

## Influência da senilidade e alterações metabólicas na fertilidade do garanhão *Influence of senility and metabolic disturbance on stallion fertility*

Thaís Mendes Sanches Cavalero<sup>1\*</sup> Gabriel Augusto Monteiro<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Central Equus Services - Centro de Medicina Equina Ltda; <sup>2</sup>Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Botucatu, Brasil

### Resumo

A manutenção da função testicular normal é dependente de uma comunicação funcional entre o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG). Essa comunicação envolve um complexo mecanismo de *feedbacks* regulados pelas sinalizações endócrinas, parácrinas e autócrinas. Diversos fatores podem interferir nessas sinalizações, podendo ocasionar a degeneração do parênquima testicular e, consequentemente, reduzir a fertilidade. A idade do garanhão é um fator que interfere na fertilidade, de modo que animais senis tendem a desenvolver degeneração testicular idiopática, além de serem propensos ao aparecimento de doenças endócrinas como a disfunção da *pars intermedia* da pituitária (PPID). A obesidade também tem sido estudada como um fator desencadeador da subfertilidade devido aos distúrbios metabólicos provocados por essa condição. Em várias espécies incluindo equinos a adiposidade é correlacionada com a resistência à insulina e hiperinsulinemia, que influenciam a atividade do eixo HHG tanto em nível central quanto periférico nos testículos. Nesse sentido, a presente revisão tem por objetivo discutir sobre o impacto da senilidade e das alterações metabólicas na fertilidade do garanhão.

**Palavras-chave:** subfertilidade, síndrome metabólica equina (SME), PPID, obesidade.

### Abstract

The maintenance of normal testicular function is dependent on functional communication between the hypothalamic-pituitary-gonadal (HHG) axis. This communication involves a complex feedback mechanism regulated by endocrine, paracrine and autocrine signaling. Several factors can interfere with these signals, which can cause degeneration of the testicular parenchyma and, consequently, reduce fertility. The stallion's age is a factor that interferes with fertility, as senile animals tend to develop idiopathic testicular degeneration, in addition to being prone to the appearance of endocrine diseases such as pituitary pars intermedia dysfunction (PPID). Obesity has also been studied as a trigger for subfertility due to the metabolic disorders caused by this condition. In several species, including horses, adiposity is correlated with insulin resistance and hyperinsulinemia, which influence the activity of the HHG axis at both central and peripheral levels in the testis. In this sense, the present review aims to discuss the impact of senility and metabolic changes on stallion fertility.

**Keywords:** subfertility, equine metabolic syndrome (EMS), PPID, obesity.

### Introdução

A fertilidade dos garanhões pode ser afetada negativamente por uma ampla e diversificada variedade de condições. Distúrbios comportamentais e ejaculatórios dificultam a cópula ou a colheita do sêmen, enquanto traumas, inflamações e neoplasias testiculares afetam diretamente a espermatogênese. A administração sistêmica de anti-inflamatórios corticosteroides e anabolizantes, bem como afecções sistêmicas que causam síndrome febre tem sido relacionadas a redução da fertilidade (Turner, 2007; Varner; Gibb, 2015).

A senilidade também é um fator que impacta diretamente a fertilidade de garanhões, de modo que animais com idade superior a 14 anos geralmente apresentam reduzida qualidade seminal quando comparados a garanhões adultos e sexualmente maduros (5 – 13 anos) (Pickett, 1993). A redução na fertilidade relacionada à idade está associada ao declínio da função testicular. Esse processo tem sido conceituado como degeneração testicular idiopática ou senil, a fim de diferenciá-la dos demais tipos de

\*Correspondência: thaismscavalero@gmail.com

Recebido: 29 de abril de 2023

Aceito: 25 de maio de 2023

degeneração testicular que apresentam causa conhecida (ex. trauma, calor, administração de andrógenos etc.). À medida que o testículo envelhece a gametogênese e a espermatogênese são afetados negativamente, ocasionando declínio da fertilidade, que normalmente precede qualquer declínio perceptível na produção de andrógenos ou na libido (Turner, 2019).

