

Ecografía testicular macroscópica y microscópica en el toro

Dra. Arantxa Echegaray

Directora del Departamento de I+D. HUMECO. C/Mecánica 11, 22006, Huesca (Huesca, España).
Tel.: (0034) 974231165. www.humeco.net.

Introducción

La ecografía testicular se realizó por primera vez en hombres en 1974 y posteriormente en toros y otros animales. Al ser una técnica rentable, fácilmente repetible, portátil y no invasiva, la ecografía se utiliza cada vez más para la detección de patologías del testículo (por ejemplo, tumores, abscesos, varicocele).

Además, cuando se combina con el análisis de imágenes asistido por ordenador, la ecografía escrotal puede proporcionar una idea de la microestructura del tejido testicular productor de los espermatozoides, lo que mejora enormemente la interpretación visual. Ahora, gracias al desarrollo del software ECOTEXT, somos capaces de estudiar en profundidad dicha microestructura y de tener una idea más exacta de la capacidad espermatogénica de un macho reproductor.

Formación de la imagen de ultrasonidos

La ultrasonografía es una forma de sonido que supera el rango de sonido audible en el espectro acústico. El sonido se transmite por ondas sonoras, que vibran a frecuencias específicas, medidas en hertzios (Hz), de manera que 26 hertzios son un ciclo por segundo y un megahertzio (MHz) es un millón de ciclos por segundo. Los seres humanos son capaces de escuchar el sonido que vibra a una frecuencia de 20-20.000 Hz, muy por debajo de las frecuencias generalmente utilizadas en el ultrasonido médico, que van de 2-10 MHz.

El transductor o sonda ecográfica, es el componente del ecógrafo que emite ondas de ultrasonido cuando se le aplica una corriente eléctrica a sus elementos de cristal piezoeléctrico.

Al entrar en el tejido que se está escaneando, el haz de ultrasonido toma cinco trayectorias po-

sibles:

- i) transmisión a través del tejido;
- ii) reflexión hacia atrás en la misma dirección;
- iii) dispersión en muchas direcciones;
- iv) refracción en una dirección diferente; y
- v) absorción en el tejido por conversión de calor.

El debilitamiento progresivo del haz de ultrasonidos a medida que se refleja, se dispersa, se refracta y se absorbe se denomina atenuación.

Las ondas sonoras que han sido reflejadas o dispersadas de nuevo al transductor se convierten en señales eléctricas por los elementos de cristal piezoeléctrico en el transductor. La señal eléctrica es convertida en señal de imagen (es decir, píxeles) de diferentes tonos de gris (es decir, intensidades de píxeles), dando lugar a la imagen observada en el monitor. A mayor reflexión de las ondas, nos llega una onda de mayor amplitud y el ecógrafo lo traduce en puntos o píxeles más blancos. A menor reflexión, aparecen puntos más negros en la imagen.

Ecografía testicular macroscópica

Los testículos son fáciles de explorar por ecografía ya que son de fácil acceso, carecen de órganos circundantes, son simétricos y pueden compararse fácilmente entre sí. Como se dijo más arriba, con frecuencia de ultrasonidos creciente, la resolución de la imagen mejora pero la profundidad de penetración disminuye. Los testículos son escaneados con sondas lineales de frecuencia relativamente elevada, de 5 a 10 MHz.

La sonda lineal permite un amplio contacto superficial y produce una imagen de forma rectangular de ancho constante y suficiente para cubrir la región que se está

examinando. Los testículos pueden ser escaneados en planos longitudinales y transversales y su aspecto ecográfico optimizado mediante ajustes de ganancia, brillo foco o profundidad.

La ecografía permite la rápida visualización de estructuras macroscópicas en el testículo. En los toros, las principales estructuras discernibles en la escrotal son:

- i) el mediastinum testis, observado como región hiperecogénica (blanca) circular en el centro del testículo (ver imagen de arriba)
- ii) el parénquima testicular que rodea al mediastinum, que se describe típicamente como un tejido de ecotextura de grano medio,
- iii) la túnica albugínea y escroto, se ven como una línea hiperecogénica que rodea al parénquima testicular con una capa anecoica (negra) debido a la presencia de líquido que separa las capas visceral y parietal de la túnica vaginal.
- iv) la cabeza y la cola del epidídimo, el cordón espermático y el tabique escrotal también se pueden ver dependiendo del desplazamiento del transductor en el plano longitudinal.

