

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Escola de Veterinária**

**Programa de Pós-graduação em Ciência Animal**

Deborah Freitas Silva

**AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DA ARTÉRIA TESTICULAR DE GARANHÕES  
NORMAIS E COM TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO**

Belo Horizonte

2021

Deborah Freitas Silva

**AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA DA ARTÉRIA TESTICULAR DE GARANHÕES  
NORMAIS E COM TORÇÃO DO CORDÃO ESPERMÁTICO**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Gabriel Augusto Monteiro.

**Coorientadora:** Profa. Dra. Letícia Zoccolaro Oliveira.

**Coorientadora:** Profa. Dra. Yamê Fabres Robaina Sancler da Silva.

Belo Horizonte

2021

S586a Silva, Deborah Freitas, 1993 -  
Avaliação Hemodinâmica da artéria testicular de garanhões normais e com torção do cordão espermático/ Deborah Freitas Silva, - 2021.

63 f:il.

Orientador: Gabriel Augusto Monteiro  
Coorientadoras: Leticia Zoccolaro Oliveira  
Yamê Fabres Robaina Sancler da Silva

Dissertação (Mestrado) Apresentado a Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de concentração: Fisiopatologia e endocrinologia da reprodução animal  
Bibliografia: f:56 - 63.

1. Equino – Aparelho genital - Teses – 2. Ultrassonografia veterinária - Teses – 3. Anatomia - veterinária – Teses – I. Monteiro, Gabriel Augusto – II. Oliveira, Leticia Zoccolaro – III. Silva, Yamê Fabres Robaina Sancler da – VI - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - V. Título.

CDD – 636.089

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

DEBORAH FREITAS SILVA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Reprodução Animal.

Aprovado(a) em 17 de março de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Gabriel Augusto Monteiro - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Anelise Carvalho Nepomuceno

Dr.(a). Fernanda Saules Ignacio



Documento assinado eletronicamente por **Gabriel Augusto Monteiro, Professor do Magistério Superior**, em 19/03/2021, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernanda Saules Ignácio, Usuário Externo**, em 22/03/2021, às 15:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Anelise Carvalho Nepomuceno, Professora do Magistério Superior**, em 22/03/2021, às 16:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0607519** e o código CRC **1440A6C6**.

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos  
não é senão uma gota de água no mar.  
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”  
(Madre Teresa de Calcutá)*

*Dedico esse trabalho aos meus pais, que  
sonharam esse sonho ao meu lado, me  
apoiaram em todas as decisões e  
vibraram com minhas vitórias. Essa  
conquista também é de vocês!*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por me capacitar e por guiar as escolhas que me trouxeram até aqui. Por todo amparo, saúde e proteção; pela família abençoada que me deu e por todas as pessoas especiais que colocou em meu caminho.

A Virgem Maria, pelo colo materno, amparo e por me encorajar nos momentos de medo e incerteza.

Aos meus pais, Tânia e Ednilson, por terem me moldado, acompanhado em cada etapa da vida, por cada oração, sacrifício e palavra de incentivo. Por renunciarem seus sonhos em prol dos meus.

Aos meus irmãos, Yuri por me motivar e sempre torcer por mim. A Ana Clara, que apesar da pouca idade sempre me incentivou a não desistir. Ao Davi, que sem saber me impulsionou a querer vencer. Seremos sempre um pelo outro!

Ao meu noivo Cahuê, que esteve ao meu lado desde o início dessa trajetória, me dando força nas horas difíceis, me encorajando a seguir em frente e vibrando ao meu lado nas vitórias. Você foi essencial na minha caminhada até aqui!

Ao meu orientador, Gabriel Monteiro, por ter acreditado em mim desde a época da iniciação científica, por ser um exemplo de profissional no qual me espelho, e por me dar a oportunidade de seguirmos juntos no mestrado. Nós conseguimos!

Às minhas co-orientadoras, Letícia Zoccolaro e Yamê Fabres, que aceitaram meu convite de prontidão, que somaram não só em conhecimento, mas também através de conselhos, amizade e estímulo, que foram fundamentais para o desenvolvimento e sucesso desse trabalho

A minha família, por me apoiar, acreditar e se orgulhar de mim. Por entenderem a minha ausência nos finais de semana e almoços. Vocês me renovam a cada encontro!

Aos meus amigos, por me motivarem a prosseguir e se orgulharem da carreira e do caminho que escolhi trilhar. Obrigada por não desistirem de mim depois de tantos encontros desmarcados. Vocês são os melhores!

Às minhas amigas companheiras de mestrado, Alinne e Juliana, que estiveram comigo desde o início, passando por todos os momentos felizes e difíceis do mestrado ao meu lado. Também agradeço às amigas veteranas, Virgínia, Rita e Ana Carolina e à nossa caçula Thayná, pela companhia e apoio durante essa trajetória e por tornarem meus dias mais felizes e mais leves. Vocês foram essenciais para eu chegar até aqui!

Aos estagiários, Lorena, Laura, Pedro, Bárbara e Amanda, pela amizade, apoio, companheirismo e comprometimento. Um agradecimento especial à Janaina e Debora que auxiliaram no desenvolvimento da parte experimental desse projeto. Sem vocês nada disso teria sido possível!

A todos os integrantes do Setor de Reprodução UFMG, por acompanharem de perto minha trajetória até aqui, por toda troca de conhecimento e ajuda durante esse período.

Aos funcionários, em especial ao Dário que me apoiou desde a graduação, por todos os conselhos, broncas, cafés e ensinamentos. Meu rabugento preferido, obrigada!

Aos membros da banca, Anelise Carvalho e Fernanda Saules, por aceitarem meu convite e me prestigiarem nesse momento tão especial. Por fazerem parte da minha história e por serem profissionais no qual me espelho.

À Universidade Federal de Minas Gerais pela formação acadêmica e por me permitir avançar com os conhecimentos no mestrado. Por ter me feito tão feliz, grata e orgulhosa. Será sempre minha casa.

À fundação de apoio CAPES, pela bolsa de mestrado que foi fundamental para o desenvolvimento desse projeto.

Aos garanhões, que mesmo sem saberem foram os protagonistas desse trabalho. Por toda paciência durante as coletas de dados, por todo carinho no olhar e tranquilidade que transmitiram. Vocês me fizeram e fazem uma profissional cada dia mais apaixonada e feliz por saber que fiz a escolha certa.

A todos que de alguma forma colaboraram e me impulsionaram até aqui, muito obrigada, é graças a vocês que esse sonho se tornou realidade!

*“O futuro pertence àqueles que  
acreditam na beleza dos seus sonhos”*

*(Eleanor Roosevelt)*

## RESUMO

A ultrassonografia Doppler é amplamente utilizada na avaliação andrológica de humanos e é um método relevante para monitoramento da hemodinâmica testicular. No entanto, no âmbito da andrologia equina ainda é raramente utilizada. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o padrão de fluxo sanguíneo na artéria testicular de garanhões normais de diferentes faixas etárias e de garanhões com torção do cordão espermático de 180°. Ambos os testículos de 52 garanhões (Mangalarga Marchador) foram avaliados por meio da ultrassonografia Doppler espectral. Animais com testículos normais foram divididos em três grupos de faixas etárias: jovens normais (JN, n=10), adultos normais (AN, n=10) e idosos normais (IN, n=10) e animais com torção do cordão espermático em dois grupos: jovens com torção (JT, n=10) e adultos com torção (AT, n=8). Foram avaliados separadamente quatro garanhões com hidrocele. Os valores de índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP), velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV) foram avaliados na artéria supratesticular (Supra) e na artéria capsular (Cap). O efeito das variáveis predictoras presença de torção, faixa etária e lado foram avaliados através de modelos mistos, correlações de Pearson também foram aplicadas para avaliar a associação entre pares de variáveis. Os resultados evidenciaram maior VPS Supra em IN em relação a JN ( $P<0,041$ ) e maior IP Supra nos testículos esquerdos de IN em relação aos testículos direitos de JN e AN ( $P<0,001$ ). Foi observado menor IR Supra em testículos torcidos do que em testículos normais de animais jovens ( $P<0,001$ ) e menor VDF Supra nos testículos contralaterais em relação aos testículos normais de animais adultos ( $P<0,001$ ). Redução nos valores de IR, IP e VPS e aumento de VDF foram observados no trajeto da artéria testicular da região Supra para Cap em todos os grupos (testículos normais, torcidos e contralaterais) de garanhões jovens e adultos. Os casos de hidrocele destacaram medidas superiores de IR Supra em relação a garanhões com torção bilateral do cordão espermático ( $P<0,033$ ). Em conclusão, menor perfusão sanguínea testicular foi observada em garanhões idosos. Além disso, testículos com hidrocele apresentaram alterações no fluxo sanguíneo, bem como, testículos torcidos e contralaterais.

Palavras-chave: Doppler espectral, equinos, impedância vascular, patologia, testículos.

## ABSTRACT

Doppler ultrasonography is commonly used in andrological evaluation of humans and is a relevant method for monitoring testicular hemodynamics. However, in horse andrology it is scarcely used. Therefore, the aim of this study was to evaluate the blood flow pattern in testicular artery of normal stallions of different age groups and stallion's with 180° torsion of spermatic cord. Both testicles from 52 stallions (Mangalarga Marchador) were evaluate using spectral Doppler. Animals with normal testicles were divided in three age groups: normal young (NY=10), normal adult (NA=10), normal old (NO=10) and animals with torsion of spermatic cord in two age groups: torsion young (TY=10) and torsion adult (TA=8). Four stallions with hydrocele were evaluated separately. The values of resistive index (RI), pulsatility index (PI), peak systolic velocity (PSV), end diastolic velocity (EDV) and time average maximum velocity (TAMV) were measured in the suprastesticular artery (Supra) and in capsular artery (Cap). The effect of the predictor variables presence of torsion, age group and side were assessed using mixed models, Pearson correlations were also applied to assess the association between pairs of variables. The results showed higher PSV Supra in NO compared to NY ( $P < 0.041$ ) and higher PI Supra in the left testicles of NO compared to the right testicles of NY and NA ( $P < 0.001$ ). Reduced RI Supra was observed in twisted testicles compared with normal testicles of young animals ( $P < 0,001$ ) and lower EDV Supra in contralateral testicles compared with normal testicles of adults animals ( $P < 0,001$ ). Reduction in the values of RI, PI and PSV and an increase in EDV were detected in the path of the testicular artery from Supra to Cap in all groups (normal, twisted and contralateral testicles) of young and adult stallions. Hydrocele cases highlighted superior measurements of RI Supra in relation to stallions with bilateral spermatic cord torsion ( $P < 0.033$ ). In conclusion, lower testicular blood perfusion is observed in aged stallions. Moreover, testicles with hydrocele presents changes in blood flow, as well as, twisted testicles and contralateral testicles.

Key-words: Spectral doppler, horse, age, vascular impedance, pathology, testicles.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Desenho esquemático do parênquima testicular e do processo de espermatogênese. Destaque para os lóbulos do parênquima testicular (A). Esquema de um túbulo seminífero (B). Processo de espermatogênese com as células germinativas em diferentes fases de diferenciação: espermatogônias (C), espermatócitos primários (D), espermatócitos secundários (E), espermátides (F) e espermatozoides (G). Fonte: Adaptado de Sancler-Silva, 2017. ....23
- Figura 2:** Desenho esquemático representando a variação da frequência das ondas sonoras emitidas pelo transdutor e da frequência refletida. A) o fluxo sanguíneo com movimentação em direção ao transdutor reflete a onda com frequência maior que a emitida (fd positiva); B) o fluxo sanguíneo com movimentação no sentido oposto ao transdutor reflete a onda com frequência menor que a emitida (fd negativa). Fonte: Arquivo pessoal. ....27
- Figura 3:** Desenho esquemático representando o ângulo formado entre o feixe proveniente do ultrassom com o fluxo sanguíneo do vaso avaliado: ângulo de insonação- $\theta$  (marcação em amarelo na figura). Fonte: Arquivo pessoal.....29
- Figura 4:** Espectro demonstrando a velocidade do fluxo sanguíneo da artéria testicular ao longo de um ciclo cardíaco, com destaque para os valores de velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Fonte: Arquivo pessoal.....30
- Figura 5:** Desenho esquemático da artéria testicular com ênfase nas três regiões de avaliação com o Doppler espectral e orientação do transdutor. 1) Cordão espermático: artéria suprategicular; 2) Próximo à cauda do epidídimo: artéria capsular e, 3) dentro do parênquima: artéria intrategicular. Fonte: Modificado de “Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography,” O.J. Ginther. ....31
- Figura 6:** Torção do cordão espermático de 180°. Em destaque (círculo branco pontilhado) a cauda do epidídimo na posição cranial do escroto. Fonte: Arquivo pessoal.....35
- Figura 7:** Quadro de hidrocele bilateral evidenciando o edema testicular com perda do contorno do órgão (A). Imagem ultrassonográfica do acúmulo de fluido anecogênico

ao redor do testículo (testículo=seta preta) (B) e do epidídimo (epidídimo=seta branca) (C). Arquivo pessoal. ....36

**Figura 8:** Execução da mensuração das medidas testiculares (altura, largura e comprimento) de cada testículo (A), utilizando um paquímetro manual universal de plástico (150 mm) (B). Fonte: Arquivo pessoal.....38

**Figura 9:** Desenho esquemático da artéria testicular com ênfase nas duas regiões avaliadas com o Doppler espectral e orientação do transdutor. 1) Cordão espermático: artéria suprategicular; 2) Próximo à cauda do epidídimo: artéria capsular. Fonte: Modificado de “Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography,” O.J. Ginther. ....40

**Figura 10:** Esquema demonstrando o posicionamento do transdutor nas duas regiões avaliadas com Doppler espectral (artéria suprategicular e capsular) e a imagem ultrassonográfica equivalente. A) Artéria suprategicular: transdutor posicionado horizontalmente, perpendicular ao cordão espermático, na região mais distal, 2-5 cm do testículo. B) Artéria capsular: transdutor sob o pólo caudal dos testículos, na posição caudo-dorsal, próximo à cauda do epidídimo. Fonte: Arquivo pessoal. ....41

**Figura 11:** Espectro da velocidade do fluxo sanguíneo ao longo de um ciclo cardíaco da artéria testicular, com destaque para os valores de velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Fonte: Arquivo pessoal. ....42

**Figura 12:** Espectros demonstrando os padrões de formato de ondas produzidos na artéria suprategicular. A) formato de ondas com padrão bifásico e resistivo; B) formato de ondas com padrão trifásico e resistivo (fluxo diastólico retrógrado); C) formato de ondas com padrão monofásico altamente resistivo (ausência de diástole). Fonte: Arquivo pessoal. ....46

**Figura 13:** Espectros demonstrando os padrões de formato de ondas produzidos na artéria capsular. A) formato de ondas com padrão monofásico e não-resistivo; B) formato de ondas com padrão bifásico e não-resistivo. Fonte: Arquivo pessoal. ....46

**Figura 14:** Comparação entre testículos normais (direito e esquerdo) e entre faixas etárias (jovens, adultos e idosos) na região da artéria suprategicular (Supra). A: Índice de pulsatilidade (IP); B: Volume de pico sistólico (VPS). Letras diferentes dentro de uma faixa etária ou entre faixas etárias diferem significativamente ( $P < 0,05$ ). ....47

- Figura 15:** Comparação dos parâmetros Doppler de testículos normais, testículos torcidos e contralaterais, de garanhões jovens e adultos, na região da artéria supratesticular (Supra). A: Índice de resistência (IR); B: Velocidade diastólica final (VDF). Letras diferentes dentro de uma faixa etária ou entre faixas etárias diferem significativamente ( $P < 0,05$ ). .....48
- Figura 16:** Comparação do índice de resistência (IR) na artéria supratesticular entre os grupos de patologia testicular: normal, torção unilateral, torção bilateral e hidrocele. A: entre grupos de patologia; B: entre testículos (direito e esquerdo) dos grupos de patologia avaliados. Letras diferentes entre os grupos e entre testículos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ). .....48
- Figura 17:** Análise das diferenças pareadas entre as medidas Supra (supratesticular) e Cap (capsular) nos parâmetros Doppler realizadas no mesmo testículo. A: Índice de resistência (IR); B: índice de pulsatilidade (IP); C: velocidade de pico sistólico (VPS). Valores acima da linha do zero indicam que as medidas Supra foram maiores que as respectivas medidas Cap. ....49
- Figura 18:** Análise das diferenças pareadas entre as medidas Supra (supratesticular) e Cap (capsular) nos parâmetros Doppler realizadas no mesmo testículo. A: velocidade diastólica final (VDF); B: tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Valores abaixo da linha do zero indicam que as medidas Supra foram menores que as respectivas medidas Cap, e valores na região média indicam que as medidas Supra foram iguais as respectivas medidas Cap. ....49
- Figura 19:** Correlação entre as medidas Supra e Cap para os parâmetros Doppler: índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP), velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF), tempo médio da velocidade máxima (TAMV).  $P < 0,05$  indica correlação significativa. Quanto mais próximo de 1 for o valor R, sendo positivo ou negativo, mais forte é a evidência de que há correlação entre as variáveis. ....50
- Figura 20:** A: Comparação do volume testicular total (VTT) entre as faixas etárias: jovens, adultos e idosos; B: Comparação do VTT entre os grupos de patologia testicular: normal, torção unilateral, torção bilateral e hidrocele. Letras diferentes entre os grupos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ). .....51

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de gananhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para cada lado da artéria suprategular. ....44
- Tabela 2:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de gananhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para cada lado da artéria capsular. ....44
- Tabela 3:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de gananhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para ambos os testículos (média dos dois testículos), na artéria suprategular. ....44
- Tabela 4:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de gananhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para ambos os testículos (média dos dois testículos), na artéria capsular. ....45
- Tabela 5:** Valores médios dos parâmetros Doppler nas artérias suprategular e capsular de testículos torcidos e contralaterais, de gananhões jovens e adultos com torção de 180°. ....45
- Tabela 6:** Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros Doppler espectral e volume testicular total (VTT) nas faixas etárias de jovens e adultos nas artérias suprategular e capsular. ....51

## LISTA DE ABREVIATURAS

|              |                                      |
|--------------|--------------------------------------|
| <b>ABP</b>   | Proteína ligadora de andrógenos      |
| <b>AN</b>    | Adultos normais                      |
| <b>AT</b>    | Adultos com torção                   |
| <b>DSOe</b>  | Eficiência espermática esperada      |
| <b>DSOr</b>  | Eficiência espermática real          |
| <b>cm</b>    | Centímetro                           |
| <b>Fd</b>    | Deslocamento de frequência Doppler   |
| <b>FSH</b>   | Hormônio folículo estimulante        |
| <b>GnRH</b>  | Hormônio liberador de gonadotrofinas |
| <b>IGF-1</b> | Fator de crescimento insulínico-1    |
| <b>IN</b>    | Idosos normais                       |
| <b>IP</b>    | Índice de pulsatilidade              |
| <b>IR</b>    | Índice de resistência                |
| <b>JN</b>    | Jovens normais                       |
| <b>JT</b>    | Jovens com torção                    |
| <b>LH</b>    | Hormônio luteinizante                |
| <b>MHZ</b>   | Mega-Hertz                           |
| <b>mm</b>    | Milímetros                           |
| <b>MP</b>    | Motilidade progressiva               |
| <b>MT</b>    | Motilidade total                     |
| <b>TAMV</b>  | Tempo médio da velocidade máxima     |
| <b>VDF</b>   | Velocidade diastólica final          |
| <b>VPS</b>   | Velocidade de pico sistólico         |
| <b>VT</b>    | Volume testicular                    |
| <b>VTD</b>   | Volume testículo direito             |
| <b>VTE</b>   | Volume testículo esquerdo            |
| <b>VTT</b>   | Volume testicular total              |