Adicionalmente, a senilidade predispõe o aparecimento de doenças endócrinas como a PPID (disfunção da *pars intermedia* da pituitária) (Brosnahan; Paradis, 2003). A PPID é a endocrinopatia que mais acomete equinos idosos e é caracterizada por elevados níveis de ACTH. Essa desbalanço endócrino interfere no funcionamento normal do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e tem sido correlacionado com redução da fertilidade em equinos (Ujvari et al., 2017).

Além desses fatores fisiológicos, o aumento da obesidade tem predisposto a alterações metabólicas que interferem na capacidade reprodutiva. Anteriormente, os equinos eram mantidos soltos em pastagens, consumindo alimentos de baixo índice glicêmico. Porém, com seus valores cada vez maiores, esses animais têm sido alojados em baias, estabelecendo um estilo de vida mais sedentário e alimentados com dietas ricas em carboidratos solúveis. Essas mudanças no estilo de vida e no tipo de dieta tem predisposto a distúrbios metabólicos como resistência a insulina e síndrome metabólica equina (Durham et al., 2019).

Apesar de fortes indícios da influência da senilidade e das alterações metabólicas na fertilidade equina, poucos profissionais têm utilizado os métodos diagnósticos adequados para o diagnóstico. Desse modo, acredita-se que muitos casos são negligenciados por falta de conhecimento técnico sobre o tema. Nesse sentido, a presente revisão tem por objetivo discutir sobre o impacto da senilidade e das alterações metabólicas na fertilidade do garanhão.

### **Degeneração testicular relacionada à senilidade**

Como no mercado equestre muitos garanhões mantêm seu valor como reprodutores até a velhice, a degeneração testicular senil tem um impacto negativo significativo na carreira reprodutiva de um garanhão. A degeneração testicular relacionada à senilidade pode ser definida como a progressiva deterioração do parênquima testicular, que normalmente ocorre em garanhões próximos dos 20 anos de idade. No entanto, muitos garanhões permanecem altamente férteis nessa idade, enquanto outros apresentam declínio da fertilidade muito mais cedo. Assim, é importante manter um histórico reprodutivo constante de cada garanhão já que essa alteração é geralmente de caráter progressivo lento e pode passar despercebida inicialmente (Watson et al., 1994; Gehlen et al., 2001; Love, 2011; Turner, 2019; Woodward et al., 2023).

É importante ressaltar que muitos casos de degeneração testicular não ocorrem por modificações relacionadas à idade, por isso é fundamental um exame andrológico minucioso visando identificar a causa primária para o declínio da função testicular. Condições como trauma testicular, febre, administração de anabolizantes ou anti-inflamatórios esteroides ou outras substâncias potencialmente prejudiciais podem causar um quadro de degeneração testicular. Caso seja identificadas umas dessas causas primárias, a sua resolução pode permitir a restauração completa da função testicular. Nestes casos, o prognóstico para a fertilidade é normalmente muito melhor do que para a degeneração testicular senil (Turner, 2019).

A degeneração testicular é o conjunto de alterações do parênquima testicular que causam disfunções bioquímicas e variações estruturais que ocasionam a redução da espermatogênese e, conseqüentemente, deterioração dos túbulos seminíferos. A espermatogênese anormal é caracterizada por escassez ou ausência de células meióticas e pós-meióticas, associações anormais de células em diferentes estágios da espermatogênese, vacuolização do epitélio seminífero e liberação de células germinativas imaturas no lúmen do túbulo seminífero, conforme ilustrado pela Figura 1.

A degeneração testicular relacionada a idade é muito denominada também de idiopática, justamente por não ter uma etiologia totalmente conhecida. Entretanto, alguns estudos têm revelado que o ambiente testicular é modificado à medida que o animal envelhece (Stewart e Roser, 1998; Turner et al., 2010a; Woodward et al., 2023). As pesquisas têm indicado que a deterioração progressiva do parênquima testicular é causada por modificações do nicho intratesticular, e não por alterações extragonadais, hipotalâmicas e hipofisárias (Stewart e Roser, 1998; Turner et al., 2010a).

O nicho é caracterizado como um microambiente complexo e dinâmico, composto por uma variedade de componentes celulares e moleculares. A espermatogênese depende da presença de espermatogônias funcionais e de um nicho equilibrado que permita o seu desenvolvimento. Especificamente, os fatores de crescimento desse nicho, que são originados das células de Sertoli, células de Leydig e outras fontes desempenham papéis fundamentais na regulação da autorrenovação e diferenciação das espermatogônias (Oatley et al., 2009).