Patología testicular

Fibrosis del parénquima

Puede ser difusa, focal o multifocal. La fibrosis focal o multifocal, aparece en como un punteado hiperecogénico. En los casos más graves, se impide completamente el paso de los ultrasonidos y los animales suelen ser azoospermicos. En los casos leves, con focos aislados de fibrosis, la calidad seminal no se ve afectada. Las lesiones fibróticas son comunes en los testículos de toro. Pueden aparecer ya a los 5-6 meses de edad. La causa de las lesiones es desconocida, pero puede tener relación con enfermedades víricas.

Quistes en parénquima

Su origen no está claro. En muchos casos se encuentran junto a la albugínea y su contenido es negro homogéneo. Se cree que en estos casos el origen es embrionario. En muchos casos, estas estructuras quísticas no alteran la función testicular y / o calidad del semen.

En otros casos, estos quistes son de mayor tamaño y su contenido es heterogé-

neo. En estos casos puede tratarse de un absceso, hemorragia o incluso tumor. Los tumores son generalmente más hiperecogénicos que el parénquima testicular normal, pero también es posible la ecogenicidad mixta o hipoecogénica.

Hematoma testicular

El trauma causado por un golpe en los testículos por patadas o golpes puede ocurrir a cualquier edad. A veces, tras un trauma apenas se observan cambios en la ecografía. Puede haber un descenso de ecogenicidad (edema o hemorragia) para después resolverse rápidamente. Otras veces puede dar lugar a necrosis o degeneración, en cuyo caso, se producirá un aumento de la ecogenicidad. Por último, en otras especies se ha descrito la evolución del hematoma a una orquitis autoinmune, por ruptura de la barrera

Degeneración testicular

La degeneración del parénquima testicular puede ser temporal o permanente. La degeneración temporal es con mucho la más forma común de degeneración. Puede ser difícil distinguir entre una perturbación grave de la espermatogénesis, con un marcado descenso en la calidad del semen y una degeneración temporal reversible. Según Barth (Hopper, 2014) "degeneración testicular" es aquella patología en la que se produce:

- una pérdida del circunferencia escrotal,
- los testículos pueden haber perdido consistencia
- y el porcentaje de espermatozoides normales ha disminuido a valores extremadamente bajos, por lo general menos de 20% de formas normales.

Con la degeneración temporal hay pérdida de capas de células germinales cerca del lumen en muchos o todos los túbulos seminíferos. Es probable que las Células de Sertoli y espermatogonias, que son más resistentes al daño, se conserven en los túbulos, y que, después de haber desaparecido la causa de la degeneración (estrés térmico, fiebre, tóxicos, etc.) estas recuperen el testículo y la calidad del semen. Los cambios que definen una degeneración testicular permanente son:

- espermiostasis,
- mineralización o hialinización tubular,
- formación de granuloma,
- membranas basales engrosadas y
- fibrosis en focales o difusas del parénquima.

En general un problema de regulación térmica de causa temporal (calor, fiebre, obesidad) no producirá daños permanentes. Sin embargo una termorregulación anormal crónica puede producir degeneración testicular permanente, por ejemplo la dermatitis escrotal crónica (ej.: Besnoitiosis),

La obesidad es la principal causa de degeneración testicular temporal en toros. Las deficiencias nutricionales rara vez producen degeneración permanente en toros. La mala calidad de alimentación con pérdida de peso corporal puede deprimir la espermatogénesis a través de un efecto endocrino más que por un efecto directo en el desarrollo de células germinales. Las deficiencias de calcio, manganeso, zinc, yodo, potasio, y el selenio no han demostrado ser las causas de degeneración permanente. La ingestión de toxinas puede causar degeneración. La zearalenona, con un efecto estrogénico, tiene el potencial de causar problemas de calidad del semen y degeneración de los testículos. El gopisol causa alteraciones en la función mitocondrial lo que provoca anomalías de espermatozoides, espermátidas y espermatozoides maduros. Aunque el gopisol afecta a la calidad del semen, la degeneración testicular no parece estar asociada con la intoxicación por gopisol.

Hipoplasia

La hipoplasia puede ser unilateral o bilateral. Algunos autores afirman que la mayoría de los casos son unilaterales y que el lado izquierdo está más frecuentemente afectado. La hipoplasia testicular es congénita y posiblemente hereditaria. El gen del ternero culón (hiperplasia muscular), se asocia con una alta incidencia de hipoplasia testicular bilateral.