# SUMÁRIO

## RESUMO

## ABSTRACT

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 17 |
| 2. HIPÓTESE.....  | 18 |
| 3. OBJETIVOS.....   | 18 |
| 3.1 Gerais .....  | 18 |
| 3.2 Específicos .....   | 19 |
| 4. REVISÃO DE LITERATURA .....                                    | 19 |
| 4.1 Anatomia do sistema reprodutor masculino .....                | 19 |
| 4.1.1 Anatomia vascular .....                                     | 20 |
| 4.2 Fisiologia da reprodução .....                                | 21 |
| 4.2.1 Função testicular .....                                     | 21 |
| 4.2.2 Função endócrina e sazonalidade .....                       | 23 |
| 4.2.3 Termorregulação testicular .....                            | 24 |
| 4.3 Ultrassonografia dos testículos e cordão espermático.....     | 25 |
| 4.3.1 Modo B.....   | 25 |
| 4.3.2 Doppler.....  | 26 |
| 4.3.3 Histórico e fundamentos da ultrassonografia Doppler .....   | 26 |
| 4.4 Modalidades Doppler.....                                      | 27 |
| 4.4.1 Doppler colorido.....                                       | 27 |
| 4.4.2 Power Doppler .....   | 28 |
| 4.4.3 Doppler pulsado ou espectral .....                          | 28 |
| 4.5 Parâmetros Doppler na avaliação da função testicular .....    | 31 |
| 4.6 Parâmetros Doppler na avaliação de afecções reprodutivas..... | 32 |
| 4.6.1 Torção do cordão espermático .....                          | 33 |
| 4.6.2 Hidrocele .....   | 35 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS.....  | 37 |
| 5.1 Animais.....  | 37 |
| 5.2 Exame Físico dos animais .....                                | 37 |
| 5.3 Volume testicular .....                                       | 38 |
| 5.4 Exame ultrassonográfico .....                                 | 39 |
| 5.4.1 Equipamento .....   | 39 |
| 5.4.2 Avaliação ultrassonográfica- modo B.....                    | 39 |

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 5.4.3 | Avaliação ultrassonográfica- Doppler ..... | 39 |
| 5.5   | Análise estatística.....                   | 42 |
| 6.    | <b>RESULTADOS</b> .....                    | 43 |
| 7.    | <b>DISCUSSÃO</b> .....                     | 52 |
| 8.    | <b>CONCLUSÃO</b> .....                     | 56 |
| 9.    | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....    | 56 |

## 1. INTRODUÇÃO

A ultrassonografia possibilita um diagnóstico não invasivo, rápido e oferece informações equivalentes à anatomia, ecogenicidade, textura e tamanho testicular (Schurisch et al., 2009).

Apesar de algumas patologias reprodutivas serem facilmente diagnosticadas a partir da ultrassonografia modo B, determinadas afecções, em seus estágios iniciais, podem não ser imediatamente identificadas por meio dessa modalidade por estarem geralmente relacionadas à déficits ou alterações de fluxo sanguíneo. Portanto, é necessário a utilização de uma tecnologia capaz de avaliar a hemodinâmica dos vasos sanguíneos diretamente (Agne, 2011).

Nesse contexto, a ultrassonografia Doppler surgiu com o objetivo de permitir exames mais detalhados e transmitir informações sobre a vascularização e arquitetura dos vasos (Carvalho et al., 2008). Na andrologia vêm sendo aplicada para avaliar a perfusão testicular (Pozor e McDonnell, 2004), que está intimamente ligada com o bom funcionamento dos testículos e epidídimos, possibilitando o diagnóstico de suas patologias (Gunzel-Apel et al., 2001).

A queda na produção espermática e qualidade seminal pode ser resultado de diversos fatores, desde processos agudos como traumas e aumento da temperatura do testículo, até patologias primárias que levam à disfunção testicular, como a varicocele e neoplasias. Dessa forma, a identificação precoce da origem do distúrbio e o tratamento rápido evita a instalação de processos degenerativos e irreversíveis (Turner, 2007; Pinggera et al., 2008).

Estudos em humanos relataram que o fluxo sanguíneo testicular aumenta com a idade, sendo a fase pediátrica caracterizada por hipovascularização fisiológica dos testículos (Bader et al., 1997; Dudea et al., 2010). Em garanhões adultos também foi reportada variação no fluxo sanguíneo em diferentes faixas etárias (Pozor e McDonnell, 2004). No entanto, ainda são escassas as pesquisas que investiguem os parâmetros Doppler em potros menores de 3 anos de idade.

Apesar de poucos relatos na literatura sobre os efeitos da torção do cordão espermático na perfusão testicular e fertilidade dos garanhões, foi observado por Pozor e McDonnell (2004) fluxo sanguíneo diastólico retrógrado nos casos de torção de 180° do cordão espermático. Em humanos também foi relatado fluxo sanguíneo diastólico retrógrado em torções de 180° e aumento do índice de resistência (IR) (Pavlica e Barozzi, 2001). A presença de sinais clínicos e de mudança na imagem Doppler depende do grau da torção e do tempo que está presente

(Ortega-Ferrusola et al., 2014).

Nos garanhões os parâmetros geralmente utilizados para prever disfunções reprodutivas são inespecíficos e tardios (Turner, 2007; Ortiz-Rodriguez et al., 2017), o que pode comprometer a fertilidade futura de animais valiosos para a reprodução. Dessa forma, com base na importância da precocidade dos diagnósticos de patologias reprodutivas para a realização de tratamentos mais adequados, as modalidades Doppler surgiram como ferramenta capaz de amplificar a capacidade de diagnóstico e de monitoramento da resposta à tratamentos, através do status da perfusão testicular, com consequente melhoria do prognóstico à fertilidade dos garanhões (Pozor et al., 2014; Ortega-Ferrusola et al., 2014; Ortiz-Rodriguez et al., 2017).

## **2. HIPÓTESE**

Os parâmetros vasculares da artéria testicular obtidos a partir da ultrassonografia Doppler espectral permitem o monitoramento da perfusão testicular de garanhões e possibilita o diagnóstico de distúrbios reprodutivos que envolvam alteração no fluxo sanguíneo.

A idade dos garanhões e a afecção da torção do cordão espermático de 180° possuem influência sobre a perfusão testicular.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Gerais**

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o padrão de fluxo sanguíneo da artéria supratesticular e da artéria capsular de garanhões normais de diferentes faixas etárias: jovens, adultos e idosos, por meio da ultrassonografia Doppler espectral, bem como avaliar a perfusão testicular de garanhões com quadro de torção do cordão espermático de 180°, comparando a perfusão sanguínea de testículos normais, torcidos e contralaterais.

### 3.2 Específicos

- Avaliar a eficácia dos parâmetros Doppler obtidos da artéria testicular como método de monitoramento da perfusão vascular em testículos de garanhões;
- Estabelecer valores de referência para os parâmetros Doppler de cada faixa etária de garanhões normais e mais especificamente, para a raça Mangalarga Marchador;
- Avaliar as possíveis alterações no fluxo sanguíneo testicular de garanhões com torção do cordão espermático e com hidrocele;
- Avaliar a relação do volume testicular (VT) dos garanhões com a perfusão sanguínea testicular, assim como, a relação da idade com o VT.

## 4. REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 Anatomia do sistema reprodutor masculino

O aparelho reprodutor do garanhão é formado pelos testículos e epidídimos que são sustentados pelo cordão espermático e o músculo cremáster; também é formado pelo pênis e pelas glândulas acessórias: glândulas vesiculares, próstata, bulbouretrais e ampola (Amann, 1981a).

O testículo é envolto por uma cápsula de tecido conjuntivo denso, a túnica albugínea, formada principalmente por fibras de colágeno (Hafez, 2004). A túnica albugínea emite septos em direção ao parênquima testicular fornecendo sustentação e dividindo o órgão em lóbulos, onde são alojados os túbulos seminíferos. Os septos convergem medialmente formando o mediastino, região que nos equinos adultos só é visualizada microscopicamente, uma particularidade da espécie equina (Chenier, 2007).

Os testículos situam-se fora da cavidade abdominal e são envolvidos por uma bolsa, o escroto, oriundo da pele e da fáscia que recobre o abdome. O escroto é dividido em quatro camadas: pele, túnica dartus, fáscia escrotal e túnica vaginal parietal (Hafez, 2004).

A pele é a camada mais externa do escroto e é rica em glândulas sudoríparas que são componentes essenciais no mecanismo de termorregulação testicular. A camada de musculatura lisa adjacente à pele, a túnica dartus, também é responsável pelo controle da temperatura dos testículos através de sua contração ou relaxamento. A terceira camada que fica entre a túnica

dartus e a túnica vaginal é a fáscia escrotal, composta de tecido conjuntivo frouxo (Stickle e Fessler, 1978 ). Por fim, a túnica vaginal é uma camada dupla de mesotélio originado do peritônio, no qual o folheto parietal está adjacente ao escroto e o folheto visceral à túnica albugínea. Entre a túnica vaginal parietal e a túnica vaginal visceral há uma cavidade que contém um líquido seroso que serve como lubrificante e facilita o movimento do testículo (Amann, 1981a).

O cordão espermático é constituído pelos ductos deferentes, vasos linfáticos, nervos, artéria e veia testicular, e o músculo cremáster (Chenier, 2007). A artéria testicular se apresenta de forma altamente contorcida envolvida por uma rede de veias que drenam o testículo, chamada de plexo pampiniforme, no qual funciona como um mecanismo de troca de calor que reduz a temperatura do sangue que chega aos testículos (Amann, 1981a; Amann, 2011). O músculo cremáster se apresenta externamente ao cordão espermático, é formado a partir do músculo oblíquo abdominal interno e tem função de sustentação, além da termorregulação testicular (Amann, 2011).

O epidídimo por sua vez, é dividido anatomicamente em três segmentos, cabeça, corpo e cauda. Ao longo dos três segmentos há a diferenciação do epitélio, com redução da sua altura e dos estereocílios e aumento do lúmen (Hafez, 2004). Funcionalmente, possui o segmento inicial, que corresponde à porção inicial da cabeça e o epitélio dos ductos eferentes e são responsáveis pela absorção de fluidos. O segmento médio, cabeça e corpo, realizam a maturação espermática; e o segmento final, que é composto pela cauda e porção dos ductos deferentes, executa o papel de armazenamento e manutenção de espermatozoides maduros (Marengo, 2008; Amann, 2011).

#### 4.1.1 Anatomia vascular

A artéria testicular se origina da aorta abdominal, próximo às artérias renais e mesentérica caudal, chegando a 5 mm de espessura. Se alonga para acompanhar a migração do testículo para o escroto envolvida por uma prega peritoneal e atravessa o anel inguinal. Na região do cordão espermático a artéria testicular se apresenta altamente convoluta, característica importante para regulação do fluxo e diminuição da pressão sanguínea, que é alta nesta região (Martin, 1915; Setchell, 1970).

Após o trajeto pelo cordão espermático, a migração do testículo para a bolsa escrotal caracteriza a artéria marginal, com paredes mais finas e de menor diâmetro do que no cordão

espermático (Budras et al., 2007). Desse modo, a artéria testicular apresenta um trajeto sinuoso sob a túnica albugínea, atingindo primariamente a borda epididimária cranial, segue pelo corpo do epidídimo no plano medial ou lateral no sentido da extremidade caudal do órgão, cede numerosos ramos mediais e laterais para a região mediastinal (Pozor e Kolonko, 2001), e retorna ao plexo pampiniforme do cordão espermático para o abdome (Turner, 1998).

A veia central por sua vez, tem início no centro da região caudal do testículo, segue cranio-dorsalmente, e após atravessar a túnica albugínea emite ramificações, sendo responsável por drenar o sangue dos testículos (Love, 1992). No cordão espermático as veias testiculares apresentam-se em grande número, desprovidas de válvulas e dispostas irregularmente ao redor da artéria testicular, como uma grande rede venosa, o plexo pampiniforme (Noronha, 1996) .

No que diz respeito à imagem ultrassonográfica dos vasos, a artéria testicular é anecóica, visualizada em cortes na região do cordão espermático. Já as veias possuem menor diâmetro e apresentam-se como estruturas de aspecto heterogêneo ao redor da artéria, sendo que em condições normais não são facilmente identificadas. A veia central é encontrada na seção transversal como uma região circular anecóica e quando em seção longitudinal, é vista como uma linha anecóica ondulada (Pozor, 2007; Chenier, 2009).

## **4.2 Fisiologia da reprodução**

### **4.2.1 Função testicular**

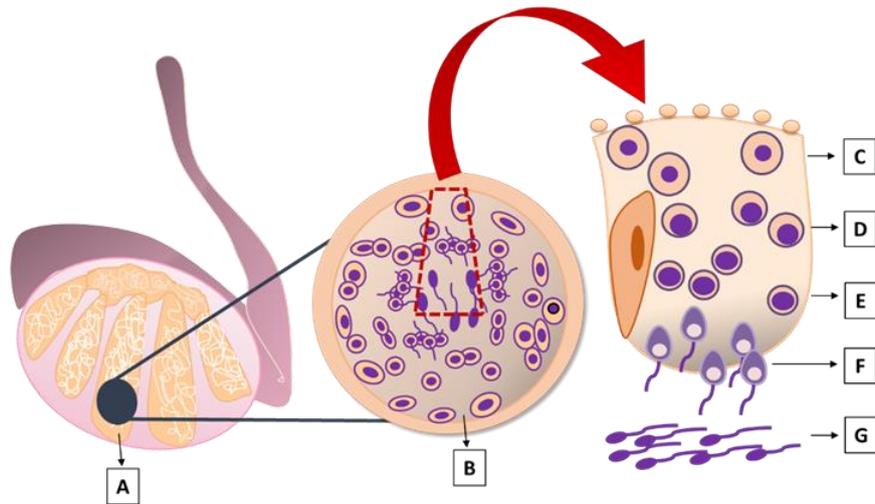
A produção dos espermatozoides é resultado de um processo contínuo chamado espermatogênese, que se inicia na puberdade e permanece de maneira constante durante toda a vida adulta do animal até a senilidade (Mascarenhas et al., 2013). Este processo ocorre dentro dos túbulos seminíferos, no parênquima testicular, onde as espermatogônias transformam-se em espermatócitos, a seguir, em espermátides e, por fim em espermatozoides (Amann, 1981b; Garner e Hafez, 2004).

A espermatogênese demanda um funcionamento adequado de todos os mecanismos testiculares e é muito sensível à redução ou interrupção do fluxo sanguíneo, principalmente nos estágios iniciais, visto que a pressão capilar e a tensão de oxigênio no interior dos túbulos seminíferos é naturalmente baixa. Portanto, o fluxo sanguíneo testicular é a principal via de transporte de oxigênio e nutrientes para as células testiculares e a falha na perfusão acarreta em danos inquéimicos, podendo levar a quadros de oligospermia e azoospermia (Bergh et al., 2001;

Zelli et al.,2013).

As principais células envolvidas na espermatogênese são as de Sertoli, germinativas e, as de Leydig. As células germinativas correspondem às espermatogônias, espermatócitos e espermatídes, que juntamente com as células de Sertoli formam o epitélio seminífero. As células de Sertoli auxiliam no processo de espermatogênese, oferecendo suporte físico às células da linhagem germinativa, aporte nutricional e produção de hormônios. Por outro lado, as células de Leydig compõem o interstício dos túbulos seminíferos e são responsáveis principalmente pela síntese do hormônio masculino, a testosterona. Normalmente se localizam ao redor dos vasos sanguíneos, uma localização importante para que haja suporte sanguíneo adequado à célula e o transporte dos hormônios produzidos para a circulação (Mascarenhas et al., 2013 ).

O processo de formação dos gametas masculinos pode ser dividido em três fases: proliferativa ou espermatocitogênese, meiose e diferenciação ou espermiogênese (Mascarenhas et al., 2013). Na espermatocitogênese, uma porção das espermatogônias mantêm-se como células tronco em estado basal de diferenciação para produção futura de novas células e a outra parte inicia o processo de formação dos espermatozoides se dividindo por mitose em espermatogônias tipo B, que irão se diferenciar nos espermatócitos primários. Os espermatócitos primários passam pela primeira divisão meiótica, a fase da meiose I, chamada de fase reducional, dando origem aos espermatócitos secundários, que possuem metade do material genético das células anteriores. Na meiose II os espermatócitos secundários se dividem ficando com apenas uma cromatina de cada cromossoma, dando origem a quatro espermatídes haplóides. Por fim, as espermatídes passam pela fase de diferenciação, no qual ocorre diversas modificações estruturais, formando os espermatozoides, que são posteriormente liberados no lúmen do túbulo seminífero (espermição) (FIGURA 1) (Johnson et al., 1997; Mascarenhas et al., 2013; Sancler-silva, 2017).



**Figura 1:** Desenho esquemático do parênquima testicular e do processo de espermatogênese. Destaque para os lóbulos do parênquima testicular (A). Esquema de um túbulo seminífero (B). Processo de espermatogênese com as células germinativas em diferentes fases de diferenciação: espermatogônias (C), espermatócitos primários (D), espermatócitos secundários (E), espermátides (F) e espermatozoides (G). Fonte: Adaptado de Sancler-Silva, 2017.

#### 4.2.2 Função endócrina e sazonalidade

O sistema reprodutor masculino possui duas funções principais, produção de gametas e de hormônios esteroides. Para que esses eventos ocorram é necessário o correto funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e de suporte sanguíneo adequado. É um processo que envolve reações endócrinas gerenciadas por gonadotrofinas, mecanismos de feedback realizados pelos hormônios esteroides e proteínas, e regulação parácrina e autócrina por esteroides, proteínas e peptídeos produzidos e secretados pelas células testiculares (Spiteri e Nieschlag, 1993).

Os mecanismos endócrinos, parácrinos e autócrinos coordenam de maneira equilibrada a proliferação celular, diferenciação e apoptose (Amann, 1981b). Esta regulação tem início no hipotálamo, que é o primeiro integrante do eixo-hipotalâmico-hipofisário-gonadal, com a secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) diretamente na circulação hipotalâmica-hipofisária. O GnRH atua sobre a hipófise anterior estimulando a liberação do hormônio luteinizante (LH) e folículo estimulante (FSH), que atuam sobre as células testiculares. O LH age sobre as células de Leydig que são responsáveis pela produção de testosterona e estrógenos. O FSH por sua vez, age sobre as células de Sertoli que são responsáveis pelo suporte às células germinativas, produção de inibina, ativina, proteína

ligadora de andrógenos (ABP), transferrina, fator de crescimento insulínico-1 (IGF-1) e estrógeno (Roser, 2008).

