apresentar de forma total e parcial. Na hipoplasia testicular total e bilateral, as gônadas se mostram de consistência firme, e nas avaliações histopatológicas, há presença de túbulos seminíferos somente com células de Sertoli, normais ou degeneradas, túbulos seminíferos com diâmetros reduzidos e com a lâmina basal fina (McEntee, 1983). Todos os animais portadores são estéreis. Na condição de unilateralidade, a concentração espermática se mostra reduzida em

comparação aos padrões da raça.

Na forma de Hipoplasia Testicular parcial e bilateral, as gônadas podem se apresentarem reduzidas ou não de tamanho, com consistência testicular normal ou flácida e nas avaliações histopatológicas, os túbulos seminíferos podem apresentar diferentes graus de comprometimento do epitélio seminífero, podendo alcançar valores superiores a 75% do epitélio seminífero com somente células de Sertoli e lâmina basal fina. Desde modo a produção espermática é baixa e com variado grau de anomalias espermáticas, tornando os animais subfêrteis ou infêrteis.

Na forma de Hipoplasia Testicular parcial e unilateral, a gônada se apresenta de tamanho normal ou reduzida, consistência normal ou flácida. Nas avaliações histopatológicas, os túbulos comprometidos apresentam-se com somente células de Sertoli e lâmina basal fina. De acordo com o grau de comprometimento do epitélio seminífero, os animais apresentam ejaculados com padrões seminais normais e fertilidade também normal.

De todas as apresentações do quadro de hipoplasia testicular, as de características parciais, seja unilateral ou bilateral, são as de maior interesse na sua identificação e descarte dos animais, tanto macho quanto fêmeas, pelo fato desses animais serem portadores e difundirem esses genes para suas progênes, aumentando a frequência de animais portadores e acometidos nos rebanhos.

Hipoplasia Testicular com Baixa Resistência das Células Germinativas

Este quadro de Hipoplasia, descrito inicialmente por Lundgren (1972) em bovinos da raça Sueca Vermelho e Branco, posteriormente descritas em outras raças, inclusive as zebuínas (Vale et al., 2023). Esta se caracteriza por apresentar as gônadas de tamanho reduzido ou não e com as características seminais em animais jovens normais ou com anomalias espermáticas dentro dos limites aceitáveis, podendo apresentar ejaculados com boa congelabilidade, porém com o avançar da idade, apresenta ejaculados com baixa concentração e percentuais de anomalias espermáticas não aceitáveis e presença de células da linhagem espermatogênica. Nas avaliações histopatológicas, o comprometimento do epitélio seminífero se mostra semelhante com os casos de degeneração testicular, porém sem infiltração de tecido conjuntivo fibroso adjacentes à lâmina basal (MACEDO *et al.*, 2011).

Hipoplasia Testicular devido a Parada da Espermatogênese.

Este quadro de Hipoplasia, descrito inicialmente por Largerlof (1938) onde as gônadas podem se apresentar de tamanho normal ou reduzido, porém a espermatogênese ocorre somente até a formação das espermátides. Neste caso, o autor ressalta que neste tipo de hipoplasia, somente os machos são acometidos. A produção espermática resulta em baixa reserva extra-gonádica, apresentando ejaculados com baixa concentração e presença de células multinucleadas e espermátides degeneradas.

Hipoplasia Testicular com a presença no ejaculado de Cromossomos pegajosos (Sticky chromossomes)

Este quadro de hipoplasia, descrito primeiramente por Knudsen (1961a) em bovinos da raça Vermelha e Branca Sueca, caracteriza pela apresentação das gônadas pequenas em relação à média apresentada pela raça, ejaculados com baixa concentração espermática, podendo ser aspérmico, porém com presença de células da linhagem espermatogênica, com núcleos picnóticos.

Hipoplasia Testicular com a presença de “Corpos multipolares nos espermátócitos”

Este quadro, inicialmente descrito em bovinos (Knudsen, 1961b), é caracterizado pela parada da espermatogênese, com presença de células gigantes multinucleadas degeneradas, células com núcleos picnóticos e fragmentos anucleares no ejaculado.

Hipoplasia testicular associado a presença de Cromossomos Sexuais Extras (Síndrome de Klinifelter)

Este quadro se caracteriza por apresentar na avaliação citogenética, um cariótipo normal quanto ao número de cromossomos autossômicos, porém com cromossomos sexuais, sendo mais relatado casos de mais cromossomos X, embora possa também ter o cromossomo Y extra (McEntee, 2012; Foster, 2016). Esta condição foi descrita em diferentes espécies, tais como bovino, ovino, suíno, canino e muito estudada

na espécie humana.

Considerações finais

A maioria das citações na literatura científica sobre a hipoplasia testicular está relacionada a genes recessivos autossômicos, de penetrância incompleta e de expressividade variada, demonstrando grande potencial de difusão nos rebanhos, portanto todos os animais portadores devem ser descartados da reprodução, independente se eles apresentarem fertilidade com índices aceitáveis ou subfêrteis. Todos os portadores desta patologia devem ser descartados como reprodutores. O avanço, a redução dos custos e a eminente difusão das avaliações genômicas se mostra a principal ferramenta na identificação e eliminação desses genes indesejáveis por meio do descarte dos reprodutores ou linhagens portadoras, al das estratégias de acasalamento analisadas por estudos genômicos dos reprodutores e das matrizes.