Granulomas

Durante el desarrollo embrionario, se produce la conexión entre gónadas y sistema urinario (mesonefros). Los túbulos eferentes se desarrollan a partir de los túbulos mesonéfricos y se unen al conducto mesonéfrico. El fallo en el desarrollo de esta conexión puede darse más tarde (en la pubertad) resultar en impactación de los

espermatozoides en túbulos que terminan ciegos. La ruptura de estos conductos llenos de espermatozoides conduciría a la formación de granulomas.

Quiste en cabeza de epidídimo

Su origen puede ser congénito (restos conductos mesonéfricos) o adquirido (granulomas de esperma, espermatocelo, abscesos). Puede ser periféricos o centrales, únicos o múltiples y de tamaños muy diversos. La presencia de contenido en su interior sugiere una patología adquirida. En caso de aplasia del mesonefros, la clínica será de un animal con volumen y concentración de semen bajos además de otras anomalías importantes del aparato reproductor.

Áreas hipoecoicas en parénquima

Las áreas hipoecoicas dentro del parénquima testicular, pueden corresponderse con edema o hemorragia posterior a un trauma.

Orquitis

La orquitis en su forma aguda, da al testículo una imagen hipoecogénica, por la acumulación de líquido edematoso intra y extra testicular (hidrocele reactivo). En la forma crónica de la enfermedad, la ecotextura testicular aumenta con zonas ecogénicas (fibrosis) o hiperecoicas (mineralización) dispersas a lo largo de los testículos y mostrando sombras acústicas

Hidrocele

Es una acumulación de líquido dentro de la túnica vaginal que rodea al testículo. En nuestra experiencia, sólo en aquellos que el hidrocele sea de tal magnitud que cubra toda ampliamente todo el área escrotal, incluyendo cabeza de epidídimo, produce cambios en la regulación térmica que alteran la proporción de morfoanomalías en el eyaculado.

Ecografía testicular microscópica

La resolución es la capacidad del ecógrafo de distinguir entre dos estructuras diferentes dentro de un tejido. Si un ecógrafo tiene una capacidad de resolución de 3 mm, querrá decir que dos estructuras diferentes separadas por sólo 3 mm, aparecerán como dos ecos distintos en la imagen. Si las dos estructuras anatómicas están a sólo 2 mm, aparecerán

en la imagen como una sola estructura, lo que no permitirá su correcta evaluación.

Hasta hace poco, el límite de la resolución espacial de los ecógrafos, ha impedido caracterización de estructuras de tamaño inferior a 1 mm. Hoy día existe ya a disposición de sondas de entre 5 y 10 MHz con una resolución axial de 150-300 micras, que permiten el estudio de estructuras microscópicas, como las del parénquima testicular.

Análisis de imagen del parénquima testicular

El análisis visual por sí solo no permite una evaluación detallada de la ecotextura testicular. La determinación de los tonos exactos de gris que comprende una imagen ecográfica es un proceso sumamente subjetivo, depende de la configuración del ecógrafo y está limitada por las capacidades del ojo humano, que puede distinguir sólo unos 20 tonos diferentes de gris.

El análisis de imagen asistida por ordenador permite una valoración cuantitativa de la escala de grises y de la ecotextura de la imagen. En este procedimiento se registra la ecografía en tiempo real y se guarda una imagen fija en un formato no comprimido.

Después se utiliza un programa de software especializado que asigna cada a píxel un valor de gris que varía de 0, representando el negro, a 255, representando el blanco.

En software determina la medida y desviación estándar de escala de grises para áreas específicas de interés. La heterogeneidad de píxeles refleja la existencia de áreas hiper- e hipoecóicas intercaladas en un tejido, lo que indica el nivel de uniformidad del tejido.

El estudio del parénquima testicular a nivel microscópico se ha basado en el estudio de su histograma de pixels y/o ecotextura. La ecotextura de un tejido podría definirse como el patrón de escala de grises que conforman todos los puntos o pixels de la imagen ecográfica.

El histograma de pixels mide la proporción de píxeles blancos, negros y grises en la imagen ecográfica. No deja de ser una técnica indirecta y rudimentaria de conocer la estructura del tejido testicular y los resultados obtenidos hasta el momento con esta técnica

son desiguales.