Como os equinos são animais sazonais e a atividade reprodutiva é primariamente regulada pelo fotoperíodo (Daels, 1993), estes atingem a máxima eficiência reprodutiva durante as estações de primavera e verão (Clay et al., 1988; Roser, 2001). Nestes períodos de dias mais longos os animais apresentam além de maiores concentrações de testosterona e estrógeno, maiores índices de produção de gametas, inibina, maior libido e aumento no tamanho e peso dos testículos (Thompson, 2000). Apesar das variações nas características reprodutivas serem bem visualizadas em garanhões de regiões de clima temperado, ainda é muito questionável a influência da sazonalidade nos garanhões das regiões de clima tropical, devido à pequena diferença no comprimento dos dias entre as estações do ano nessas regiões (Papa e Leme, 2002).

A relação dos garanhões com o fotoperíodo, assim como as éguas, está associada principalmente com a secreção de melatonina pela glândula pineal. Esta secreção está inversamente relacionada com a exposição à luz, ou seja, é liberada em quantidades maiores nas horas de escuridão. Sinais de luz são recebidos pela retina, transformados em sinais nervosos e transmitidos à glândula pineal, que por sua vez sintetiza e secreta melatonina. Em dias de maior luminosidade há menor secreção de melatonina pela glândula pineal, estimulando a liberação de GnRH pelo hipotálamo e conseqüentemente há aumento da atividade gonadal (Gerlach e Aurich, 2000).

#### 4.2.3 Termorregulação testicular

As células espermáticas são sensíveis à ação do calor, desse modo, o testículo equino deve permanecer cerca de 3 a 4°C abaixo da temperatura corporal para obter um funcionamento eficaz (Amann, 1981a). Portanto, características anatômicas são responsáveis por regular a temperatura intratesticular e evitar distúrbios na espermatogênese (Hafez, 2004).

A termorregulação testicular ocorre a partir da associação de alguns mecanismos, tais como, a produção de secreção apócrina a partir da bolsa escrotal, o fluxo sanguíneo em contracorrente, ação da túnica dartus e do músculo cremáster (Gabaldi e Wolf, 2002).

O mecanismo de contracorrente é um dos principais mecanismos de termorregulação testicular, no qual o plexo pampiniforme proporciona uma superfície de contato e de troca de calor entre a artéria e veias testiculares (Gabaldi e Wolf, 2002). Desse modo, o sangue arterial

que chega aos testículos é resfriado pelo sangue que retorna via plexo pampiniforme, orientando-o a uma temperatura média de 34°C a 35°C (Amann, 1981a; Hafez, 2004).

A localização dos testículos fora da cavidade abdominal com consequente aumento da superfície de dissipação de calor para o ambiente; a pele delgada do escroto, com pelos raros ou ausentes; pouca gordura subcutânea e a grande quantidade de glândulas sudoríparas também são responsáveis pela termorregulação testicular (Setchell et al., 1994; Gabaldi e Wolf, 2002). Assim como, o músculo cremáster e a túnica dartus, que são regulados por nervos simpáticos da porção lombar e respondem às mudanças de temperatura ambiental afastando ou aproximando os testículos da região abdominal (Gabaldi e wolf, 2002). Em dias com temperaturas mais baixas há a contração de ambas as musculaturas, o que reduz a troca de calor com o ambiente e mantém os testículos próximos do abdome. Já em dias com temperaturas elevadas ocorre o relaxamento das fibras musculares, com o intuito de afastar os testículos da região abdominal aquecida e permitir maior troca de calor (Amann, 2011).

### **4.3 Ultrassonografia dos testículos e cordão espermático**

O exame ultrassonográfico é uma ferramenta eficaz e segura para avaliação da estrutura interna dos órgãos genitais, fornecendo diagnóstico precoce de diferentes patologias (Palmer e Driancourt, 1980).

A probe com frequência de 5 - 7,5 MHz é ideal para avaliar a artéria testicular no cordão espermático (Ginther e Utt, 2004; Pozor e McDonnell, 2004). No entanto, um transdutor com frequência mais alta (7,5–17 MHz) é mais adequado para o exame da artéria capsular e vasos do parênquima testicular (Ginther e Utt, 2004).

#### **4.3.1 Modo B**

A ultrassonografia em escala cinza ou modo B fornece uma análise estrutural do órgão e é aplicada em estudos da anatomia, ecogenicidade, textura e mensuração do volume testicular (Schurisch et al., 2009), além de servir como plano de fundo para a representação colorida do fluxo sanguíneo a partir da avaliação Doppler (Ginther e Utt, 2004).

#### 4.3.2 Doppler

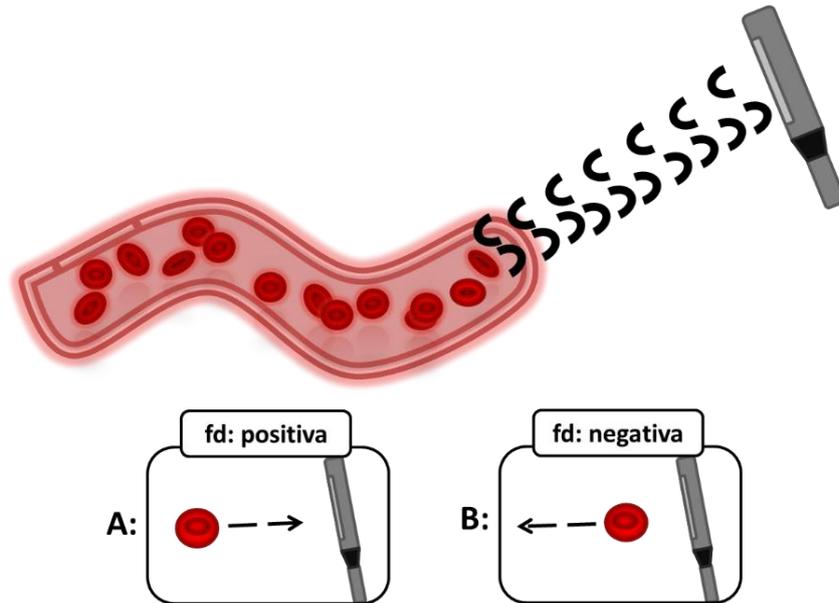
A ultrassonografia Doppler é uma tecnologia emergente relativamente recente na Medicina veterinária que propicia informações da vasculatura de vários órgãos, incluindo os testículos (Carvalho et al., 2008), logo, é uma técnica capaz de amplificar a capacidade de diagnóstico e de monitoramento no âmbito da andrologia equina (Ginther e Utt, 2004).

#### 4.3.3 Histórico e fundamentos da ultrassonografia Doppler

No ano de 1842, Christian Johann Doppler descreveu pela primeira vez a teoria do efeito Doppler, no qual ele observou que a frequência de uma onda sonora ou eletromagnética produzida por uma fonte que está em movimento se altera em relação ao receptor, aumentando com a aproximação e diminuindo com o distanciamento. A comprovação experimental ocorreu três anos mais tarde pelo meteorologista holandês Christoph H. D. Buys Ballot, que realizou um experimento no qual uma banda musical tocava em cima de uma locomotiva em movimento, enquanto um conjunto de observadores registravam as notas ouvidas de acordo com as diferentes velocidades de aproximação e de afastamento da locomotiva (Kawakama, 1993).

Na Medicina Veterinária o efeito Doppler é exemplificado durante a avaliação dos vasos sanguíneos, onde uma hemácia em movimento dentro dos vasos reflete a onda sonora emitida pelo transdutor (Vermillon, 1997). A frequência emitida pelo aparelho é constante, já a frequência dos ecos refletidos varia conforme a movimentação das hemácias em relação ao transdutor. A diferença entre a frequência do som que foi emitido e a frequência que foi refletida é chamada deslocamento de frequência Doppler (fd) (Szatmári et al., 2001).

Se o fluxo sanguíneo estiver em direção ao transdutor, a frequência dos ecos que retornam será mais alta, o que resulta em uma fd positiva; já se o fluxo sanguíneo estiver em sentido contrário ao do transdutor, se tem uma frequência mais baixa do que a que foi transmitida, e uma fd negativa (FIGURA 2) (Cerri et al., 1998). Quando a fonte de onda, no caso a hemácia, se move de forma perpendicular ao transdutor, não há deslocamento Doppler, dessa forma, não são detectados sinais Doppler colorido pelo equipamento (Ginther e Utt, 2004).



**Figura 2:** Desenho esquemático representando a variação da frequência das ondas sonoras emitidas pelo transdutor e da frequência refletida. A) o fluxo sanguíneo com movimentação em direção ao transdutor reflete a onda com frequência maior que a emitida (fd positiva); B) o fluxo sanguíneo com movimentação no sentido oposto ao transdutor reflete a onda com frequência menor que a emitida (fd negativa). Fonte: Arquivo pessoal.

## 4.4 Modalidades Doppler

### 4.4.1 Doppler colorido

A avaliação do fluxo sanguíneo da artéria testicular pode ser realizada pelo Doppler colorido (Dogra et al., 2003), que indica a velocidade, a presença e a direção do fluxo (Szatmári et al., 2001). O sinal recebido pelos elementos de amostragem do vaso é codificado por cores em relação ao sentido do fluxo e a velocidade do movimento (Kawakama, 1993). As diferentes cores indicam a direção do fluxo sanguíneo que também é demonstrada em uma barra colorida ao lado da imagem.

Convencionou-se que o fluxo que segue no sentido do transdutor é transmitido em vermelho e o fluxo que se afasta, em azul, porém, esse padrão pode ser manipulado pelo operador e, portanto, as cores podem ser variáveis. Já as intensidades das cores fornecem a ideia de velocidade, onde os fluxos de maior velocidade são expressos por tons mais claros da mesma cor (Cerri et al., 1998).

#### 4.4.2 Power Doppler

O Power Doppler é mais sensível que o Doppler colorido e, portanto, é utilizado para avaliar vasos de menor diâmetro e com menores velocidades de fluxo sanguíneo, especialmente no interior do parênquima testicular. Esse modo não detecta o sentido do fluxo e a velocidade, apenas expressa a presença ou não de fluxo sanguíneo no vaso avaliado. Devido a este fato, seu resultado independe do ângulo de insonação e não é influenciado por artefatos (Szatmári et al., 2001; Ginther e Utt, 2004).

Essa modalidade detecta a amplitude ou potência do sinal Doppler e é muito eficiente no diagnóstico de ausência ou fluxo sanguíneo deficiente. A quantidade de células vermelhas transitando no vaso, ou seja, a intensidade do fluxo é representada como um gradiente de cor laranja sobreposto sobre a imagem do ultrassom modo B, que varia de laranja escuro para um laranja claro, representando menor e maior intensidade, respectivamente (Pozor, 2007).

#### 4.4.3 Doppler pulsado ou espectral

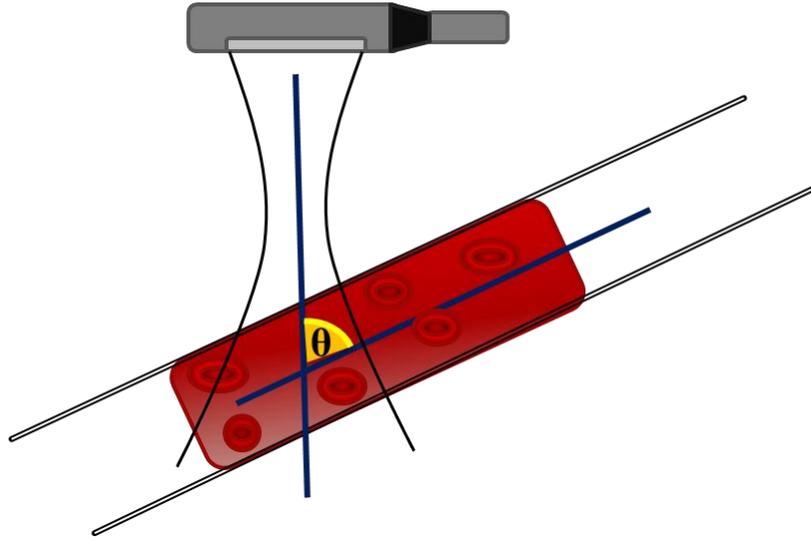
No modo espectral, o aparelho envia ondas curtas (pulsos) dentro de intervalos regulares (Szatmári et al., 2001) e a velocidade do fluxo sanguíneo é mensurada em função do tempo a partir da  $f_d$  e do ângulo de insonação (Dogra et al., 2003). O ângulo de insonação corresponde ao ângulo de intersecção do feixe do ultrassom com o fluxo sanguíneo (FIGURA 3) (Ginther e Utt, 2004), sendo que para obter informações mais confiáveis o ângulo deve estar entre  $20^\circ$  e  $60^\circ$  (Ginther e Utt, 2004; Pozor e McDonnell, 2004).

A  $f_d$  e o ângulo Doppler são utilizados pelo instrumento para calcular a velocidade do sangue, como mencionado, a partir da fórmula:

$$f_d = 2 f_t \cdot V \cdot \cos\theta / c$$

- $f_d$  = deslocamento de frequência Doppler
- $f_t$  = frequência do transdutor;
- $V$  = velocidade das hemácias;
- $\theta$  = ângulo Doppler (ângulo formado pela intersecção do eixo correspondente à direção do fluxo sanguíneo dentro do vaso);
- $\cos\theta$  = coseno do ângulo formado entre o transdutor e as hemácias;
- $C$  = velocidade média do ultrassom nos tecidos (fixada em  $1540\text{m.s}^{-1}$ ).

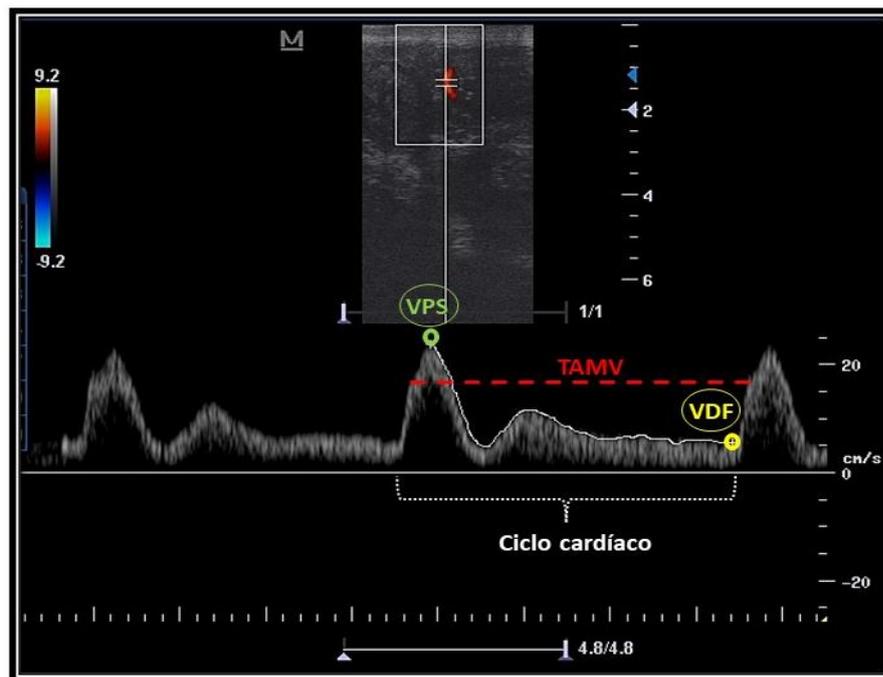
(Carvalho et al., 2008).



**Figura 3:** Desenho esquemático representando o ângulo formado entre o feixe proveniente do ultrassom com o fluxo sanguíneo do vaso avaliado: ângulo de insonação- $\theta$  (marcação em amarelo na figura).  
Fonte: Arquivo pessoal.

Ao ativar o modo espectral, os resultados do campo de amostragem do vaso avaliado são expressos em um gráfico denominado espectro, que representa a mudança de velocidade ao longo do tempo em associação com os pulsos dos ciclos cardíacos (Pozor, 2007). Convencionou-se que o traçado espectral se dispõe acima do zero da linha base (desvio positivo) nos casos em que a frequência retornada for maior que a frequência emitida e, o fluxo estiver na mesma direção do transdutor. Já quando a frequência retornada for menor do que a que foi emitida pelo aparelho, e o fluxo estiver no sentido contrário ao transdutor, o traçado se dispõe abaixo da linha base (desvio negativo) (Carvalho et al., 2008).

O espectro fornece os valores de velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV) (Ghinther, 2007). O VPS corresponde ao valor máximo no decorrer do espectro, VDF representa a velocidade final de um ciclo cardíaco e o TAMV é a média dos valores máximos durante todo gráfico (FIGURA 4) (Guinther e Utt, 2004).



**Figura 4:** Espectro demonstrando a velocidade do fluxo sanguíneo da artéria testicular ao longo de um ciclo cardíaco, com destaque para os valores de velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Fonte: Arquivo pessoal.

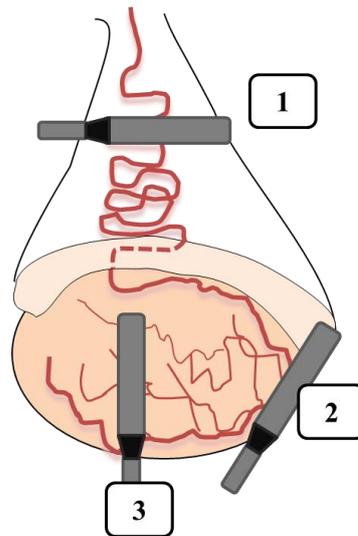
Como a impedância vascular não pode ser obtida apenas pelo valor de velocidade absoluta, os índices Doppler, índice de resistência (IR) e índice de pulsatilidade (IP), foram desenvolvidos. Esses índices são razões calculadas a partir de vários pontos do espectro por meio das três velocidades:  $IR = (VPS - VDF / VPS)$  e  $IP = (VPS - VDF / TAMV)$ . O IR indica a resistência ao fluxo sanguíneo que pode ser gerada por aumento da viscosidade sanguínea, redução do diâmetro do vaso ou por vasos muito compridos. Já o IP indica a pulsatilidade da forma de onda (Guinther e Utt, 2004; Wood et al., 2010).

Os índices Doppler independem do ângulo de insonação e, portanto, são utilizados em artérias pouco calibrosas ou muito tortuosas, no qual fica mais difícil estimar o ângulo. O aumento de IR e IP aponta redução da perfusão ao tecido ou órgão, sendo o IR mais sensível e por isso já vêm sendo utilizado no diagnóstico de transtornos do fluxo sanguíneo testicular em humanos (Biagiotti et al., 2002).

O fluxo sanguíneo com alto IR e IP gera um espectro normalmente com formato de ondas de padrão bifásico e resistivo. As ondas resistivas podem ser caracterizadas por picos sistólicos mais afilados, grande diferença entre sístole e diástole, fluxo sanguíneo reverso no início da diástole e até ausência de diástole. Já um fluxo sanguíneo com baixo IR e IP

geralmente é caracterizado por formato de ondas não-resistivo e de padrão monofásico, no qual apresentam picos sistólicos amplos e contínuos e alta velocidade de fluxo na diástole, sendo a velocidade decrescente (Cerri et al., 1998; Pozor, 2004; Szatmári et al., 2001).