Um estudo utilizando camundongos como modelo mostrou que o envelhecimento tem efeitos

adversos nas próprias espermatogônias (Zang et al., 2006) e também no nicho dessa espermatogônias iniciais. Estudos de Ryu et al. mostraram que, se as espermatogônias fossem constantemente mantidas em um nicho “jovem”, por meio de retransplante em animais jovens, sua função poderia ser mantida (Ryu et al., 2006).

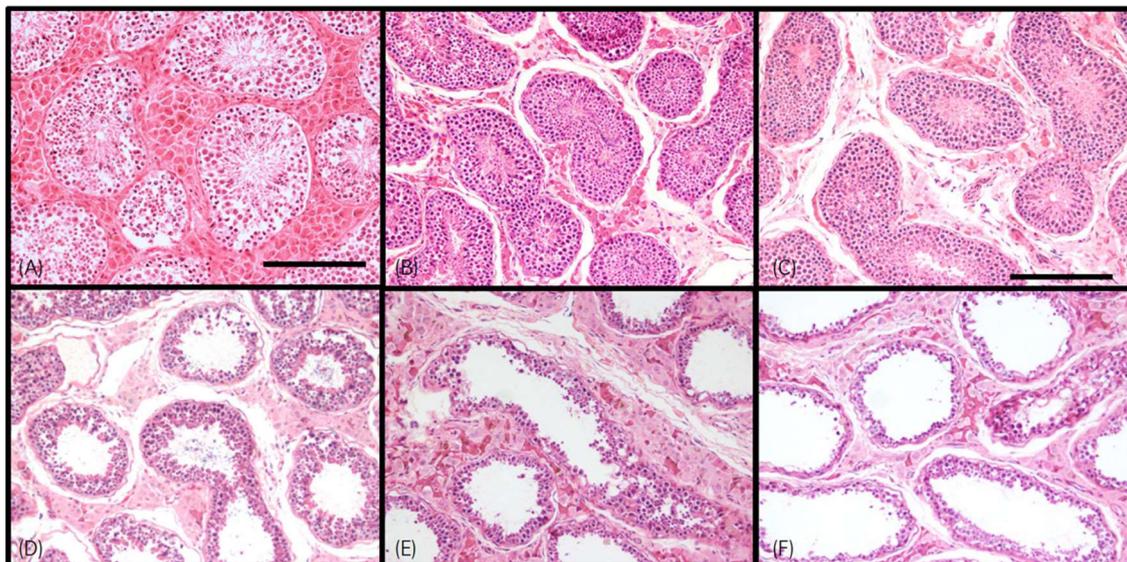


Figura 1. Painéis A–C ilustram a aparência histológica representativa do tecido testicular de três garanhões adultos com espermatogênese normal robusta presente em mais de 90% dos túbulos observados em vários cortes diferentes dos testículos. Painéis D – F ilustram a aparência histológica representativa dos túbulos seminíferos de três garanhões com degeneração testicular relacionada à idade (coloração com hematoxilina e eosina. Barras = 200  $\mu$ M). Fonte: Adaptado de Woodward et al., 2023.

Em equinos, um modelo de xenoinxerto de tecido testicular demonstrou que o parênquima testicular envelhecido e degenerado quando colocado em um ambiente extratesticular “jovem” não resulta em nenhuma melhora na espermatogênese. Isto, juntamente com estudos endocrinológicos anteriores, evidencia que o defeito primário dessa degeneração está dentro do próprio testículo (Turner et al., 2010a). Assim, tratamentos sistêmicos para estimular a função testicular, incluindo a administração de gonadotrofina exógena e suplementos dietéticos, seriam ineficazes na melhoria desta condição (Turner; Zeng, 2012).

Já em outro estudo, Turner e colaboradores (2010) utilizaram novamente o xenoinxerto de tecido testicular envelhecido (incluindo espermatogônias envelhecidas) porém adicionando-o a um tecido testicular jovem. Foi observado que o contato com o tecido testicular jovem (nicho jovem) melhorou a sobrevivência de espermatogônias envelhecidas no testículo equino. Estes achados sugerem que as próprias espermatogônias podem ser relativamente resistentes ao envelhecimento e levanta a possibilidade de que terapias celulares possam ser desenvolvidas como um meio para mitigar os efeitos adversos do envelhecimento na espermatogênese (Turner et al., 2010b).