En la actualidad, se desconocen las causas de cambios en el histograma de pixels en el toro. En terneros prepúberes se ha visto una correlación negativa entre ecogenicidad y porcentajes de túbulos seminíferos con espermatozoides maduros. Entre la pubertad y la madurez, la ecogenicidad o proporción de blancos en el histograma de pixels, se correlaciona negativamente con el diámetro y / o área de los túbulos seminíferos. Además, los niveles medios de grises se han correlacionado con la calidad seminal, especialmente en las semanas posteriores a las evaluaciones ecográficas.

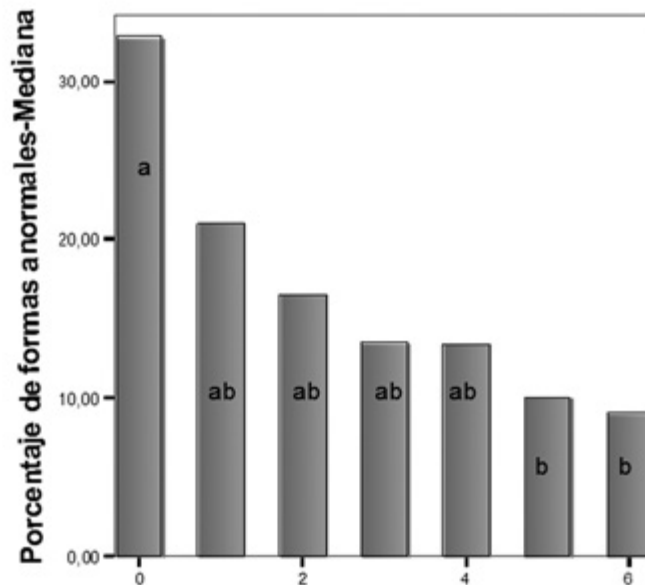
El proyecto ECOTEXT

El proyecto ECOTEXT es un proyecto de investigación que desarrolla un programa informático que estudia el tejido testicular a través de su video ecografía macroscópica y microscópica.

A partir de un ecógrafo convencional y una sonda de 7,5 MHz, este programa contiene algoritmos que analizan las imágenes de ultrasonido, de acuerdo con la distribución de píxeles negros, blancos y grises, y también de acuerdo con el tamaño y la densidad de las áreas hipoecogénicas.

En la especie bovina, se han realizado varios ensayos de validación tanto ex vivo como in vivo, en animales jóvenes y adultos, cotejando los resultados del programa con el análisis de calidad seminal.

En el ensayo realizado sobre 72 testículos de matadero, se puso en relación las características ecográficas con la calidad de semen de la cola de epidídimo ipsilateral. No hubo diferencias entre los testículos ipsilaterales en parámetros de calidad echotextural ni en parámetros de calidad seminal ($p > 0.05$). El ANOVA indicó que los testículos que producían muestras subfértiles diferían significativamente en 5/6 parámetros del programa ECOTEXT, de los testículos que producían muestras de espermatozoides fértiles ($p < 0.01$). La regresión logística indicó que la densidad de áreas hipoecogénicas en el ultrasonograma de un testículo podría predecir la fertilidad o subfertilidad de una muestra de semen epididimario.



Puntuación parénquima testicular. Prueba Ex-vivo (n=72 testículos).
Letras diferentes indican diferencias altamente significativas ($p < 0,001$)

Gráfica 1. Relación entre la puntuación ECOTEXT y la calidad seminal. Prueba Ex vivo toros (n=72 testículos toros adultos). Semen epididimario.

El ensayo realizado sobre 33 toros jóvenes de raza Holstein, mostró una relación significativa entre la edad del toro y la densidad de las áreas hipoecogénicas en el ultrasonograma ($R = 0,42$ $p < 0,01$). Además, este parámetro estuvo positivamente altamente correlacionado con el número total de espermatozoides móviles ($R = 0,65$) y el número total de espermatozoides normales ($R = 0,63$) en los eyaculados ($p < 0,01$). También se correlacionó negativamente con el porcentaje de morfoanomalías mayores en los eyaculados ($R: 0,34$ $p < 0,05$). Los toros que produjeron eyaculados inmaduros tuvieron diferencias significativas en la densidad media de las áreas hipoecogénicas de los ultrasonogramas testiculares ($p < 0,05$). El estudio de regresión logística, demostró que la densidad de áreas hipoecogénicas, podría predecir la madurez de un toro joven. En este ensayo la sensibilidad fue del 97,1% y la especificidad fue del 63,6%. En un tercer estudio, realizado con semen congelado, se ha demostrado que los parámetros ECOTEXT están relacionados con la congelabilidad del eyaculado.

trieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X04004716>

• Barth, A. D., Alisio, L., Avilés, M., Arteaga, A. A., Campbell, J. R., & Hendrick, S. H. (2008). Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. *Animal Reproduction Science*, 106(3–4), 274–288. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.05.002>

• Bolillo, C. (2015). Recherche de prédicateurs et d'indicateurs de la mise en place de la fonction sexuelle de jeunes béliers en relation avec leur carrière a l'âge adulte. Retrieved from <http://oatao.univ-toulouse.fr/14679/>

• Brito, L., Barth, A., Wilde, R., & Kastelic, J. (2012). Testicular ultrasonogram pixel intensity during sexual development and its relationship with semen quality, sperm production, and quantitative testicular histology in. *Theriogenology*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X1200057X>

• Brito, L., Silva, A., & Barbosa, R. (2003). Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* bulls. *Animal Reproduction*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432003000824>

• DesCoteaux, L., Gnemmi, G., & Colloton, J. (2010). *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. Wiley-Blackwell.

Bibliografía

• Arteaga, A., Barth, A., & Brito, L. (2005). Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls. *Theriogenology*. Re-

- Evans, A., Pierson, R., Garcia, A., & McDougall, L. (1996). Changes in circulating hormone concentrations, testes histology and testes ultrasonography during sexual maturation in beef bulls. *Theriogenology*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X96001902>
- Gábor, G., Sasser, R., & Falkay, G. (1997). Comparative testicular echotexture and sperm production of young and older Holstein-Friesian bulls.
- Gabor, G., Sasser, R., Kastelic, J., & Coulter, G. (1998). Morphologic, endocrine and thermographic measurements of testicles in comparison with semen characteristics in mature Holstein-Friesian breeding bulls. *Animal Reproduction*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432098000773>
- Gabor, G., Sasser, R., Kastelic, J., Mezes, M., & Falkay, G. (1998). Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. *Theriogenology*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X98001290>
- Ginther, O. J. (2014). How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology*, 81(1), 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>
- Gnemmi, G., & Lefebvre, R. (2009). Ultrasound imaging of the bull reproductive tract: an important field of expertise for veterinarians. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749072009000693>
- Hafez, E., & Hafez, B. (2013). Reproduction in farm animals. Retrieved from https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=BzqQDQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP2&dq=testicular++tubule+boar&ots=HegShmFBgW&sig=GNuH4wy1WiFivzssAf6_HcTcWdo
- Hamm, B., & Fobbe, F. (1995). Maturation of the testis: ultrasound evaluation. *Ultrasound in Medicine & Biology*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301562994000883>
- Hopper, R. M. (2014). *Bovine reproduction*. Wiley.
- Kastelic, J., & Brito, L. (2012). Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. *Reproduction in Domestic Animals*. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0531.2012.02042.x/full>
- Kastelic, J., Cook, R., & Pierson, R. (2001). Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. *Canadian Journal of*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1189657/>
- Pechman, R. D., & Eilts, B. E. (1987). B-mode ultrasonography of the bull testicle. *Theriogenology*, 27(2), 431–41. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90231-7](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90231-7)
- Pinho, R., Costa, D., Siqueira, J., & Chaya, A. (2012). Testicular echotexture and seminal quality of young Montana Tropical Compound bulls classified as sound and unsound for breeding. *Revista Brasileira de*. Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982012000800023&script=sci_arttext
- Pinho, R., Costa, D., Siqueira, J., & Martins, L. (2013). Lack of relationship between testicular echotexture and breeding soundness evaluation in adult Nelore bulls. *Livestock Science*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141313001170>
- Tomlinson, M., Jennings, A., Macrae, A., & Truysers, I. (2017). The value of trans-scrotal ultrasonography at bull breeding soundness evaluation (BBSE): The relationship between testicular parenchymal pixel intensity and semen quality. *Theriogenology*, 89, 169–177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.10.020>
- Williams, H., Revell, S., Scholes, S., Courtenay, A., & Smith, R. (2009). Clinical, Ultrasonographic and Pathological Findings in a Bull with Segmental Aplasia of the Mesonephric Duct. *Reproduction in Domestic Animals*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01543.x>

Este proyecto ha obtenido el sello de calidad Eureka E! 11188 por parte de la Comisión Europea.