Nos garanhões, a artéria testicular é geralmente avaliada no cordão espermático (artéria suprategicular), e/ou no pólo caudal do testículo (artéria capsular ou marginal) e/ou no parênquima testicular (artéria intrategicular) (FIGURA 5). Entretanto, é mais facilmente visualizada na região do cordão quando comparado ao ramo marginal, em função do maior calibre (Pozor et al., 2014).



**Figura 5:** Desenho esquemático da artéria testicular com ênfase nas três regiões de avaliação com o Doppler espectral e orientação do transdutor. 1) Cordão espermático: artéria suprategicular; 2) Próximo à cauda do epidídimo: artéria capsular e, 3) dentro do parênquima: artéria intrategicular. Fonte: Modificado de “Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography,” O.J. Ginther.

#### 4.5 Parâmetros Doppler na avaliação da função testicular

Os equinos são normalmente selecionados para criação com base em sua linhagem, capacidade atlética e outras características fenotípicas. Desse modo, o potencial reprodutivo é geralmente deixado em segundo plano e a seleção para uma boa fertilidade não é tão rigorosa quanto em outras espécies, como é o caso dos bovinos (Menzies, 1999). Portanto, os garanhões geralmente apresentam índices de fertilidade inferiores em relação às demais espécies domésticas (Ginther et al., 1985).

O suprimento sanguíneo adequado para os testículos é determinante para sua função, e de fato, os insultos vasculares são uma das causas mais comuns de subfertilidade, podendo afetar o volume testicular e a produção espermática (Ortega-Ferrusola et al., 2014; Ortiz-

Rodriguez et al., 2017).

A identificação precoce dessas falhas na perfusão sanguínea para os testículos é essencial para o diagnóstico de distúrbios testiculares, e para monitoramento dos resultados terapêuticos (Ortega-Ferrusola et al., 2014). Diante desse fato, alguns estudos foram realizados em diferentes espécies a fim de avaliar a relação dos índices Doppler (IR e IP) com os parâmetros relativos à funcionalidade testicular (Pinggera et al., 2008; Zelli et al., 2013; Pozor et al., 2014).

No estudo de Zelli et al. (2013) os resultados apontaram os índices Doppler como potenciais marcadores da qualidade seminal em cães, com correlação negativa entre IR e IP com os parâmetros de motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e integridade de membrana. Nos ganhões, as correlações também foram negativas entre IR e IP com volume testicular, número total de espermatozoides e o número total de espermatozoides morfológicamente normais com MP (Pozor et al., 2014; Ortega-Ferrusola et al., 2014; Ortiz-Rodriguez et al., 2017), e espermatozoides com alta atividade mitocondrial após 24 e 48 hrs a 5°C (Ortiz-Rodriguez et al., 2017). Além disso, os índices Doppler foram positivamente correlacionados com o nível de FSH no sangue (Pozor et al., 2014).

Altas concentrações plasmáticas de FSH são observadas em ganhões com subfertilidade ou infertilidade idiopática, decorrente da disfunção das células de Sertoli, com consequente falha no processo de *feedback* regulatório do FSH (Roser, 1995). Desse modo, o ensaio de FSH é muito utilizado para determinar disfunção testicular nessa espécie, entretanto, as avaliações da função testicular a partir do Doppler espectral por meio dos resultados de IR e IP têm a vantagem de proporcionar diagnóstico mais rápido (Pozor et al., 2014).

#### **4.6 Parâmetros Doppler na avaliação de afecções reprodutivas**

Vários fatores podem comprometer a função reprodutiva do macho, desde afecções indiretas que impeçam a monta, como desordens no sistema locomotor, até disfunções que comprometam diretamente a qualidade seminal, como as desordens vasculares (Bicudo et al., 2007).

A modalidade Doppler espectral têm se mostrado uma técnica efetiva para complementar o diagnóstico de afecções reprodutivas e caracteriza uma forma alternativa aos métodos de rotina mais lentos e laboriosos (Pozor et al., 2014). Nesse contexto, além de bons

marcadores da espermatogênese (Biagiotti et al., 2002), os índices Doppler foram considerados indicadores confiáveis para identificar distúrbios reprodutivos (Pinggera et al., 2008). Pinggera et al. (2008) relataram que homens oligospérmicos apresentaram IR mais elevado (IR médio = 0,7) quando comparado a homens com contagem normal de espermatozoides (IR médio = 0,5).

Ademais, o IR juntamente com o VPS são úteis para diferenciar azoospermia obstrutiva da não obstrutiva em homens, com valores inferiores nos casos de azoospermia não obstrutiva. Porém, como as velocidades VPS e VDF dependem do ângulo de insonação para serem calculadas e, portanto, exige uma avaliação mais cuidadosa, o IR surge como alternativa rápida e eficaz (Biagiotti et al., 2002; Pinggera et al., 2008).

O estudo de Ortiz-Rodriguez e colaboradores (2017) descreveu a redução no fluxo sanguíneo testicular dos garanhões subférteis, com redução significativa no diâmetro da artéria capsular (0,32mm vs 0,25mm). No qual, esses garanhões subférteis apresentaram valores inferiores de todas as velocidades Doppler (VPS, VDF, TAMV) em relação a garanhões férteis.

Geralmente os parâmetros utilizados para prever disfunções reprodutivas são a eficiência espermática ( $DSOr$  (real) /  $DSOe$  (esperada)) e o volume testicular ( $VT$ :  $0,53 \times$  altura  $\times$  comprimento  $\times$  largura ( $cm^3$ )), no qual o termo DSO corresponde ao número de espermatozoides que um garanhão pode produzir diariamente. De fato, foram encontradas diferenças significativas no VT,  $DSOr$  e  $DSOe$  entre grupos férteis e subférteis (Ortiz-Rodriguez et al., 2017). Entretanto, esses parâmetros são indicadores inespecíficos e tardios, e quando a baixa eficiência espermática é notada, juntamente com alta porcentagem de espermatozoides anormais e redução do tamanho testicular, geralmente o dano ao testículo é relevante, com processos degenerativos já instalados (Turner, 2007; Ortiz-Rodriguez et al., 2017).

Desse modo, o Doppler espectral representa uma possibilidade de diagnóstico precoce das patologias reprodutivas associadas com alteração do fluxo sanguíneo, como torção do cordão espermático, hidrocele, varicocele, alterações inflamatórias testiculares/escrotais e neoplasias, possibilitando a intervenção com tratamento mais adequado e com melhores prognósticos (Ortiz-Rodriguez et al., 2017).

#### 4.6.1 Torção do cordão espermático

Anatomicamente, como já descrito, os testículos são sustentados pelo cordão

espermático e possuem certa mobilidade dentro da bolsa escrotal. No entanto, uma mobilidade excessiva do testículo pode levar a uma rotação deste em torno do seu eixo vertical, de modo a estrangular o cordão, o que reduz ou cessa a perfusão sanguínea ao órgão (Filho e Oliveira, 2012).

Há duas formas de torção do cordão espermático, a extravaginal, onde todo o cordão se apresenta torcido, e a intravaginal onde os componentes internos do cordão torcem no interior da túnica. Nos equinos normalmente ocorre porque o ligamento próprio do testículo ou ligamento da cauda do epidídimo são maiores do que o normal, e/ou devido ao aumento do reflexo cremastérico, que pode ser o desencadear a torção (Boettcher et al., 2012; Schumacher, 2012).

O aparecimento de sinais clínicos vai depender do grau da torção e do tempo que está instalada. Se o retorno venoso for parcialmente obstruído haverá congestão e edema, em especial do epidídimo. Porém, em casos de obstrução total do retorno venoso a congestão é mais grave podendo ocorrer necrose rapidamente. Em casos de impedimento total do fluxo arterial, há infarto testicular por falta de oxigênio (Ormond, 1930). Torções graves podem causar quadros de hidrocele e hematocele, com conseqüente degeneração testicular (Edwards, 2008).

Torções inferiores a 180° geralmente não causam sinais clínicos evidentes. O fluxo arterial ainda está presente, mas o fluxo venoso é interrompido e a dilatação venosa pode ser observada (Ortega-Ferrusola et al., 2014). Torções de 360° são acompanhadas de dor aguda, semelhante à cólica e aumento do testículo e cordão afetados, representando normalmente uma emergência cirúrgica. A torção de 180° é mais fácil de diagnosticar porque a cauda do epidídimo se localiza na porção cranial do escroto e não na sua posição normal caudo-lateral (FIGURA 6), já na torção de 360° a cauda do epidídimo está na posição habitual, dificultando um pouco mais o diagnóstico.

Pozor e McDonnell (2004) relataram fluxo sanguíneo diastólico retrógrado em garanhões com torção do cordão de 180° e sugeriram que apesar da ausência de sinais clínicos evidentes, essa afecção afeta o fluxo sanguíneo testicular. Em humanos com torção incompleta também foi observado fluxo sanguíneo diastólico retrógrado e aumento do IR (Pavlica e Barozzi, 2001).

Em humanos, um dos tratamentos para a torção do cordão espermático é a realização da detorsão manual por meio de uma rotação medial-lateral do testículo torcido. Quando bem-sucedida essa intervenção o alívio das dores costuma ser imediato, porém, esse alívio pode não

ser confiável já que ainda pode restar algum grau de torção (Sessions et al., 2003). Portanto, a detorsão manual pode ser realizada para reduzir a isquemia, mas não substitui a exploração escrotal e orquidopexia (Ta et al, 2016). A exploração escrotal pode ser realizada nos casos de pacientes com dores agudas sugestivas de torção do cordão espermático com finalidade diagnóstica, seguida de detorsão e orquidopexia. A orquidopexia consiste na fixação dos testículos a partir de suturas com fios absorvíveis nos pólos cranial e caudal do testículo através da túnica albugínea e túnica dartus (Sessions et al., 2003; Schumacher, 2012). Entretanto, quando o testículo torcido já apresenta sinais de necrose é realizada a oquiectomia para prevenir maiores complicações e evitar o acometimento da espermatogênese do testículo contralateral (John et al., 2008). Nos garanhões normalmente não são realizadas intervenções nos casos de torção do cordão espermático, talvez por falta de informações a respeito das consequências dessa afecção. Porém, foi descrito por Schumacher (2012) a possibilidade de realização, assim como nos humanos, da orquidopexia nos casos de torção unilateral afim de preservar o testículo contralateral.



**Figura 6:** Torção do cordão espermático de 180°. Em destaque (círculo branco pontilhado) a cauda do epidídimo na posição cranial do escroto. Fonte: Arquivo pessoal.

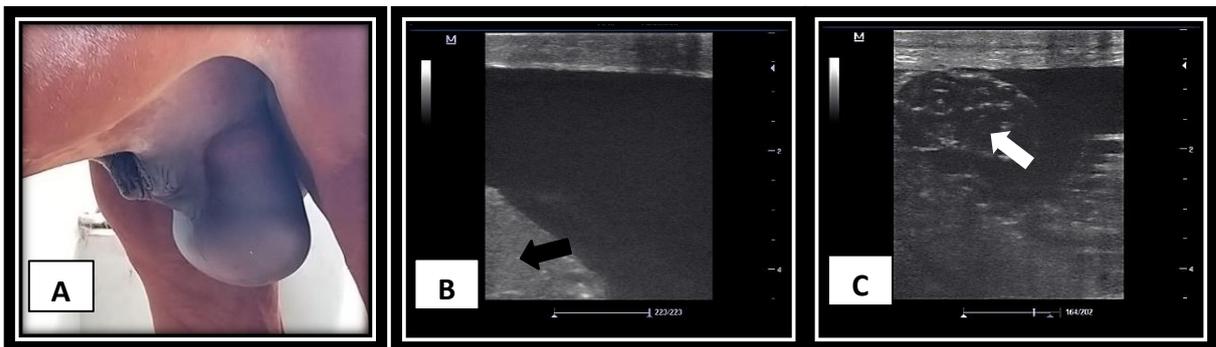
#### 4.6.2 Hidrocele

A hidrocele é o acúmulo não fisiológico de fluido seroso entre os folhetos da túnica vaginal (FIGURA 7). Pode ser do tipo comunicante, quando o processo vaginal está patente e permite a comunicação do líquido peritoneal com o escroto. Portanto, há fluxo de líquido em ambas as direções e o acúmulo de fluido é variável, aumentando ou diminuindo de acordo com o grau de esforço ou repouso. E não comunicante, quando ocorre apenas no escroto e o fluido

surge do revestimento mesotelial da túnica vaginal. Nesse caso, o canal está fechado mas o fluido não foi reabsorvido, é o tipo mais comum e geralmente de resolução espontânea (Wallace e Amaya, 2011; Kryger, 2018).

A hidrocele pode ser observada em garanhões estabelecidos por longos períodos ou em garanhões após a estação reprodutiva que tiveram atividade sexual intensa, sendo geralmente resolvidas espontaneamente ou após exercício (Schumacher, 2012; Ortega-Ferrusola et al., 2014). No entanto, alguns casos podem ser consequências de patologias primárias, como orquite, epididimite, neoplasias testiculares, torção do cordão espermático e traumas. Nesses casos, o tratamento está relacionado em remover a causa primária. Entretanto, quando não identificada a causa, em casos de hidrocele unilateral persistente pode ser realizada a remoção do testículo e da túnica vaginal, antes que afete a espermatogênese do testículo contralateral. Já em hidroceles bilaterais persistentes o prognóstico reprodutivo é mais reservado (Schumacher, 2012).

No estudo de Pozor e McDonnel (2004) casos leves e moderados de hidrocele não afetaram a perfusão sanguínea testicular. No entanto, em um caso grave com quantidade considerável de fluido circundando o testículo e cordão espermático foi evidente um fluxo sanguíneo turbulento próximo ao cordão. Em humanos foi reportado aumento de IR e IP nos casos de hidrocele unilateral e idiopática (não-comunicante e não-congênita) (Nishikawa, 1959), já em garanhões são escassos os estudos da relação dessa afecção com os parâmetros doppler.



**Figura 7:** Quadro de hidrocele bilateral evidenciando o edema testicular com perda do contorno do órgão (A). Imagem ultrassonográfica do acúmulo de fluido anecogênico ao redor do testículo (testículo=seta preta) (B) e do epidídimo (epidídimo=seta branca) (C). Arquivo pessoal.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Animais

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA/Universidade Federal de Minas Gerais, nº 277/2019.

Foram avaliados 52 garanhões da raça Mangalarga Marchador, de diferentes faixas etárias (30 meses a 22 anos), e para cada garanhão foram avaliados os dois testículos. A partir do histórico e exame físico foram excluídos das análises os animais que apresentaram anormalidades físicas ou reprodutivas diferentes de torção do cordão espermático, sendo dessa forma, escolhidos apenas animais hípidos, que não apresentaram nenhum tipo de manifestação clínica nos três meses anteriores à avaliação, e animais com torção do cordão espermático. Destes, foram selecionados 10 garanhões jovens normais (JN) (30 meses a quatro anos), 10 adultos normais (AN) (seis a nove anos) e 10 idosos normais (IN) (10 a 22 anos). E para compôr o grupo de animais com torção do cordão espermático foram selecionados 10 garanhões jovens (JT) (30 meses a quatro anos) e oito garanhões adultos (AT) (seis a nove anos), todos com grau de torção de 180°. O grupo de JT era composto por cinco animais com torção bilateral (TB) e cinco com torção unilateral (TU), e no grupo de AT sete dos garanhões possuíam TU e um TB. Além disso, foram avaliados separadamente quatro animais com quadro de hidrocele moderada a grave, duas do lado esquerdo, uma do lado direito e uma bilateral.

Para realização dos exames os garanhões foram contidos com cabresto e guia em tronco de contenção, sem necessidade de sedação, e as avaliações de ambos os testículos foram realizadas pelo lado esquerdo do animal. Foram avaliados durante a estação reprodutiva para excluir qualquer interferência da sazonalidade.

### 5.2 Exame Físico dos animais

Antes de cada exame ultrassonográfico foi realizada a anamnese, incluindo informações sobre a fertilidade de cada garanhão, como histórico de doenças reprodutivas anteriores. Na sequência, realizou-se a aferição da temperatura retal, seguida do exame físico específico do aparelho reprodutor, no qual foi realizada a inspeção do prepúcio e escroto, com avaliação da pele e mucosa, descartando a presença de feridas, cicatrizes, edemas, aderências e sensibilidade

dolorosa. Ademais, realizou-se o exame testicular, sendo considerados normais os testículos de formato ovóide, consistência fibroelástica entre 2,5 e 4,5, posição horizontal, simétricos entre si, móveis para todas as direções quando manipulados e com ausência de sensibilidade dolorosa ao toque. Posteriormente, os epidídimos foram avaliados quanto ao tamanho e localização, pela qual foi realizada a separação dos grupos: animais normais (cauda do epidídimo em posição caudal) e animais com torção de 180° do cordão espermático (cauda do epidídimo em posição cranial) (Love, 1992).

### 5.3 Volume testicular

As medidas testiculares (altura, largura e comprimento), de ambos os testículos, foram mensuradas por meio de paquímetro por um único operador afim de evitar variação (FIGURA 8). As pontas do paquímetro foram revestidas com fita crepe adesiva para reduzir o incômodo aos animais. Em sequência, foi calculado o volume testicular através da fórmula:  $VT (cm^3): 0,53 \times \text{altura} \times \text{comprimento} \times \text{largura}$  e o volume testicular total (VTT) a partir da soma do volume do testículo direito e esquerdo ( $VTT = VTD + VTE$ ) (Turner, 2005).



**Figura 8:** Execução da mensuração das medidas testiculares (altura, largura e comprimento) de cada testículo (A), utilizando um paquímetro manual universal de plástico (150 mm) (B). Fonte: Arquivo pessoal.

## 5.4 Exame ultrassonográfico

### 5.4.1 Equipamento

Para avaliação da hemodinâmica da artéria testicular dos garanhões foi realizada a Dopplervelocimetria através do aparelho da marca MINDRAY®, modelo M5, com transdutor linear multifrequencial MINDRAY® - 7L4S. O aparelho foi calibrado numa frequência de 5 MHz. Todos os exames de ultrassonografia foram realizados também por um único operador.

### 5.4.2 Avaliação ultrassonográfica- modo B

Após cobrir o transdutor e a região escrotal com gel acústico, a ultrassonografia bidimensional (modo B) foi utilizada antes do Doppler visando avaliar os epidídimos, testículos e cordão espermático, afim de descartar qualquer anormalidade. Os testículos foram escaneados da região cranial para a caudal com o transdutor na posição vertical em relação ao eixo testicular (plano transversal) para avaliação da ecotextura do parênquima testicular, de modo que, testículos normais apresentaram textura homogênea, com ausência de pontos hiperecóticos.

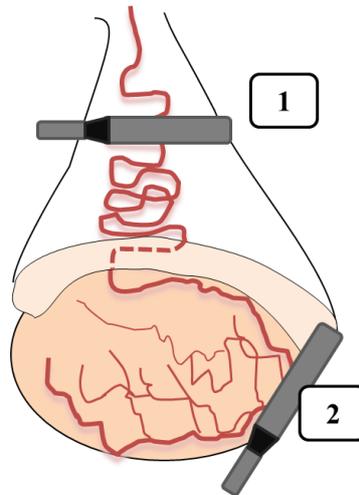
Para melhor avaliação do cordão espermático, o transdutor foi posicionado na posição horizontal em relação ao eixo do testículo, no qual avaliou-se as características esperadas para a artéria e veias testiculares.