Referências

- Chiquiloff MA, Silva GJML.** Alterações testiculares e epididimárias em cães. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais*, v.31, n.5, 1979.
- Chiquiloff MA, Nascimento EF.** Alterações testiculares e epididimárias em cães. II. Frequência, correlações e associação com a idade. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais*, v.28, n.3, p.317-323, 1976.
- Hafez ESE.** *Reprodução Animal*. 7.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2004. 513p.
- Holst SJ.** Sterility in boars. *Nord. Veterinermed.*, v.1, p.87-120, 1949.
- Jacob JCF, Folhadella IM, Três JE.** *Anatomia e Fisiopatologia do Aparelho Genital do Macho*. In: Palhano HB, Jesus VLT, Três JE, Jacob JCF, Moreira Alves PA. *Reprodução em bovinos - Fisiopatologia, terapêutica, manejo e biotecnologia*. Rio de Janeiro: 2.ed., LF Livros, 2008. p.181-224.
- Knudsen O.** Testicular hypoplasia with multipolar spindle formation in the spermiocytes of the bull. *Acta Vet. Scand*, v.2, n.2, p.1-11, 1961b.
- Knudsen O.** Sticky chromosome as a cause of testicular hypoplasia in bulls. *Acta Vet. Scand.*, v.2, n.1, p.1-14, 1961a.
- Krishnalingam V, Ladds PW, Entwistle KW, Holroyd RG.** Quantitative macroscopic and histological study of testicular hypoplasia in *Bos indicus* strain bulls. *Research Veterinary Science*, v.32, n.2, p.131-139, 1982.
- Lagerlof N.** Morphologische Untersuchungen uber Veranderungen in Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilitat. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, suppl. XIX, 1934.
- Lagerlof N, Settergren I.** Results of 17 years control of Hereditary ovarian hypoplasia in cattle of the Swedish Highland breed. *Cornell Vet.*, v.43, p.52-64, 1953.
- Lagerlof N, Settergren I.** Gonadenhypoplasie beim Rind der Schwedischem gebirgsrasse. *Zuchthygiene*, v.5, p.141-158, 1961.
- Luna HS.** Citogenética clássica aplicada ao monitoramento de germoplasma bovino. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.36, n.2, p.84-93, 2012.
- Lundgren BA.** Preliminary report on hypoplasia of the gonads in the Swedish Red and White cattle (SRB). *Proc. 7º Int. Cong. Anim. Reprod. Art. Ins.*, v.3, p.1957-1960, 1972.
- Macêdo JTSA, Lucena RB, Giaretta PR, Kommers GD, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL.** Defeitos congênitos em bovinos da Região Central do Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.31, n.4, p.297-306, 2011.
- Mathew J, Raja CKSY.** Investigation on the incidence of cryptorchidism in goats. *Kerala Journal of Veterinary Science*, v.9, p.47-52, 1978.
- McEntee K.** *Reproductive pathology of domestic mammals*. 1.ed. San Diego: Academic Press, 1990. 401p.
- Moura GS.** *Estudo clínico-andrológico e genético-molecular da subfertilidade em touros da raça Gir Leiteiro (Bos taurus indicus) no Estado de Minas Gerais*. 2013. 95f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.
- Neves HHR, Vargas G, Brito LF, Schenkel FS, Albuquerque LG, Carnevali R.** Genetic and genomic analyses of testicular hypoplasia in Nelore cattle. *PLoS ONE*, v.14, n.1, e0211159, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211159>
- Salvador DF, Dias JC, Vale Filho VR, Andrade VJ, Silva AS, Nogueira E.** Perfil andrológico de touros da raça Nelore com três e quatro anos de idade, criados extensivamente em condições do estado do Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.26, n.2, p.64-67, 2002.
- Salvador DF.** *Perfis andrológicos, de comportamento sexual e desempenho reprodutivo de touros Nelore desafiados com fêmeas em estro sincronizado*. 2001. 53f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, 2001.

- Settergren I, McEntee K.** Germ cell weakness as a cause of testicular hypoplasia in bulls. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.33, n.4, p.273-282, 1992.
- Settergren I.** *Gonadal hypoplasia*. In: FAO/SIDA Follow-Up Seminar on Animal Reproduction. Lima, 1982. p.6.
- SILVA TL et al.** Testicular hypoplasia in Nellore Cattle: Genetic analysis and functional analysis of genome-wide association study results. *J. Animal Breed Genetic*, v.140, n.2, p.185, 2023. <https://doi.org/10.1111/jbg.12747>
- Vale Filho VR, Fonseca VO, Freneau GE, Guimarães JD, Castro VM, Melo MIV.** Desenvolvimento testicular e maturidade sexual em bovinos. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária (UFMG)*, Belo Horizonte, v.1, n.1, p.63-75, 1993.
- Vale Filho V et al.** Alta prevalência de hipoplasia gonadal em tourinhos da raça Gir, num rebanho consanguíneo. In: Simp. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte. *Anais...*, p.3, 1981.
- Vale Filho VR.** *Patologia do sêmen*. Universidade Federal de Minas Gerais, 1980. 54p.
- Vale GW et al.** *Compêndio da Andrologia Veterinária - Princípios e Práticas*. 1.ed. Fortaleza: Arte Visual Gráfica e Editora, 2023. 720p.
- Vale GW et al.** Alterações no desenvolvimento do escroto e do testículo de reprodutores bubalinos da raça Murrah. *A Hora Veterinária*, v.29, n.70, p.32-35, 2009.
- Vale GW, Ohashi OM.** Problems of reproduction in buffaloes. *Buffalo Journal Suppl.*, v.2, p.103-122, 1994.
- Venhoranta H, Pausch H, Wysocki M, Szczerbal I, Hänninen R, Taponen J, Uimari P, Flisikowski K, Lohi H, Fries R, Switonski M.** Ectopic KIT copy number variation underlies impaired migration of primordial germ cells associated with gonadal hypoplasia in cattle (*Bos taurus*). *PLoS One*, v.8, n.9, e75659, 2013.
-