Recentemente, a caracterização da transcriptoma testicular de garanhões com severa degeneração testicular senil reforçou as evidências de que esta condição é ocasionada por mudanças no microambiente testicular. Análises de expressão gênica, bem como análises baseadas na ontologia genética, identificaram um aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias nos testículos dos garanhões acometidos. Esse aumento da inflamação foi correlacionada positivamente com as vias de sobrevivência celular, inibição de vias apoptóticas e aumento da formação de colágeno (Woodward et al., 2023).

Embora essas pesquisas ainda tenham muitas limitações, com a análise transcriptômica disponível, pesquisas futuras podem focar em como o envelhecimento afeta tipos celulares isolados. Assim, definir mais precisamente se o envelhecimento das espermatogônias, do nicho ou de ambos são os principais responsáveis pela ineficiência da espermatogênese (Woodward et al., 2023). Por fim, o entendimento da etiopatogenia da degeneração testicular senil será fundamental para definir abordagens relacionadas a prevenção, controle e tratamento desta condição.

### Obesidade e Síndrome Metabólica Equina

Para obter eficiência reprodutiva é essencial a harmonia entre os órgãos controladores do sistema reprodutor e tecidos alvo. O tecido adiposo é um órgão metabólico altamente ativo, que secreta os principais fatores endócrinos e inflamatórios (Kershaw e Flier, 2004). Estudos demonstram que o excesso de energia e sobrepeso podem alterar o sistema metabólico e consequentemente prejudicar o status reprodutivo. Em humanos o aumento de peso tem sido associado a alterações endócrinas, piora na qualidade do sêmen e redução da fertilidade (Katib, 2015).

A gordura visceral excessiva diminui os níveis séricos de globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG), T, T livre e aumento da conversão de T em  $17\beta$  estradiol ( $E_2$ ) (Chavarro et al., 2010). Além de alterar hormônios envolvidos na regulação da função das células de Sertoli e na espermatogênese, como as taxas de FSH/LH e níveis de inibina B (Kerr et al, 1993).

Os sistemas de domesticação de equinos demandaram importantes mudanças no comportamento normal da espécie. Estas mudanças vão desde a restrição da movimentação do animal (estabulação em baias) à utilização de dietas ricas em carboidratos não estruturais (ração) e limitação da interação entre os animais. Modificações que estimulam o estresse, aumentam a chance de obesidade e alterações metabólicas. Além disso, muitos criadores consideram um certo grau de obesidade normal, aceitável, ou até mesmo desejável potencializando ainda mais o impacto da adiposidade em equinos. A obesidade é estimada em 19 a 40% da população domesticada (Stephenson et al., 2011; Thatcher et al., 2012) sendo a hiperinsulinemia o distúrbio metabólico mais frequente na espécie (Morgan et al., 2014).

Em várias espécies incluindo equinos a adiposidade se correlaciona fortemente com a resistência à insulina e hiperinsulinemia, que influenciam a atividade do eixo HHG tanto em nível central quanto periférico nos testículos (Davidson et al., 2015). De igual modo, o tecido adiposo em excesso acarreta elevação na temperatura escrotal, aumento do estresse oxidativo (Barbagallo et al., 2021), estimulação da secreção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) que inibem a produção de testosterona por retroalimentação negativa no hipotálamo (Svartberg et al., 2004) e causam uma inflamação sistêmica crônica (HU et al., 2020).

A Síndrome metabólica equina (SME) é um distúrbio semelhante ao diabetes em humanos e possui como principal componente a desregulação da insulina (DI) (Frank e Tadros, 2014). Os fatores determinantes da DI incluem fatores nutricionais, genéticos e ambientais (Frank e Tadros, 2014, McCue et al., 2015) e estão correlacionados com a obesidade e o escore de condição corporal, além de animais resistentes à perda de peso (Morgan et al., 2015). O termo DI é usado para indicar um distúrbio da inter-relação entre as concentrações plasmáticas de insulina, glicose e lipídios (Durham et al., 2019) sendo definida como qualquer combinação de hiperinsulinemia basal, hiperinsulinemia pós-prandial ou resistência tecidual à insulina (Frank et al., 2022).