Os epidídimos foram avaliados quanto ao conteúdo e ecotextura. Para esta análise o transdutor foi posicionado na região caudal dos testículos, com os feixes direcionados cranialmente. A ecogenicidade de epidídimos normais varia de anecóica a hipocóica em relação aos testículos, sendo desse modo facilmente diferidos do parênquima testicular.

### 5.4.3 Avaliação ultrassonográfica- Doppler

Foi realizada a análise do fluxo sanguíneo da artéria testicular pelo Doppler colorido com a finalidade de prever a qualidade, a presença e a direção do fluxo (Szatmári et al., 2001). Em seguida, foi ativado o modo espectral para avaliação da artéria testicular nas regiões do cordão espermático, a artéria supratesticular (Supra), e no pólo caudal do testículo, a artéria capsular (Cap). Para as duas regiões foram avaliados ambos os lados (direito e esquerdo) (FIGURA 9). Em relação a artéria intratesticular, devido ao seu pequeno calibre no interior do

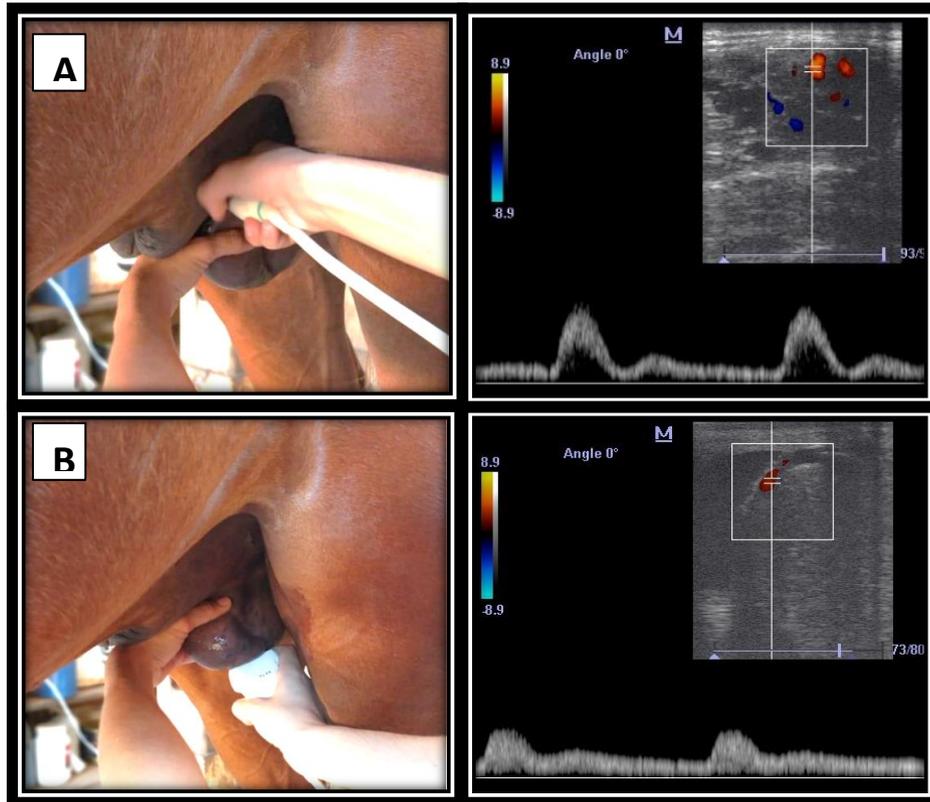
parênquima, com o equipamento utilizado não foi possível avaliá-la neste experimento.



**Figura 9:** Desenho esquemático da artéria testicular com ênfase nas duas regiões avaliadas com o Doppler espectral e orientação do transdutor. 1) Cordão espermático: artéria supratesticular; 2) Próximo à cauda do epidídimo: artéria capsular. Fonte: Modificado de “Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography,” O.J. Ginther.

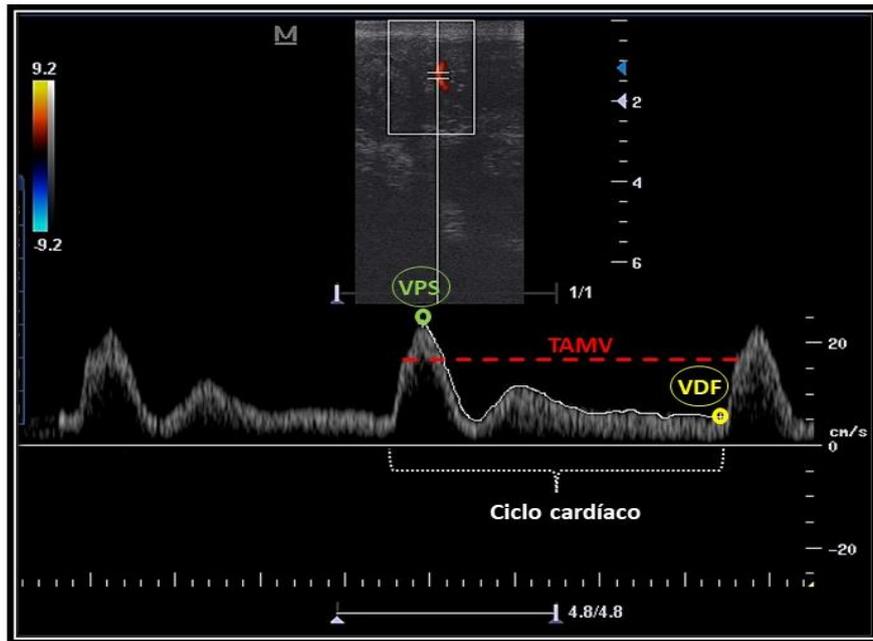
Para análise da artéria supratesticular o transdutor foi posicionado horizontalmente, perpendicular ao cordão espermático, na região mais distal, 2 a 5 centímetros (cm) do testículo (FIGURA 10A). O exame da artéria capsular foi realizado com o transdutor sob o pólo caudal dos testículos, na posição caudo-dorsal (FIGURA 10B). O volume de amostra (SV) utilizado no Doppler espectral foi entre 1,0 e 1,5 milímetro, no qual era definido de acordo com o calibre do vaso avaliado, sendo na maioria dos casos, 1,5 mm para a artéria na região do cordão espermático que possui maior calibre e 1,0 mm para a artéria testicular na região marginal do testículo.

No campo de amostragem foram priorizadas para análise porções da artéria com maior calibre, oblíquas ou longitudinais ao transdutor, com mínima variação de cor no color Doppler e evitou-se vasos sobrepostos ou com formação de artefatos. Em todas as avaliações, no mínimo três ondas espectrais consecutivas com o mesmo padrão foram avaliadas quantitativamente. Foram coletadas pelo menos duas imagens tecnicamente adequadas de cada local examinado, no qual foram armazenadas e avaliadas posteriormente.



**Figura 10:** Esquema demonstrando o posicionamento do transdutor nas duas regiões avaliadas da artéria testicular com Doppler espectral (artéria suprategicular e capsular) e a imagem ultrassonográfica equivalente. A) Artéria suprategicular: transdutor posicionado horizontalmente, perpendicular ao cordão espermático, na região mais distal, 2-5 cm do testículo. B) Artéria capsular: transdutor sob o pólo caudal dos testículos, na posição caudo-dorsal, próximo à cauda do epidídimo. Fonte: Arquivo pessoal.

Para caracterizar as velocidades e os índices Doppler utilizou-se o padrão de medição manual das ondas, no qual os valores para IR, IP, VPS, VDF e TAMV foram sequencialmente calculados através do software vascular do aparelho para todos os garanhões. O VPS corresponde ao valor máximo no decorrer do espectro, VDF representa a velocidade final de um ciclo cardíaco, TAMV é a média dos valores máximos durante todo gráfico (FIGURA 11) e os índices são calculados a partir das três velocidades por meio das fórmulas:  $IR = (VPS - VDF / VPS)$  e  $IP = (VPS - VDF / TAMV)$ .



**Figura 11:** Espectro da velocidade do fluxo sanguíneo ao longo de um ciclo cardíaco da artéria testicular, com destaque para os valores de velocidade do pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF) e tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Fonte: Arquivo pessoal.

## 5.5 Análise estatística

Para testar os efeitos grupos, lado e idade, foram ajustados modelos lineares mistos que são adequados a dados com medidas repetidas no mesmo indivíduo (Brown e Prescott, 2015). Foi ajustado um modelo separado para cada variável resposta mensurada, ajustando-se um intercepto aleatório para cada animal da amostra. Após o ajuste do modelo, testou-se o efeito de cada fator separadamente de forma global (*overall*), assim como o efeito da interação entre os fatores (para o caso em que foram analisados dois fatores conjuntamente). Em seguida, calcularam-se os valores médios e seus respectivos intervalos de 95% de confiança para cada grupo. Por fim, foram aplicados os testes de comparações múltiplas (*pairwise*) utilizando-se a correção de Sidak, para identificar possíveis diferenças par-a-par. A adequação à distribuição normal foi avaliada através de envelopes de probabilidade (Moral et al., 2017). Para avaliar a correlação entre as medidas supra e cap e entre o volume testicular e os índices, foi calculado o coeficiente de correlação linear de Pearson. Além disso, foram calculadas as diferenças pareadas entre as médias supra e cap para a mesma variável e esta diferença foi avaliada através de modelos lineares mistos como descrito anteriormente. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019). Para todos os resultados dos testes estatísticos apresentados neste trabalho assumiu-se um nível de significância de 5%.

## 6. RESULTADOS

Foram avaliados neste experimento 104 testículos de 52 garanhões, levando em consideração testículos normais, torcidos e contralaterais à testículos torcidos. De modo que, foram considerados testículos normais apenas os pertencentes a animais normais (sem nenhuma afecção). Quatro animais foram excluídos da análise dos intervalos de referência (normais e com torção) por apresentarem quadros de hidrocele moderada a grave podendo influenciar nos resultados, sendo portanto, avaliados separadamente.

As tabelas 1 e 2 expressam os valores médios dos parâmetros Doppler encontrados na artéria suprategicular e na artéria capsular, respectivamente, para cada faixa etária de animais normais, considerando ambos os lados separadamente (direito e esquerdo). As medidas para a artéria testicular direita e esquerda de um mesmo animal foram semelhantes para todas as variáveis estudadas ( $P > 0,05$ ) (teste t pareado). Já ao comparar as faixas etárias foram observadas variações entre os lados ( $P < 0,05$ ). As tabelas 3 e 4 também expressam as medidas Doppler para as três faixas etárias de animais normais, na artéria suprategicular e capsular, respectivamente, mas neste caso levando em consideração a média dos dois testículos.

A tabela 5 reúne os valores médios dos parâmetros Doppler encontrados na artéria suprategicular e na artéria capsular de testículos torcidos e testículos contralaterais, de garanhões jovens e adultos com torção do cordão espermático de  $180^\circ$ .

Os padrões de formato de ondas obtidos da artéria testicular na região do cordão espermático (artéria suprategicular) e na região marginal do testículo (artéria capsular) estão representados nas figuras 12 e 13, respectivamente. De modo que, o formato de ondas da artéria suprategicular variou de não-resistivo a resistivo, entretanto, a maioria das ondas neste local apresentaram padrão resistivo e bifásico. Já na artéria capsular o formato de ondas foi majoritariamente não-resistivo e monofásico.

**Tabela 1:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de ganhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para cada lado da artéria suprategesticular.

| Artéria Suprategesticular (Supra) |                           |                           |                           |                           |                           |                           |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| VARIÁVEL                          | JN                        |                           | AN                        |                           | IN                        |                           |
|                                   | DIR                       | ESQ                       | DIR                       | ESQ                       | DIR                       | ESQ                       |
| IR                                | 0,80 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 0,84 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 0,77 ± 0,04 <sup>a</sup>  | 0,81 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 0,80 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 0,84 ± 0,06 <sup>a</sup>  |
| IP                                | 2,23 ± 0,84 <sup>a</sup>  | 2,38 ± 0,53 <sup>ab</sup> | 1,75 ± 0,30 <sup>a</sup>  | 2,47 ± 1,02 <sup>ab</sup> | 2,52 ± 0,80 <sup>ab</sup> | 2,91 ± 0,59 <sup>b</sup>  |
| VPS                               | 22,54 ± 8,39 <sup>a</sup> | 24,15 ± 5,33 <sup>a</sup> | 20,74 ± 4,12 <sup>a</sup> | 24,76 ± 3,49 <sup>a</sup> | 25,45 ± 5,75 <sup>a</sup> | 26,95 ± 5,39 <sup>a</sup> |
| VDF                               | 4,47 ± 1,82 <sup>a</sup>  | 3,74 ± 1,46 <sup>a</sup>  | 4,78 ± 0,93 <sup>a</sup>  | 4,63 ± 2,06 <sup>a</sup>  | 4,82 ± 1,55 <sup>a</sup>  | 4,28 ± 1,41 <sup>a</sup>  |
| TAMV                              | 8,52 ± 2,55 <sup>a</sup>  | 8,75 ± 2,20 <sup>a</sup>  | 9,08 ± 1,35 <sup>a</sup>  | 8,54 ± 2,31 <sup>a</sup>  | 8,51 ± 1,88 <sup>a</sup>  | 7,93 ± 1,68 <sup>a</sup>  |

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (P<0,05). JN= Jovens Normais, AN= Adultos normais, IN= Idosos normais, IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima, DIR= Lado direito, ESQ= Lado esquerdo.

**Tabela 2:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de ganhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para cada lado da artéria capsular.

| Artéria Capsular (Cap) |                           |                           |                           |                           |                           |                           |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| VARIÁVEL               | JN                        |                           | AN                        |                           | IN                        |                           |
|                        | DIR                       | ESQ                       | DIR                       | ESQ                       | DIR                       | ESQ                       |
| IR                     | 0,66 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 0,68 ± 0,06 <sup>a</sup>  | 0,66 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 0,69 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 0,67 ± 0,09 <sup>a</sup>  | 0,65 ± 0,11 <sup>a</sup>  |
| IP                     | 1,26 ± 0,34 <sup>a</sup>  | 1,32 ± 0,21 <sup>a</sup>  | 1,22 ± 0,41 <sup>a</sup>  | 1,58 ± 0,75 <sup>a</sup>  | 1,35 ± 0,32 <sup>a</sup>  | 1,39 ± 0,44 <sup>a</sup>  |
| VPS                    | 15,07 ± 3,95 <sup>a</sup> | 17,43 ± 2,59 <sup>a</sup> | 16,42 ± 3,54 <sup>a</sup> | 17,62 ± 4,50 <sup>a</sup> | 15,38 ± 2,47 <sup>a</sup> | 15,30 ± 2,73 <sup>a</sup> |
| VDF                    | 4,82 ± 1,02 <sup>a</sup>  | 5,55 ± 1,12 <sup>a</sup>  | 5,77 ± 1,49 <sup>a</sup>  | 5,17 ± 1,25 <sup>a</sup>  | 5,05 ± 1,43 <sup>a</sup>  | 5,42 ± 2,00 <sup>a</sup>  |
| TAMV                   | 8,00 ± 1,46 <sup>a</sup>  | 9,04 ± 1,36 <sup>a</sup>  | 8,78 ± 1,75 <sup>a</sup>  | 8,15 ± 1,72 <sup>a</sup>  | 7,73 ± 1,53 <sup>a</sup>  | 7,77 ± 2,13 <sup>a</sup>  |

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (P<0,05). JN= Jovens Normais, AN= Adultos normais, IN= Idosos normais, IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima, DIR= Lado direito, ESQ= Lado esquerdo.

**Tabela 3:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de ganhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para ambos os testículos (média dos dois testículos), na artéria suprategesticular.

| Artéria Suprategesticular (Supra) |                           |                            |                           |
|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| VARIÁVEL                          | JN                        | AN                         | IN                        |
| IR                                | 0,82 ± 0,08 <sup>a</sup>  | 0,79 ± 0,07 <sup>a</sup>   | 0,82 ± 0,06 <sup>a</sup>  |
| IP                                | 2,31 ± 0,68 <sup>a</sup>  | 2,10 ± 0,81 <sup>a</sup>   | 2,71 ± 0,71 <sup>a</sup>  |
| VPS                               | 23,43 ± 6,79 <sup>a</sup> | 22,68 ± 4,28 <sup>ab</sup> | 26,20 ± 5,49 <sup>b</sup> |
| VDF                               | 4,07 ± 1,64 <sup>a</sup>  | 4,71 ± 1,55 <sup>a</sup>   | 4,55 ± 1,47 <sup>a</sup>  |
| TAMV                              | 8,65 ± 2,33 <sup>a</sup>  | 8,82 ± 1,86 <sup>a</sup>   | 8,22 ± 1,76 <sup>a</sup>  |

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (P<0,05). JN= Jovens Normais, AN= Adultos normais, IN= Idosos normais, IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima.

**Tabela 4:** Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros Doppler de ganhões normais (n=30) de três faixas etárias diferentes (jovens, adultos e idosos), para ambos os testículos (média dos dois testículos), na artéria capsular.

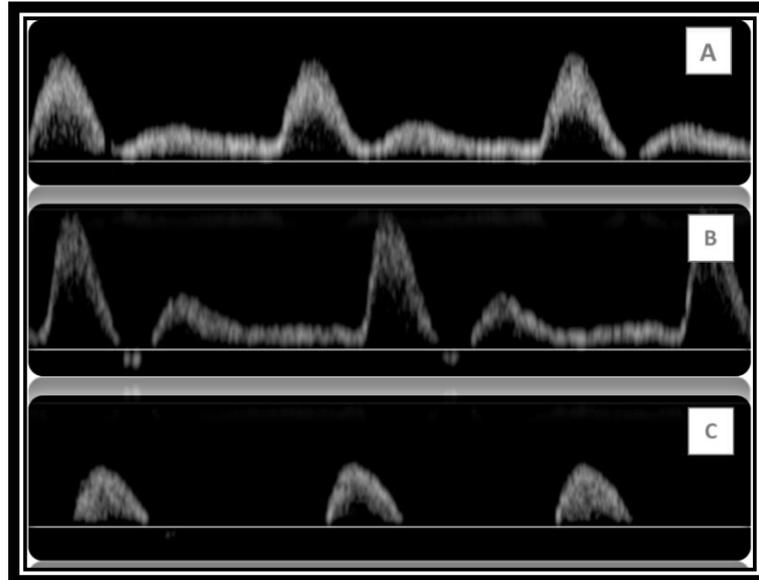
| <b>Artéria Capsular (Cap)</b> |                           |                           |                           |
|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <b>VARIÁVEL</b>               | <b>JN</b>                 | <b>AN</b>                 | <b>IN</b>                 |
| <b>IR</b>                     | 0,67 ± 0,07 <sup>a</sup>  | 0,67 ± 0,10 <sup>a</sup>  | 0,66 ± 0,09 <sup>a</sup>  |
| <b>IP</b>                     | 1,29 ± 0,27 <sup>a</sup>  | 1,40 ± 0,61 <sup>a</sup>  | 1,37 ± 0,38 <sup>a</sup>  |
| <b>VPS</b>                    | 16,37 ± 3,42 <sup>a</sup> | 17,00 ± 4,00 <sup>a</sup> | 15,46 ± 2,31 <sup>a</sup> |
| <b>VDF</b>                    | 5,22 ± 1,12 <sup>a</sup>  | 5,48 ± 1,39 <sup>a</sup>  | 5,24 ± 1,71 <sup>a</sup>  |
| <b>TAMV</b>                   | 8,57 ± 1,47 <sup>a</sup>  | 8,47 ± 1,74 <sup>a</sup>  | 7,75 ± 1,81 <sup>a</sup>  |

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente (P<0,05). JN= Jovens Normais, AN= Adultos normais, IN= Idosos normais, IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima.

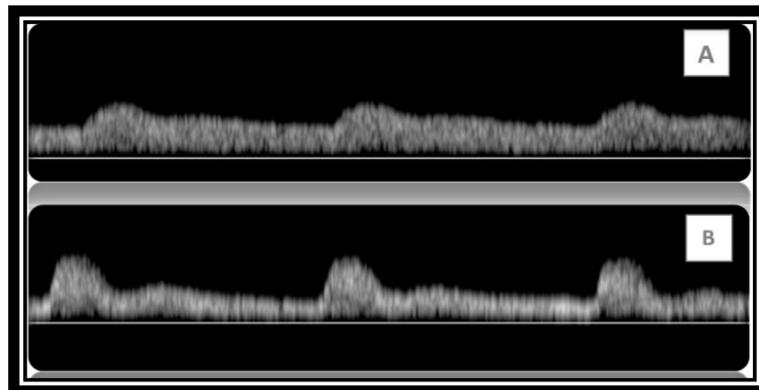
**Tabela 5:** Valores médios dos parâmetros Doppler nas artérias suprategicular e capsular de testículos torcidos e contralaterais, de ganhões jovens e adultos com torção de 180°.

| <b>TORÇÃO DE 180°</b> |                      |                     |                     |                     |
|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                       | <b>JOVENS</b>        |                     | <b>ADULTOS</b>      |                     |
|                       | <b>TT<br/>(n=15)</b> | <b>TC<br/>(n=5)</b> | <b>TT<br/>(n=9)</b> | <b>TC<br/>(n=7)</b> |
| <b>SUPRA</b>          |                      |                     |                     |                     |
| IR                    | 0,73                 | 0,75                | 0,83                | 0,85                |
| IP                    | 1,77                 | 1,83                | 2,41                | 2,82                |
| VPS (cm/s)            | 19,21                | 20,67               | 23,42               | 22,89               |
| VDF (cm/s)            | 4,93                 | 5,01                | 4,04                | 3,08                |
| TAMV (cm/s)           | 8,3                  | 8,84                | 8,41                | 7,48                |
| <b>CAP</b>            |                      |                     |                     |                     |
| IR                    | 0,6                  | 0,61                | 0,67                | 0,63                |
| IP                    | 1,09                 | 1,14                | 1,32                | 1,66                |
| VPS (cm/s)            | 15,63                | 16,69               | 16,2                | 17,1                |
| VDF (cm/s)            | 6,04                 | 6,34                | 5,37                | 5,11                |
| TAMV (cm/s)           | 8,76                 | 9,19                | 8,49                | 7,8                 |

TT= Testículos torcidos, TC= Testículos contralaterais, SUPRA= Artéria suprategicular, CAP= Artéria capsular, IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima.

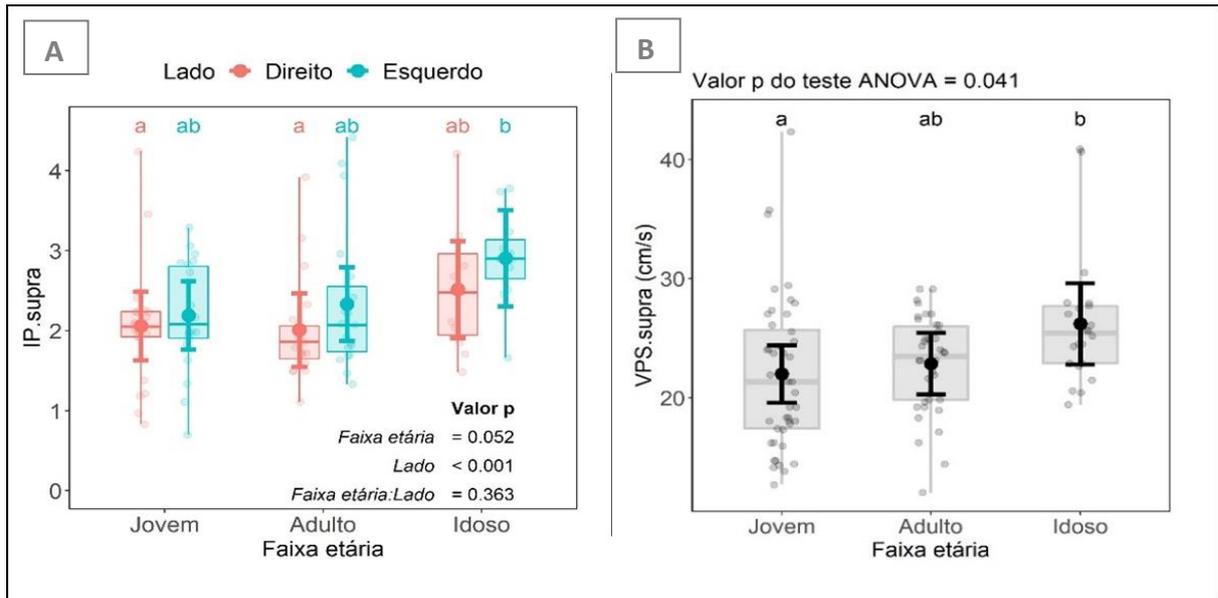


**Figura 12:** Espectros demonstrando os padrões de formato de ondas produzidos na artéria suprastesticular. A) formato de ondas com padrão bifásico e resistivo; B) formato de ondas com padrão trifásico e resistivo (fluxo diastólico retrógrado); C) formato de ondas com padrão monofásico altamente resistivo (ausência de diástole). Fonte: Arquivo pessoal.



**Figura 13:** Espectros demonstrando os padrões de formato de ondas produzidos na artéria capsular. A) formato de ondas com padrão monofásico e não-resistivo; B) formato de ondas com padrão bifásico e não-resistivo. Fonte: Arquivo pessoal.

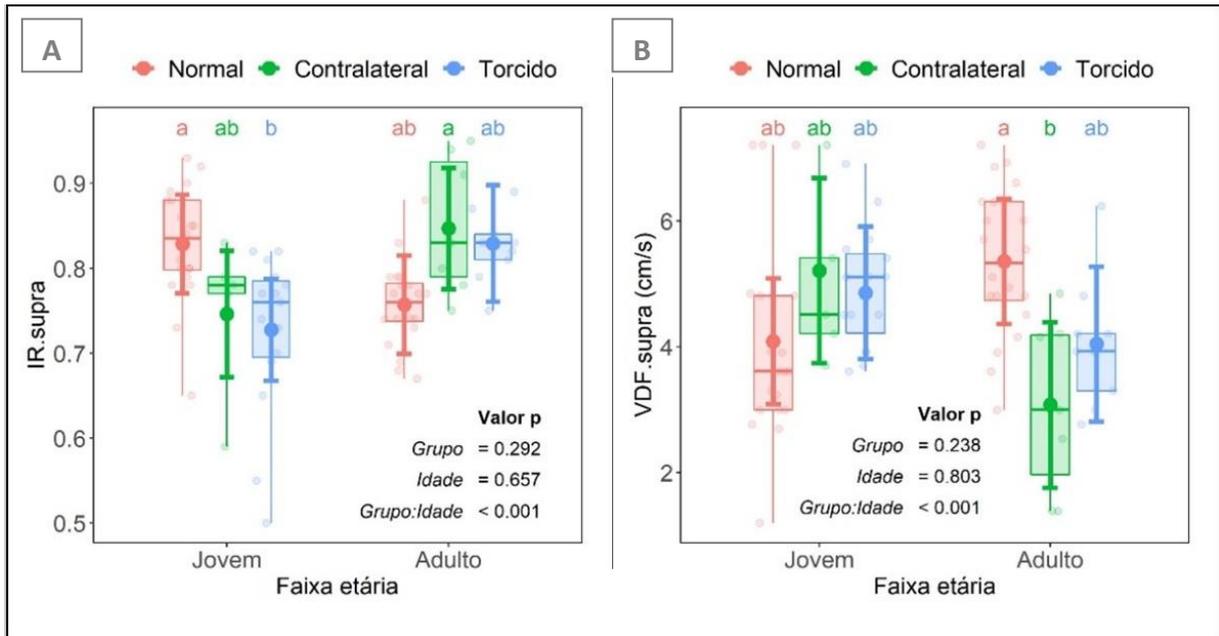
Na análise entre as faixas etárias, os parâmetros IP e VPS na região da artéria suprastesticular apresentaram diferenças significativas. O IP foi maior nos testículos esquerdos de IN em relação aos testículos direitos de JN e AN ( $P < 0,001$ ) (TABELA 1 e FIGURA 14A) e o VPS foi maior no grupo de IN em relação aos JN ( $P < 0,041$ ) (TABELA 3 e FIGURA 14B). Não foi observada nenhuma diferença na região da artéria capsular para nenhuma das variáveis ( $P > 0,05$ ) (TABELA 2 e 4). Em todas as faixas etárias as correlações entre parâmetros Doppler e idade não foram significativas (Pearson R: 0,01-0,30).



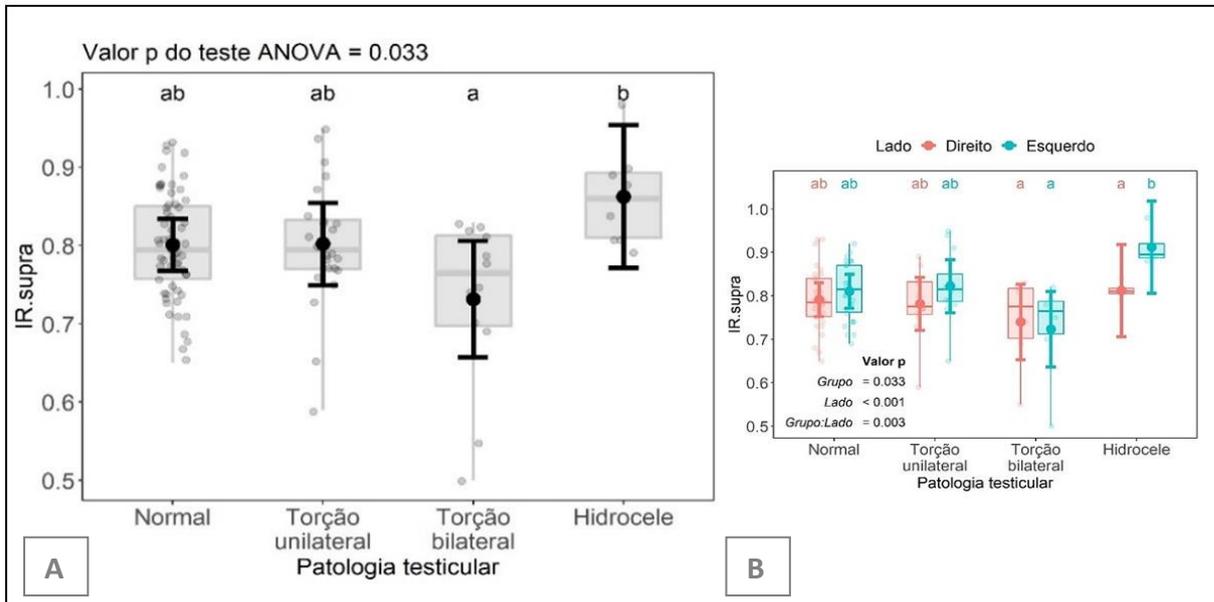
**Figura 14:** Comparação entre testículos normais (direito e esquerdo) e entre faixas etárias (jovens, adultos e idosos) na região da artéria suprarenal (Supra). A: Índice de pulsatilidade (IP); B: Volume de pico sistólico (VPS). Letras diferentes dentro de uma faixa etária ou entre faixas etárias diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

Nos ganhões jovens, ao comparar testículos normais ( $n=20$ ) com testículos torcidos ( $n=15$ ) e contralaterais ( $n=5$ ), os testículos torcidos apresentaram menor IR que os testículos normais na artéria suprarenal ( $P < 0,001$ ) (FIGURA 15A). No grupo de adultos, o valor de VDF foi inferior nos testículos contralaterais ( $n=7$ ) em relação aos testículos normais ( $n=20$ ), também na artéria suprarenal ( $P < 0,001$ ). E ao avaliar os testículos torcidos ( $n=9$ ) dos adultos, houve tendência para valores inferiores de VDF em relação aos testículos normais (FIGURA 15B). Na região da artéria capsular não foi observada nenhuma diferença para nenhuma das variáveis ( $P > 0,05$ ).

Para os quatro casos de hidrocele, as medidas de IR apresentaram-se superiores às medidas de ganhões com torção bilateral do cordão espermático ( $P < 0,033$ ) (FIGURA 16A) e também foram observadas diferenças deste índice entre os lados com hidrocele, com valor superior de IR nos testículos esquerdos, na região da artéria suprarenal ( $P < 0,001$ ) (FIGURA 16B).

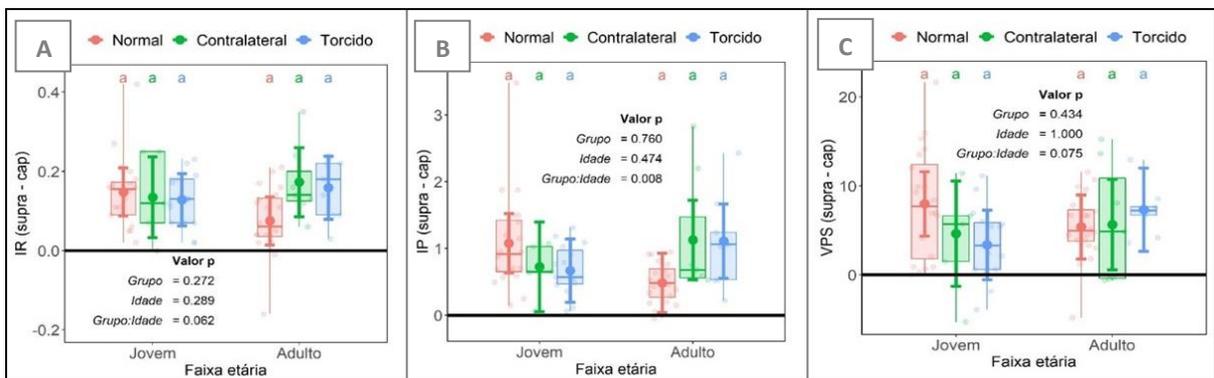


**Figura 15:** Comparação dos parâmetros Doppler de testículos normais, testículos torcidos e contralaterais, de garanhões jovens e adultos, na região da artéria suprategicular (Supra). A: Índice de resistência (IR); B: Velocidade diastólica final (VDF). Letras diferentes dentro de uma faixa etária ou entre faixas etárias diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

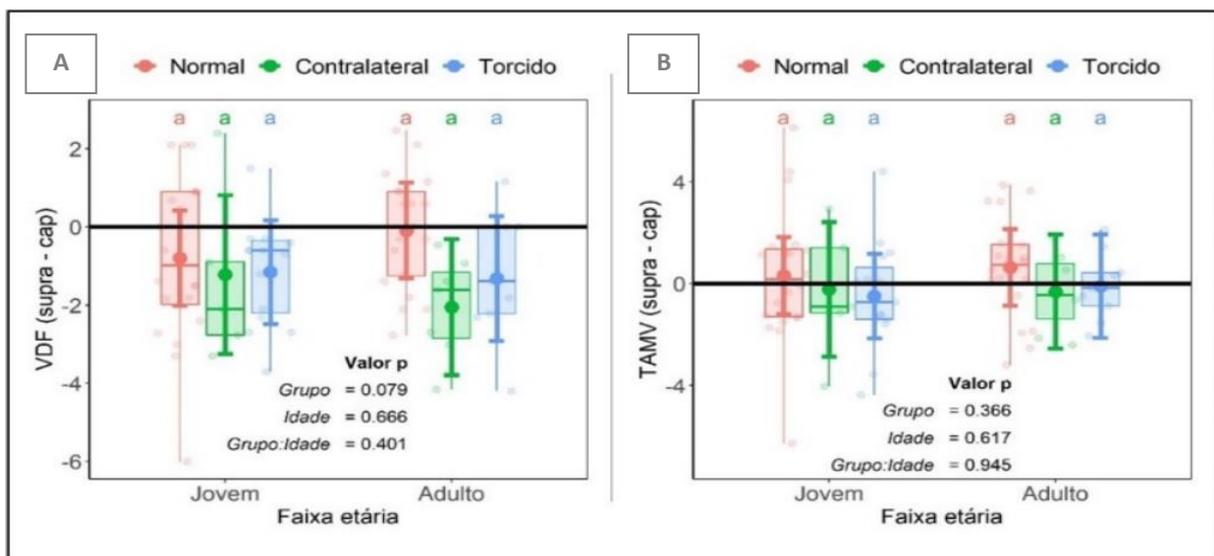


**Figura 16:** Comparação do índice de resistência (IR) na artéria suprategicular entre os grupos de patologia testicular: normal, torção unilateral, torção bilateral e hidrocele. A: entre grupos de patologia; B: entre testículos (direito e esquerdo) dos grupos de patologia avaliados. Letras diferentes entre os grupos e entre testículos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

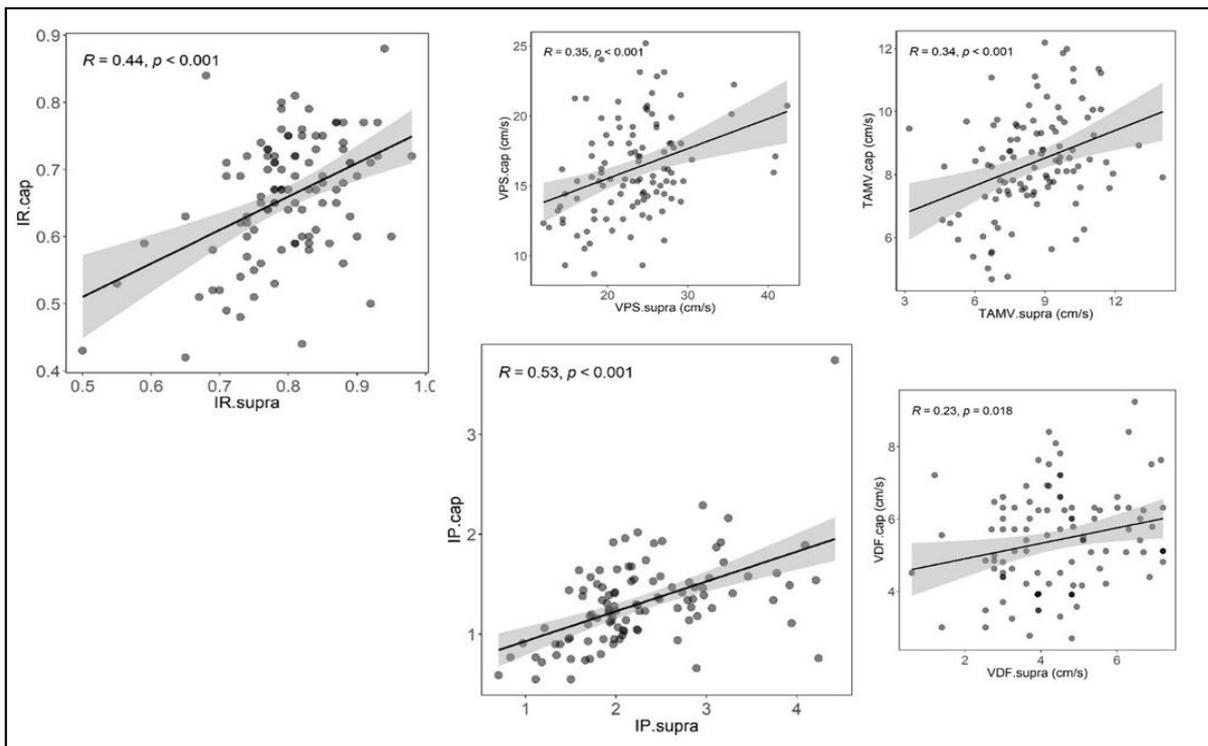
No trajeto da artéria testicular, do cordão espermático (Supra) para o aspecto marginal do testículo (Cap), em todos os grupos (normal, torcido e contralateral) das faixas etárias avaliadas (jovens e adultos), os valores de IR, IP e VPS diminuíram (FIGURA 17). Em contrapartida, VDF aumentou no aspecto marginal em comparação com o aspecto contorcido da artéria testicular (FIGURA 18A). Quanto ao valor de TAMV, tanto Supra quanto Cap forneceram valores similares (FIGURA 18B). As medidas de Supra e Cap foram positivamente correlacionadas, com correlação moderada nos índices IR ( $R=0,44$ ) e IP ( $R=0,53$ ), e fraca nas velocidades VPS ( $R=0,35$ ), VDF ( $R=0,23$ ) e TAMV ( $R=0,34$ ) (FIGURA 19).