Com a resistência a insulina (RI) os tecidos que antes eram sensíveis à insulina param de responder a mesma, este fato acarreta em absorção deficiente de glicose e regula negativamente a translocação de membrana dos transportadores de glicose (GLUTs) nos tecidos, bem como o controle alterado de glicose (Morgan et al., 2015). Com a menor sensibilidade dos tecidos às concentrações fisiológicas de insulina é necessário um período prolongado de concentrações supra-fisiológica de insulina acarretando em hiperinsulinemia (Karikoski et al., 2015).

O diagnóstico pode ser obtido a partir da combinação de histórico (raça, ingestão de dieta rica em carboidrato, facilidade de ganhar peso), condição corporal, achados clínicos associados a um conjunto de testes laboratoriais afim de detectar alterações da relação de glicose e insulina além de alterações secundária a RI. Clinicamente a principal alteração observada é a laminitite, entretanto, edema prepucial e mamário, lipoma mesentérico, lactação inapropriada e subfertilidade também são observados (Durham et al., 2019)

Certifica-se então que o animal apresenta DI quando a insulina em jejum está acima de 20  $\mu$ IU/mL (Durham et al., 2019). Entretanto, não é possível dizer que o animal não seja insulino-resistente somente com a mensuração de insulina basal (Toribio e Burns 2017, Frank et al., 2020). Para isso, alguns testes mimetizam a dinâmica de glicose e insulina após a ingestão de alimentos, por meio da administração de glicose ou açúcar por via oral. O teste da tolerância à glicose oral é o mais simples e prático de ser realizado, apresentando boa comparação aos testes de tolerância a glicose intravenosa (Durham et al., 2019). Além disso, o teste oral é mais confiável na avaliação da DI quando comparado aos testes de tolerância à glicose intravenosa. Isto acontece devido ao efeito aditivo das incretinas sobre a secreção de insulina, uma vez que esses hormônios são liberados apenas pelo intestino quando estimulado por nutrientes (De Laat et al., 2016).

O tratamento da SME se baseia na retirada de fatores predisponentes e restabelecimentos do status metabólico, estas mudanças vão desde mudanças do manejo até utilização de fármacos (Figura 2). Em relação a alimentação prioriza-se a retirada de alimentos à base de grãos e cereais (concentrado) devido ao alto teor de carboidrato não estruturais (Durham et al., 2019). Além das mudanças na dieta, uma outra forma

de melhorar a sensibilidade a insulina é estabelecer uma rotina de exercícios (BIRD et al., 2016), entretanto, os exercícios devem ser estabelecidos de forma gradual e alinhados com base na estabilidade lamelar dos animais (Durham et al., 2019).

A influência da síndrome metabólica na concentração de vários hormônios essenciais para a função reprodutiva em éguas foi relatada na literatura, com alguns pesquisadores estabelecendo conexões entre o aumento das concentrações séricas de insulina e subfertilidade (Vick et al., 2007). Recentemente comprovou-se que obesidade em éguas causa acúmulo de lipídeos no fluido folicular, levando à sobrecarga metabólica e mitocondrial, aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e estresse oxidativo celular (Catandi et al., 2024).

Em garanhões não existem estudos sistemáticos relacionados a influência da síndrome metabólica e da obesidade na qualidade do sêmen. No entanto, redução significativa da qualidade espermática em foi observada em humanos e camundongos obesos. Em um estudo com 483 homens, Chavarro et al. (2010) observaram que espermatozoides com fragmentação de DNA foram significativamente mais numerosos em homens obesos. Similarmente, a hiperinsulinemia tem efeito inibitório na espermatogênese, aumentando os danos ao DNA nuclear e mitocondrial (Agbaje et al., 2007).

Em resumo, evidências científicas em várias espécies nos permitem hipotetizar que a adiposidade e síndrome metabólica pode alterar a harmonia entre os órgãos controladores do sistema reprodutor e tecidos alvo, e impactar significativamente em vários parâmetros reprodutivos como a síntese de testosterona, liberação de fatores pró inflamatórios, compactação anormal da cromatina espermática, redução do potencial de membrana mitocondrial e exteriorização de fosfatidilserina (Sermodade et al., 2013).