**Figura 17:** Análise das diferenças pareadas entre as medidas Supra (suprategesticular) e Cap (capsular) nos parâmetros Doppler realizadas no mesmo testículo. A: Índice de resistência (IR); B: índice de pulsatilidade (IP); C: velocidade de pico sistólico (VPS). Valores acima da linha do zero indicam que as medidas Supra foram maiores que as respectivas medidas Cap.



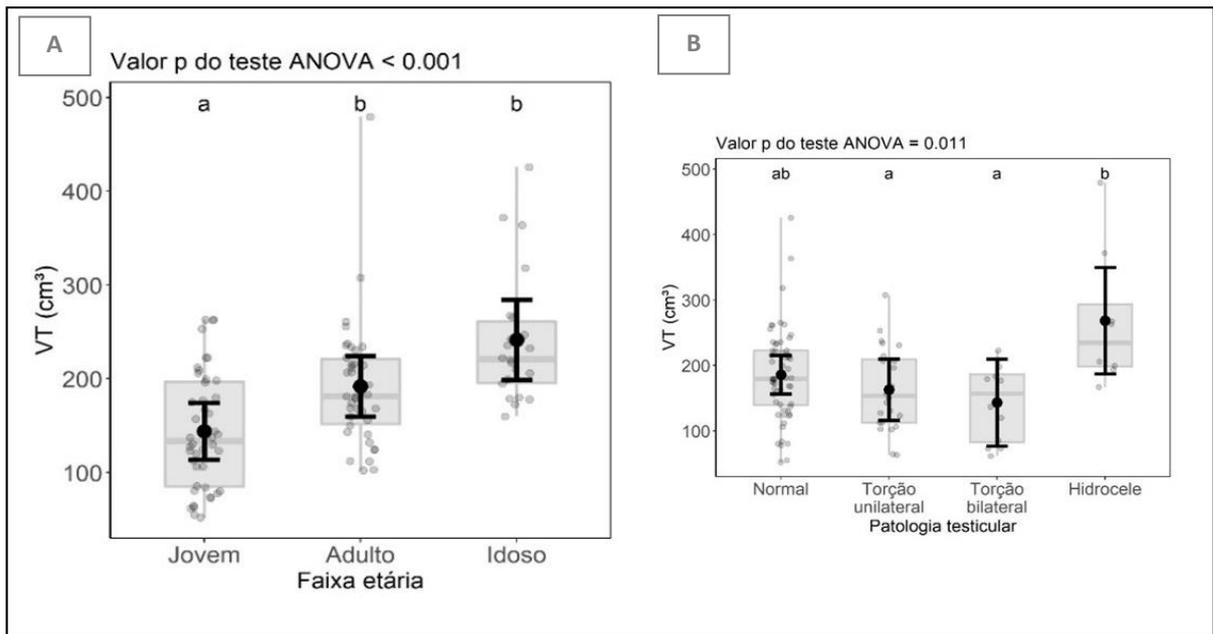
**Figura 18:** Análise das diferenças pareadas entre as medidas Supra (suprategesticular) e Cap (capsular) nos parâmetros Doppler realizadas no mesmo testículo. A: velocidade diastólica final (VDF); B: tempo médio da velocidade máxima (TAMV). Valores abaixo da linha do zero indicam que as medidas Supra foram menores que as respectivas medidas Cap, e valores na região média indicam que as medidas Supra foram iguais as respectivas medidas Cap.



**Figura 19:** Correlação entre as medidas Supra e Cap para os parâmetros Doppler: índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP), velocidade de pico sistólico (VPS), velocidade diastólica final (VDF), tempo médio da velocidade máxima (TAMV).  $P < 0,05$  indica correlação significativa. Quanto mais próximo de 1 for o valor R, sendo positivo ou negativo, mais forte é a evidência de que há correlação entre as variáveis.

Foram observadas diferenças no VTT entre as faixas etárias, com menores valores de VTT para JN quando comparado com AN e IN ( $P=0,001$ ). Já entre AN e IN os valores foram similares ( $P > 0,05$ ) (FIGURA 20A). Também não observou-se diferenças entre os lados para nenhum grupo e faixa etária ( $P > 0,05$ ). Já entre os grupos com hidrocele e os grupos com torção bilateral e unilateral, os valores foram superiores para os ganhões com hidrocele ( $P < 0,01$ ) (FIGURA 20B).

Avaliou-se a correlação entre VTT e os parâmetros Doppler para a faixa etária de jovens até a faixa etária de adultos, ou seja, a fase de crescimento testicular. Observou-se que os valores de IR Cap, IP Supra, IP Cap e VPS Cap foram positivamente correlacionados com VTT nos JN ( $P < 0,03$ ), e os parâmetros IR Supra e VPS Supra foram positivamente correlacionados com VTT tanto nos JN quanto nos AN ( $P < 0,03$ ). Já VDF Supra foi negativamente correlacionado com VTT em JN ( $P < 0,001$ ) (TABELA 6).



**Figura 20:** A: Comparação do volume testicular total (VTT) entre as faixas etárias: jovens, adultos e idosos; B: Comparação do VTT entre os grupos de patologia testicular: normal, torção unilateral, torção bilateral e hidrocele. Letras diferentes entre os grupos diferem significativamente ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 6:** Coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros Doppler espectral e volume testicular total (VTT) nas faixas etárias de jovens e adultos nas artérias suprtesticular e capsular.

| Faixa etária | Medida | Artéria Suprtesticular (SA) |               |               |               |             | Artéria Capsular (CA) |               |               |             |             |
|--------------|--------|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|-----------------------|---------------|---------------|-------------|-------------|
|              |        | IR                          | IP            | VPS           | VDF           | TAMV        | IR                    | IP            | VPS           | VDF         | TAMV        |
| Jovens       | VTT    | 0,52                        | 0,54          | 0,36          | -0,48         | -0,14       | 0,33                  | 0,36          | 0,41          | 0,13        | 0,23        |
|              |        | $P < 0,001^*$               | $P < 0,001^*$ | $P = 0,018^*$ | $P = 0,001^*$ | $P = 0,373$ | $P = 0,029^*$         | $P = 0,016^*$ | $P = 0,006^*$ | $P = 0,406$ | $P = 0,13$  |
| Adultos      | VTT    | 0,35                        | 0,19          | 0,41          | -0,12         | 0,1         | -0,09                 | 0,03          | 0,13          | 0,18        | 0,1         |
|              |        | $P = 0,031^*$               | $P = 0,256$   | $P = 0,01^*$  | $P = 0,465$   | $P = 0,562$ | $P = 0,591$           | $P = 0,875$   | $P = 0,425$   | $P = 0,28$  | $P = 0,563$ |

\* Correlação significativa entre parâmetros Doppler e volume testicular total ( $P < 0,05$ ). IR= Índice de resistência, IP= Índice de pulsatilidade, VPS= Velocidade de pico sistólico, VDF= Velocidade diastólica final, TAMV= Tempo médio da velocidade máxima, VTT= Volume testicular total.

## 7. DISCUSSÃO

Pelo conhecimento dos presentes autores, esta é a primeira vez que se avalia o perfil de fluxo sanguíneo das artérias testiculares de grupos homogêneos de garanhões exclusivamente da raça Mangalarga Marchador, com ênfase para garanhões com torção do cordão espermático e garanhões normais de diferentes faixas etárias. Esta seleção foi realizada com base na necessidade de padronização dos parâmetros Doppler de acordo com as particularidades da raça e da idade, com o propósito de uniformizar e proporcionar valores de referência de normalidade para a raça Mangalarga Marchador e para cada faixa etária. Além disso, visando a utilização da ultrassonografia Doppler como método diagnóstico precoce de afecções testiculares, levando em consideração principalmente os altos índices de subfertilidade dentro da raça e a falta de relatos a respeito dos possíveis danos da torção do cordão espermático à perfusão testicular dos garanhões.

Os padrões de formato de ondas obtidos a partir da avaliação do fluxo sanguíneo da artéria supratesticular foram principalmente resistivos e bifásicos e na região marginal do testículo, na artéria capsular, a maioria foram não-resistivos e monofásicos. Os achados de Pozor (2004) relataram o mesmo padrão de ondas e resistividade citados anteriormente, tanto na região do cordão espermático quanto na região marginal. Essa característica de resistividade das ondas na artéria supratesticular pode ser decorrente da anatomia da artéria nesta região, altamente contorcida e longa, o que favorece um aumento da resistência ao fluxo sanguíneo (Setchell, 1970; Pozor, 2004).

Os resultados aqui encontrados revelaram maior VPS nos garanhões idosos (VPS médio=26,20 cm/s) em relação aos jovens (VPS médio=23,43 cm/s), e ao comparar a diferença entre testículos, o IP dos testículos esquerdos dos idosos (IP médio=2,91) foram superiores aos IP dos testículos direitos de garanhões jovens (IP médio=2,23) e adultos (IP médio=1,75), na região da artéria supratesticular. No estudo de Pozor e McDonnell (2004) foram descritos valores inferiores de VDF e maior IR em garanhões mais velhos. Apesar de diferentes as variáveis, ambos achados sugerem menor perfusão sanguínea testicular em garanhões idosos, possivelmente relacionada à processos degenerativos, com consequente aumento da resistência ao fluxo sanguíneo (Mohamed et al., 2020). O maior valor de IP nos testículos esquerdos pode estar relacionado ao fato dos testículos e epidídimos esquerdos se desenvolverem mais cedo e crescerem mais rapidamente que os testículos direitos na maioria dos garanhões (Nishikawa, 1959), somado à característica de descida mais lenta dos testículos esquerdos de equinos para o escroto durante o processo de descida testicular (Bergin et al., 1970). Portanto, uma hipótese

para a diferença na perfusão entre testículos, é que os testículos esquerdos estejam sujeitos a um processo degenerativo maior, devido ao tempo superior de permanência na cavidade abdominal.

Segundo a literatura, a torção do cordão espermático leva a oclusão da vascularização testicular e aumento da resistência vascular (Dogra et al., 2001; Schumacher, 2012). De acordo com o tempo e com a gravidade da torção pode haver desde redução da velocidade diastólica ou fluxo diastólico retrógrado, até ausência de fluxo arterial, como resultado do aumento da resistência ao fluxo (Dogra et al., 2001). Estudos em humanos relataram maior IR e fluxo diastólico retrógrado nos casos de torções inferiores a 360° (Pavlica e Barozzi, 2001) e em ganhões também foi referido fluxo diastólico retrógrado em um caso de torção do cordão espermático de 180° (IR=0,90), no qual foi sugerido efeito dessa condição sobre a vascularização e função testicular, mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes (Pozor e McDonnell, 2004). Contrariando esses achados, o presente estudo destacou menor IR nos testículos torcidos de ganhões jovens (IR médio=0,73) na artéria suprategicular, quando comparado a testículos normais (IR médio=0,82) de animais da mesma faixa etária.

Uma hipótese para explicar a menor resistência e conseqüentemente maior fluxo sanguíneo para os testículos torcidos de animais jovens, é a ocorrência de uma dilatação secundária do vaso como mecanismo de compensação do nível de fluxo sanguíneo, ou devido a uma dilatação do vaso decorrente da própria estase sanguínea abaixo do ponto de torção. Outra hipótese é considerar uma lesão de isquemia seguida de reperfusão, este evento estimula a produção de espécies reativas de oxigênio com atração de células de defesa, produzindo reação inflamatória e conseqüente aumento do fluxo sanguíneo (Anaya-Prado et al., 2002). Casos de isquemia-reperfusão não têm efeito somente local, mas afeta também órgãos remotos, neste caso, os cordões e testículos adjacentes (Takhtfooladi et al., 2012).

Em relação aos efeitos da torção unilateral no testículo contralateral, pelo conhecimento dos presentes autores ainda não se tem estudos em equinos. As análises da artéria suprategicular de ganhões adultos realizadas neste estudo revelaram menor VDF em testículos contralaterais (VDF médio= 3,08 cm/s) em relação a testículos normais (VDF médio= 4,71 cm/s). Ademais, os testículos torcidos (VDF médio= 4,04 cm/s) demonstraram tendência para menores valores de VDF que testículos normais. Estes achados estão em consonância com a literatura, no qual as análises experimentais em coelhos e leitões revelaram que a torção unilateral produziu diminuição imediata e depois progressiva no fluxo sanguíneo do testículo contralateral, enquanto a detorsão foi seguida por um aumento gradual do fluxo (Tanyel et al., 1989; Nguyen

et al., 1999). Em hipótese, essas oscilações na perfusão são responsáveis por causar hipóxia e consequente dano ao tecido de testículos torcidos e contralaterais (Jacobsen et al., 2020). Em contrapartida, no estudo de Melikoglu e colaboradores (1992) foi visto um aumento no fluxo sanguíneo dos testículos contralaterais de ratos no 15º dia após a torção, no qual acredita-se que esse aumento do fluxo, seguido de aumento da temperatura testicular, seja o responsável por causar danos aos testículos contralaterais em torções prolongadas, e que o aumento no fluxo sanguíneo seja causado por mediadores vasoativos (Melikoglu et al., 1992). Outra teoria é que a torção cause a ruptura da barreira hemato-testicular e uma vasoconstrição do testículo contralateral, dando início a um processo imunológico, no qual as imunoglobulinas não reconhecem os antígenos dos espermatozoides, atacando-os e reduzindo a concentração e motilidade espermática (Arora et al., 1999). Portanto, os achados encontrados no presente trabalho são relevantes para alertar sobre os danos da torção do cordão espermático para a perfusão testicular de gananhões e reforçam as teorias de redução da perfusão sanguínea não somente para os testículos afetados pela torção, mas também para os contralaterais.

Quanto aos efeitos da hidrocele sobre a impedância vascular, nos gananhões ainda são escassos os relatos. Foi relatada a presença de fluxo sanguíneo turbulento em um caso grave de hidrocele em gananhão (Pozor e McDonnell, 2004), mas não foram descritas informações a respeito dos parâmetros Doppler. No presente estudo foi avaliado o perfil de fluxo sanguíneo testicular de quatro gananhões com hidrocele, com quantidade considerável de fluido entre os folhetos da túnica vaginal ao redor dos testículos e epidídimos. Ao relacioná-los com animais com torção do cordão espermático bilateral, os gananhões com hidrocele apresentaram maior IR na região do cordão espermático, o que está de acordo com os estudos em humanos que descreveram aumento de IR e IP em testículos com hidrocele, com ausência de fluxo diastólico retrógrado. No entanto, foi observado fluxo retrógrado e redução da resistência após a hidrocelectomia e eliminação do efeito da pressão (Nye e Prati, 1997; Mihmanli et al., 2004). Uma possível explicação para esse aumento da resistência vascular em testículos com hidrocele, a ponto de ser ainda maior que nos testículos torcidos, é a obstrução do retorno venoso ou linfático devido a pressão pelo edema, que pode aumentar a resistência vascular (Mihmanli et al., 2004). Há também a hipótese de lesão dos túbulos seminíferos, com deposição de tecido fibrótico e desorganização das células espermáticas, com consequente redução espacial dos vasos e aumento da resistência (Singh et al., 1989). O fato do IR ter sido mais elevado nos testículos esquerdos, possivelmente é decorrente do grupo avaliado, que continha dois animais com hidrocele esquerda, um com hidrocele bilateral e apenas um com hidrocele direita.

Nossa análise com a ultrassonografia Doppler espectral em garanhões jovens e adultos mostrou uma progressiva redução nos valores de IR, IP E VPS no trajeto da artéria testicular do cordão espermático para a borda caudal dos testículos, com exceção de VDF que aumentou. Achados estes, que corroboram com outros estudos que também descreveram a redução dos índices e aumento da velocidade no decorrer do cordão espermático em direção aos testículos (Pozor e McDonnell, 2004; Gacem et al., 2020). Os resultados encontrados no presente estudo e em estudos anteriores podem ser justificados pela anatomia da artéria testicular, que além de muito longa, se mostra altamente contorcida ao entrar na região do cordão espermático (Setchell, 1970), portanto, a resistência vascular nessa região é alta e conseqüentemente há menor fluxo sanguíneo para os testículos, menor tensão de oxigênio e menor pressão capilar do que em outros órgãos (Sweeney et al., 1991).

A anatomia da artéria testicular (longa e contorcida) é importante para facilitar a troca de calor efetiva entre a artéria e veia testicular na altura do cordão espermático, para que ocorra o resfriamento do sangue arterial que chega aos testículos. Em relação aos testículos, ao que tudo indica, as células espermáticas estão adaptadas a esse ambiente de baixa perfusão e oxigenação (Bergh et al., 2001), o que enfatiza a importância da perfusão adequada para os testículos e de um método diagnóstico sensível capaz de captar mínimas alterações vasculares ainda não detectadas fisiologicamente, pois uma mínima alteração na vascularização, ainda que aparentemente insignificante, pode levar à falha relevante na oxigenação, visto que, como dito anteriormente, a perfusão e oxigenação testicular é naturalmente baixa.