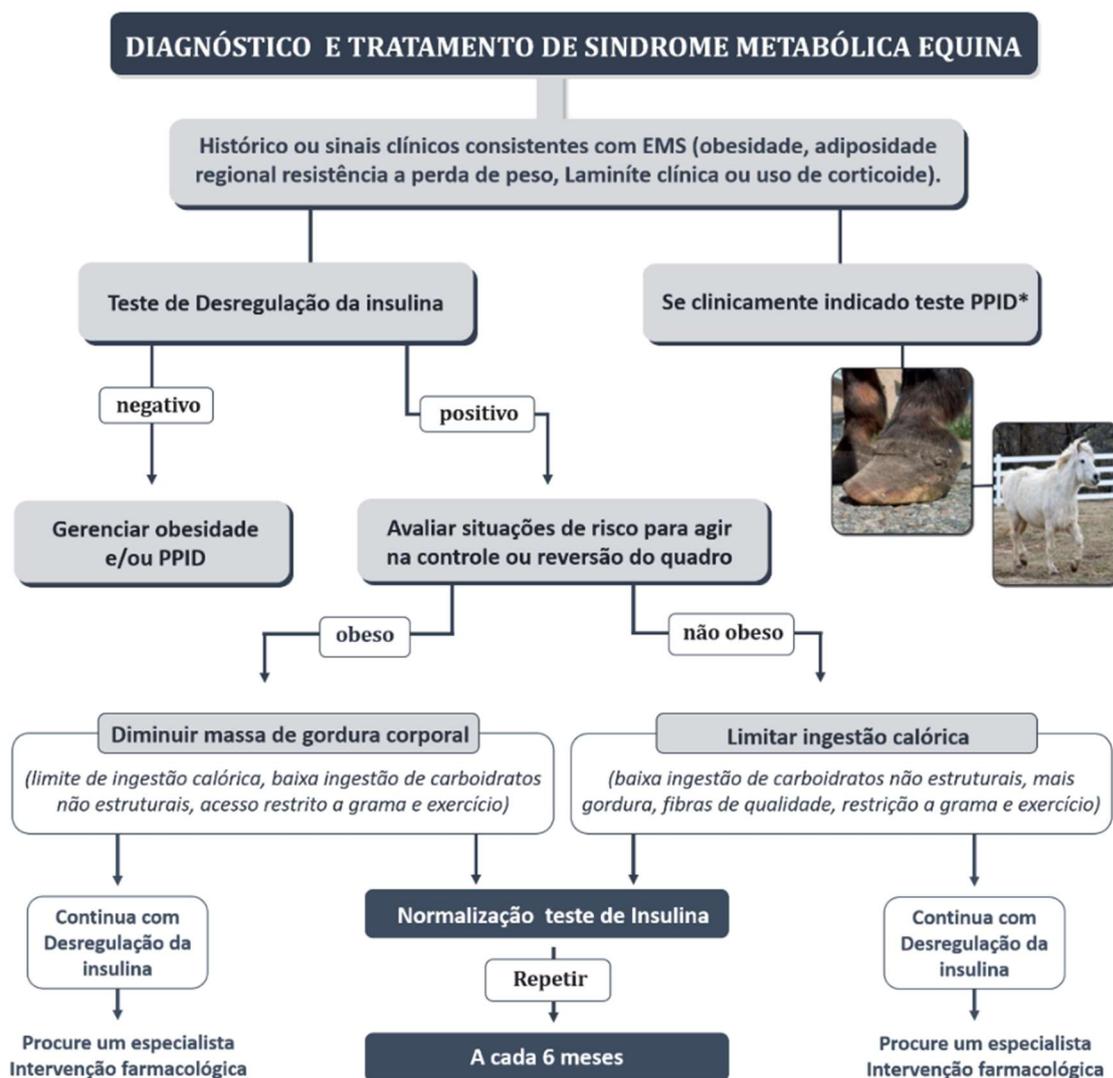


Figura 2. Fases do tratamento da desregulação insulinêmica (adaptado de Durham et al., 2019).

### **Disfunção da *pars intermedia* da pituitária**

A disfunção da *pars intermedia* da hipófise equina (PPID, doença de Cushing) é uma endocrinopatia comum que afeta 15–30% dos equídeos idosos (Brosnahan; Paradis, 2003; Van Der Kolk et al., 2004). Os sinais clínicos incluem hirsutismo, atrofia muscular, letargia, polidipsia, poliúria e hiperidrose, bem como distúrbios reprodutivos que levam a subfertilidade (Donaldson et al., 2002; McFarlane et al., 2010).

A fisiopatologia da doença não é completamente compreendida; no entanto, o PPID apresenta caráter progressivo lento e é comumente observado em cavalos com mais de 18 a 20 anos de idade (McFarlane et al., 2010). Uma das consequências mais debilitantes da PPID é a laminite. Embora a ligação entre laminite e PPID não seja clara, entre 30 e 70% dos cavalos com PPID também são diagnosticados com desregulação da insulina (McGowan et al., 2004; Horn et al., 2019). Essas duas condições são diferentes, mas estão conectadas, e a presença de DI em cavalos com PPID está associada à laminite (Tadros et al., 2019).

A doença é causada pela perda da inibição dopaminérgica da região *pars intermedia* hipofisária devido ao estresse oxidativo e subsequente neuro degeneração dos neurônios dopaminérgicos no hipotálamo. A perda da inibição dopaminérgica nos melanotopos da *pars intermedia* resulta em hiperplasia, formação de microadenoma ou macroadenoma e superprodução de peptídeos derivados de *proopiomelanocortina* (POMC), incluindo hormônio estimulador de melanócitos ( $\alpha$ -MSH) e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) (Hendricks et al., 1990; Kirkwood et al., 2022).

Devido a alteração do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, hormônios relacionados a reprodução como prolactina, GnRH, LH ou FSH e testosterona, produzida na glândula adrenal, são todos potencialmente alteradas em equinos com PPID. Essas alterações podem potencialmente resultar em uma diminuição da capacidade reprodutiva em éguas e garanhões (Ujvari et al., 2017).

Ademais, os efeitos do PPID na reprodução variam devido a fatores de confusão como idade, presença de PPID isoladamente ou com DI, obesidade e/ou DI. Em éguas, os sinais clínicos frequentes de PPID na reprodução são inatividade ovariana, aberrações ou ausência do ciclo, folículos anovulatórios e endometrite. Uma alta porcentagem de éguas apresentam galactorreia devido à hiperprolactinemia. Possíveis mecanismos de ação sistêmicos e locais de níveis elevados persistentes de ACTH, outros peptídeos da *pars intermedia* e glicocorticoides na reprodução.

Não existem até o momento estudos sistemáticos correlacionando a PPID à subfertilidade em garanhões. Já na medicina humana, foram descritos sinais de redução da capacidade reprodutiva em homens com síndrome de Cushing (perda de libido, ereção e diminuição da testosterona sérica). Nesse relato de caso, altos níveis de cortisol plasmático prejudicaram a função testicular e reduziram as concentrações de testosterona (Nacharaju et al., 1997). Em outro estudo, verificou-se a presença de adenoma hipofisário representando um prolactinoma e induzindo hiperprolactinemia (Bachelot; Binart, 2007).

Já é conhecido que a prolactina atua como um modulador no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (De Rosa et al., 2006), e que a sua secreção é regulada pela circulação portal hipofisária através da dopamina (Bachelot; Binart, 2007). Assim, altos níveis de prolactina têm efeitos negativos sobre os níveis de testosterona através da inibição do GnRH, levando a diminuição das secreções de LH e FSH (De Rosa et al., 2006). Esse efeito prejudica espermatogênese, diminui a libido e provoca disfunção erétil (De Rosa et al., 2006; Bachelot; Binart, 2007; Ogilvie; Milsom, 2011).

Assim como ocorre os estudos de síndrome metabólica equina, existem poucos relatos avaliando o efeito da PPID na capacidade reprodutiva, principalmente de machos. No entanto, em humanos o estresse oxidativo é uma causa conhecida de infertilidade masculina devido a alterações prejudiciais durante a espermatogênese, maturação do epidídimo e capacitação espermática, que podem levar à infertilidade (De Luca et al., 2021). Desse modo, associado aos demais fatores já mencionados, é importante refletir sobre o estresse oxidativo não só como um indutor da PPID, mas também como um fator que potencialmente poderia afetar negativamente a fertilidade dos garanhões.