A avaliação com o Doppler espectral da artéria testicular na região do cordão espermático (artéria suprategicular) parece apresentar maior sensibilidade em relação a avaliação na região marginal do testículo (artéria capsular), no qual para todos os grupos e variáveis não foram encontradas diferenças estatísticas nesta última. Essa ausência de resultados e menor sensibilidade da artéria capsular provavelmente é devido a seu menor diâmetro quando comparada com a artéria suprategicular (Budras et al., 2007).

Os valores para VTT de garanhões jovens avaliados neste experimento foram menores do que o VTT de garanhões adultos e idosos, resultados similares a outros estudos que relataram que a idade influencia no tamanho testicular (Voss et al., 1979), onde testículos de garanhões de dois a três anos possuem tamanhos semelhantes a testículos de garanhões de quatro a seis anos, sendo estes menores do que na idade de sete anos ou mais (Thompson et al., 1979). Encontramos também um aumento significativo no volume testicular de animais com hidrocele quando comparados com animais com torção do cordão espermático, essa diferença de volume

provavelmente é decorrente das alterações causadas pela hidrocele já citadas anteriormente, como edema e aumento da pressão hidrostática (Mihmanli et al., 2004), assim como, pela desorganização das células espermáticas, deposição de fibrose e espessamento da membrana basal (Singh et., 1989).

Contrariando o estudo de Pozor et al. (2014) que demonstrou correlação negativa entre IR e IP com volume testicular de seis garanhões maduros (sete a doze anos), neste estudo os resultados revelaram correlação positiva entre IR, IP, VPS com VTT tanto na região da artéria suprategicular quanto na artéria capsular de JN e AN, e correlação negativa entre VDF com VTT na artéria suprategicular de JN. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de no presente estudo a maioria dos animais incluídos no teste de correlação de Pearson (30 meses a nove anos) ainda estarem na fase de crescimento testicular, que ocorre até aproximadamente sete anos de idade (Thompson et al., 1979). Portanto, ainda sujeitos à variações nos parâmetros de perfusão sanguínea.

## 8. CONCLUSÃO

As análises evidenciaram menor perfusão sanguínea testicular em garanhões idosos, assim como, alteração de fluxo sanguíneo em testículos torcidos (180°), testículos contralaterais e em testículos com hidrocele. Ademais, a artéria suprategicular revelou maior sensibilidade na avaliação Doppler espectral em relação a artéria capsular.

Conclui-se que a ultrassonografia Doppler espectral é uma ferramenta eficaz no monitoramento da perfusão testicular de garanhões e, se revela um método promissor para o diagnóstico das afecções testiculares associadas com distúrbios vasculares.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNE, GF. Ultrassonografia do aparelho genital masculino do equino. 2011. 33f. Trabalho de conclusão de curso- Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

AMANN, RP. A Critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *J. Androl.*, V.2, p.37-58, 1981b.

- AMANN, RP. A review of anatomy and physiology of the stallion. *J. Equine. Vet. Sci.*, V.1, p.83-105, 1981a.
- AMANN, RP. Functional anatomy of the adult male. In: McKinnon, AO; Squires, EL; Vaala, E; Varner, DD. *Equine Reproduction*, 2.ed. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2011. p.867-880.
- ANAYA-PRADO, R; TOLEDO-PEREYRA, LH; LENTSCH, AB; WARD, PA. Ischemia/reperfusion injury. *J. Surg. Res.* V.105, p. 248-258, 2002.
- ARORA, P; SUDHAN, MD; SHARMA, RK. Incidence of anti-sperm antibodies in infertile male population. *Med. J. Armed. Forces. India.*, V.55, p.206–208, 1999.
- BADER, TR; KAMMERHUBER, F; HERNETH, AM. Testicular blood flow in boys as assessed at color Doppler and power Doppler sonography. *Radiology.*, p.202,559–564, 1997.
- BERGH, A; COLLIN, O; LISSBRANT, E. Effects of acute graded reductions in testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. *Biol. Reprod.*, V.64, p.13-20, 2001.
- BERGIN, WC; GIER, HT; MARION, GB. et al. A developmental concept of equine cryptorchism. *Biol. Reprod.*, V.3, p.82-92, 1970.
- BIAGIOTTI, G; CAVALLINI, G; MODENINI, F. et al. Spermatogenesis and spectral echocolor Doppler traces from the main testicular artery. *BJU. Int.*, V.90, p.903–908, 2002.
- BICUDO, SD, SIQUEIRA, JB, MEIRA, C. *Patologias do sistema reprodutor de touros*. São Paulo; 2007 [cited 2020 10 Jan]. Available from: <[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v69\\_2/p43-48.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v69_2/p43-48.pdf)>.
- BOETTCHER, M; BERGHOLZ, R; KREBS, TF. et al. Clinical predictors of testicular torsion in children. *Urology.*, V.79(3), p.670-4, 2012.
- BROWN, H; PRESCOTT, R. *Applied mixed models in medicine*. 3 ed. John Wiley & Sons, 2015.
- BUDRAS, KD; MCCARTHY, PH; FRICKE, W; RICHTER, R. *Anatomy of the Dog*. 5.ed. London, UK: Manson, 2007. p.68-70.
- CARVALHO, CF; CHAMMAS, MC; CERRI, GG. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. *Ciênc. Rural.*, V.38, p.872-879, 2008.
- CERRI, GG; MÓLNAR, LJ; PARANAGUÁ-VEZOZZO, DC. Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais. In: *Doppler*. São Paulo: Sarvier, 1998. V.1, p.120-121.
- CHENIER, ST. Anatomy and examination of the normal testicle. In: PYCOCK, S; SAMPER,

- JC; MCKINNON, OA. Current Therapy in Equine Reproduction E-Book. St. Louis: Saunders, 2007. Cap.26, p.167-173.
- CHENIER, TS. Anatomy and physical examination of the stallion. In: SAMPER, CS (ed). Equine breedings management and artificial insemination. Philadelphia: WB Saunders, 2009, p.1-17.
- CLAY, CM; SQUIRES, EL; AMANN, RP. et al. Influences of season and artificial photoperiod on stallions: luteinizing hormone follicle-stimulating hormone and testosterone. *J. Anim. Sci.*, V. 66, p.1246-1255, 1988.
- DAELS, PF. The anormal estrous cycle. In: MCKINNON, AO; VOSS, JL (eds.). *Equine. Reprod.*, Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. p.144–160.
- DOGRA, VS; GOTTLIEB, RH; OKA, M; RUBENS, DJ. Sonography of the scrotum. *Radiology.*, V.227, p.18-36, 2003.
- DOGRA, VS; SESSIONS, A; MEVORACH, RA; RUBENS, DJ. Reversal of diastolic plateau in partial testicular torsion. *J. Clin. Ultrasound.*, V. 29, p.105–108, 2001.
- DUDEA, SM; CIUREA, A; CHIOREAN, A; BOTAR-JID, C. Doppler applications in testicular and scrotal disease. *Med. Ultrason.*, V.12, p.43–51, 2010.
- EDWARDS, JF. Pathologic conditions of the stallion reproductive tract. *Anim. Reprod. Sci.*, V.107, p.197–207, 2008.
- FILHO, AAM; OLIVEIRA, VK. Torção do testículo: como acontece? ABCMED, 2012 [cited 2020 14 marc]. Disponível em: <<https://www.abc.med.br/p/saude-do-homem/331755/torcao+do+testiculo+como+acontece.htm>>.
- GABALDI, SH; WOLF, A. A importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. *Ciências Agrárias Saúde.*, V.2, p.66-70, 2002.
- GACEM, S; PAPAS, M; CATALAN J; MIRÓ J. Examination of jackass (*Equus asinus*) accessory sex glands by B-mode ultrasound and of testicular artery blood flow by colour pulsed-wave Doppler ultrasound: Correlations with semen production. *Reprod. Dom. Anim.*, V.55, p.181-188, 2020.
- GARNER, DL; HAFEZ, ES. Espermatozóide e plasma seminal. In: HAFEZ, B; HAFEZ, ESE. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. p.97-140.

- GERLACH, T; AURICH, JE. Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Anim. Reprod. Sci.*, V.58 , p. 97-213, 2000.
- GINTHER, OJ; GARCIA, MC; BERGFELT, DR. Embryonic loss in mares: Pregnancy rate, length of interovulatory intervals and progesterone concentrations associated with loss during days 11 to 15. *Theriogenology.*, V. 24, n. 4, p.409-417, 1985.
- GINTHER, OJ; UTT, MD. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. *J. Equine. Vet. Sci.*, V.24, p.516-526, 2004.
- GUENZEL-APEL, AR, MOEHRKE, C, NAUTRUP, CP. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: Physiological and pathological findings. *Reprod. Domest. Anim.*, V.36, p.236-240, 2001.
- HAFEZ, ESE. Anatomia da Reprodução Masculina. In: HAFEZ, B; HAFEZ, ESE. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. p.97-140.
- JACOBSEN, FM; RUDLANG, TM; FODE, M. et al. The impact of testicular torsion on testicular function. *World. J. Mens. Health.*, V. 38(3), p.298–307, 2020.
- JOHN M; GATTI J; PATRICK MA. Acute Testicular Disorders – *Pediatrics in Review.*, V.29, p.235, 2008.
- JOHNSON, L; BLANCHARD, TL; VARNER, DD. et al. Factors affecting spermatogenesis in the stallion. *Theriogenology.*, V. 48 , p.1199-1216, 1997.
- KAWAKAMA, J. et al. Física. In: CERRI, GG; ROCHA, DC. Ultrassonografia abdominal. São Paulo: Sarvier, 1993. cap.1, p.1-14.
- KRYGER, JV. Acute and Chronic Scrotal Swelling. In: Nelson Pediatric Symptom-Based Diagnosis. 2a ed, 2018. p.330-338.
- LOVE, CC. Ultrasonographic evaluation of the testis, epididymis, and spermatic cord of the stallion. *Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract.*, V.1, p.167-182, 1992.
- MARENCO, SR: Maturing the sperm: unique mechanisms for modifying integral proteins in the sperm plasma membrane. *Anim. Reprod. Sci.*, V.105(1-2), p. 52-63, 2008.
- MARTIN, P. Lehrbuch der Anatomy der Haustiere. Stuttgart, Schickhardt e Ebner., V.2, p.172, 1915.
- MASCARENHAS, RM; HENRY, M; ECHEVERRI, AML. Espermatogênese. In: HENRY, M; ECHEVERRI, AML. Andrologia veterinária básica. 1. ed. Belo Horizonte, 2013. cap. 1, p. 61-71.

- MELIKOGLU, M; GUNTEKIN, E; ERKILIC, M. et al. Contralateral testicular blood flow in unilateral testicular torsion measured by the<sup>133</sup>XE clearance technique. *Br. J. Urol.*, V. 69(6), p.633–635, 1992.
- MENZIES, PI. Reproductive health management programs. In: YOUNGQUIST RS. Current therapy in large animal. Philadelphia: Theriogenology, 1999. p. 643– 649.
- MIHMANLI, I; KANTARCI, F; KULAKSIZOGLU, H, et al. Testicular size and vascular resistance before and after hydrocelectomy. *AJR. Am. J. Roentgenol.*, V.183, p.1379-1385, 2004.
- MOHAMED, RH; HUSSEIN, HA; RAWY, MS. Hemodynamics during pre and Post-pubertal periods in egyptian male donkeys. *J. Adv. Vet. Res.*, V.10 (4), p.200-205, 2020.
- MORAL, RA; HINDE, J; DEMÉTRIO, CGB. Half-normal plots and overdispersed models in R: the hnp package. *J. Stat. Softw.* V. 81(10), p.1-23.
- NGUYEN, L; LIEVANO, G; GHOSH, L. et al. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J. Pediatr. Surg.*, V.34, p.680–683, 1999.
- NISHIKAWA, Y. Studies on reproduction in horses. Tokyo: Shiba Tamuracho Minatoku, 1959.
- NORONHA, PB. Contribuição ao estudo do funículo espermático em jumentos (*Equus asinus*-Linnaeus, 1758) da raça pêga. 1996. 58f. Dissertação (Mestre em Reprodução Animal). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- NYE, PJ; PRATI, RCJR. Idiopathic hydrocele and absent testicular diastolic flow. *J. Clin. Ultrasound.*, V. 25, p.43–46, 1997.
- ORMOND, JK. Recurrent torsion of the spermatic cord. *Am. J. Surg.*, V.12, p. 479-482, 1930.
- ORTEGA-FERRUSOLA, C; GRACIA-CALVO, LA; EZQUERRA, J; PENA, FJ. Use of Colour and Spectral Doppler Ultrasonography in Stallion Andrology. *Reprod. Domest. Anim.*, V.49, p.88–96, 2014.
- ORTIZ-RODRIGUEZ, JM; ANEL-LOPEZ, L; MARTÍN-MUÑOZ, P. et al. Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. *Plos. One.*, V.12(5), p.1-21, 2017.
- PALMER, E; DRIANCOURT, MA. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology.*, V.13, p.203-216, 1980.

- PAPA, FO; LEME, DP. Testicular fine needle aspiration cytology from a stallion with testicular degeneration after external genitalia trauma. *J. Equine. Vet. Sci.*, V.22, p.121-124, 2002.
- PAVLICA, P; BAROZZI, L. Imaging of the acute scrotum. *Eur. Radiol.*, V.11, p.220–228, 2001.
- PINGGERA, GM; MITTERBERGER, M; BARTSCH, G. et al. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. *BJU. Int.*, V.101, p.722–726, 2008.
- POZOR, MA. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions. *Clin. Tech. Equine. Pract.*, V.6, p.271-277, 2007.
- POZOR, MA; KOLONKO, D. The testicular artery of stallions in clinical and morphological studies. *Med. Wet.*, V.57, p.822–826, 2001.
- POZOR, MA; MCDONNELL, SM. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. *Theriogenology.*, V.61, p.799–810, 2004.
- POZOR, MA; NOLIN, M; ROSER, J. et al. Doppler index of vascular impedance as indicator of testicular dysfunction in stallions. *J. Equine. Vet. Sci.*, V.34, p.38–39, 2014.
- R CORE TEAM. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- ROSER, JF. Endocrine and paracrine control of sperm production in stallions. *Anim. Reprod. Scie.*, V.68, p.139- 151, 2001.
- ROSER, JF. Endocrine profiles infertile, subfertile and infertile stallions: Testicular reponse to human chorionic gonadotropin in infertile stallions. *Biol. Reprod. Monog.*, p. 229-239, 1995.
- ROSER, JF. Regulation of testicular function in the stallion: An intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems. *Anim. Reprod. Scie.*, V.107, p.179-196, 2008.
- SANCLER-SILVA, YFR. Efeito da pentoxifilina na função testicular e produção espermática de equinos submetidos a estresse térmico escrotal. 2017. 141f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Animal). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- SCHUMACHER, J. Reproductive system. In: AUER, JA, STICK, JA. *Equine Surgery*. 4.ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2012. p.809-812.

- SCHURICH, M; AIGNER, F; FRAUSCHER, F. et al. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *Eur. J. Obstet. Gynecol.*, V.144, suppl.1, p.192-198, 2009.
- SESSIONS AE; RABINOWITZ R; HULBERT WC. et al. Testicular torsion: direction, degree, duration and disinformation. *J. Urol.*, V.169, p.663–665, 2003.
- SETCHELL, B; MADDOCKS, S; BROOKS, D. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. In *The Physiology of Reproduction*. Edited by KNOBIL, E, NEILL, JD. New York: Raven Press, 1994.
- SETCHELL, BP. Testicular blood supply, lymphatic drainage and secretion of fluid. In: JOHNSON, AD; GOMES, WR; VANDEMARK, NL. *The Testis*. New York: Academic Press, 1970. Vol.1, p. 101–239.
- SINGH, MP; GOEL, TC; AGARWAL, PK., et al. Effects of scrotal hydrocele over testicular histology. *Indian. J. Pathol. Microbiol.*, V. 32, p. 261–265, 1989.
- SPITERI, G; NIESCHLAG, E. Paracrine factors relevant to the regulation of spermatogenesis—a review. *J. Reprod. Fertil.*, V. 98, p.1-14, 1993.
- STICKLE, RL; FESSLER, JF. Retrospective study of 350 cases of equine cryptorchidism. *J. Am. Vet Med. Assoc.*, V.172, p.343-346, 1978.
- SWEENEY, TE; ROZUM, JS; DESJARDINS, C; GORE, RW. Microvascular pressure distribution in the hamster testis. *Am. J. Physiol.*, V. 260, p.1581–1589, 1991.
- SZATMÁRI, V. et al. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, V.42, n.2, p.93-107, 2001.
- TA A; D'ARCY FT; HOAG N. et al. Testicular torsion and the acute scrotum. *Eur. J. Emerg. Med.*, V. 23, p.160–165, 2016.
- TAKHTFOOLADI, MA; JAHANSHAHI, A; JAHANSHAHI, GH. et al. Protective effect of N-acetylcysteine on kidney as a remote organ after skeletal muscle ischemia-reperfusion. *Acta Cir Bras.*, V. 27, p.611-615, 2012.
- TANYEL, FC; BÜYÜKPAMUKÇU, N; HIÇSÖNMEZ, A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br. J. Urol.*, V.63, p.522–524, 1999.
- THOMPSON, DL. Immunization against GnRH in male species (comparative aspects). In: *Anim. Reprod. Scie.*, Anais, p. 60-61, 459-469, 2000.

- THOMPSON, DL; PICKETT, BW; SQUIRES, EL. et al. Testicular measurements and reproductive characteristics in stallions. *J. Reprod. Fertil.*, V. 27, p.13-17, 1979.
- TURNER, RM. Current Techniques for Evaluation of Stallion Fertility. *Clin. Tech. Equine. Pract.*, V. 4, p.257±268, 2005.
- TURNER, RM. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. *Clin. Tech. Equine. Pract.*, V. 6, p. 278–284, 2007.
- TURNER, RM. Ultrasonography of the genital tract of the stallion. In: REEF, VB (ed). *Equine Diagnostic Ultrasound*. WB Saunders, Philadelphia: Pennsylvania, 1998. p. 446-479.
- VERMILLON, RP. Basic physical principles. In: SNIDER, AR. et al. *Echocardiography in pediatric heart disease*. 2.ed. Missouri: Mosby, 1997. cap.1, p.1-10.
- VOSS, JL; SQUIRES, EL; PICKETT, BW et al. Factors affecting reproductive performance of the stallion. *Proc. Am. Assoc. Equine. Practitioners.*, V. 25, p. 33-39, 1979.
- WALLACE, NG, AMAYA, M. Normal and developmental variations in the anogenital examination of children. *Child. Abuse. Negl.*, p. 69-81, 2011.
- WOOD, MM; ROMINE, LE; LEE, YK. et al. Spectral Doppler signatures waveforms in ultrasonography. *Ultrasound. Q.*, V.26, p.283-299, 2010.
- ZELLI, R; TROISI, A; ELAD, NGONPUT A. et al. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. *Res. Vet. Sci.*, V. 95, p. 632–637, 2013.