### **Considerações finais**

As alterações metabólicas alteram a homeostase corporal, modificando diversas vias de comunicação, como por exemplo o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG). Esse desequilíbrio hormonal impacta diretamente a espermatogênese e a fertilidade dos garanhões, embora os mecanismos ainda não tenham sido totalmente compreendidos. A obesidade é o principal fator que predispõe ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos como desregulação insulinêmica e síndrome metabólica equina.

Por outro lado, o processo natural de envelhecimento, senilidade, parece reduzir a fertilidade devido a modificações do microambiente testicular e não por fatores extragonadaís.

### Referências

- Agbaje, I, Rogers, DA, McVicar CM, McClure N, Atkinson AB, Mallidis C & Lewis SEM.** Insulin dependant diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Human Reproduction*, v. 22, n. 7, p. 1871-187, 2007.
- Bachelot A, Binart N.** Reproductive role of prolactin. *Reproduction*, v.133, n.2, p. 361-369, 2007.
- Barbagallo F, Condorelli RA, Mongioi LM, Cannarella R, Cimino L, Magagnini MC, Crafa A, La Vignera S, Calogero AE.** Molecular Mechanisms Underlying the Relationship between Obesity and Male Infertility. *Metabolites*. v.11, p.840, 2021.
- Bird SR, Hawley JA.** Update on the effects of physical activity on insulin sensitivity in humans. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*, v.2, n.1, 2016.
- Brosnahan MM & Paradis M R.** Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989–1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(1), 93-98, 2003.
- Catandi GD, Fresa KJ, Cheng MH, Whitcomb LA, Broeckling CD, Chen T W & Carnevale EM.** Follicular metabolic alterations are associated with obesity in mares and can be mitigated by dietary supplementation. *Scientific reports*, v.14, n.1, p.7571, 2024.
- Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD & Hauser R.** Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility*, v.93, n.7, p.2222-2231, 2010.
- Chavarro J E, Toth TL, Wright DL, Meeker JD & Hauser R.** Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility*, v. 3, n.7, p.2222-2231, 2010.
- Davidson LM, Millar K, Jones C, Fatum M, Coward K.** Deleterious effects of obesity upon the hormonal and molecular mechanisms controlling spermatogenesis and male fertility. *Human Fertility*, v.18, 184-193, 2015.
- De Laat MA, McGree JM, Sillence MN.** Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism*, v.310, n.1, p.61-72, 2016.
- De Luca MN, Colone M, Gambioli R, Stringaro A & Unfer V.** Oxidative stress and male fertility: role of antioxidants and inositols. *Antioxidants*, v.10, n.8, p.1283, 2021.
- De Rosa M, Ciccarelli A, Zarrilli S, Guerra E, Gaccione M, Di Sarno A & Colao A.** The treatment with cabergoline for 24 month normalizes the quality of seminal fluid in hyperprolactinaemic males. *Clinical endocrinology*, v.64, n.3, p.307-313, 2006.
- Donaldson MT, LaMonte BH, Morresey P, Smith G & Beech J.** Treatment with pergolide or cyproheptadine of pituitary pars intermedia dysfunction (equine Cushing's disease). *Journal of veterinary internal medicine*, v.16, n.6, p.742-746, 2002.
- Durham AE, Frank N, McGowan CM, Menzies-Gow NJ, Roelfsema E, Vervuert I & Fey K.** ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of veterinary internal medicine*, v.33, n.2, p. 335-349, 2019.
- Frank N, Bailey S, Bertin F.** Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Equine Metabolic Syndrome. In: Equine Endocrinology Group. June 2020.
- Frank N, Bailey S, Bertin F, Burns T, De Laat M, Durham A, Kritchevsky J, Menzies-grow N.** Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Equine Metabolic Syndrome. In: Equine Endocrinology Group, 2022.
- Frank N, Tadros EM.** Insulin dysregulation. *Equine Veterinary Journal*, v.46, n.1, p.103-112, 2014.
- Gehlen H, Bartmann CP, Klug E, Schoon HA.** Azoospermia due to testicular degeneration in a breeding stallion. *J Equine Vet Sci*. 2001;21:137–9.
- Heinrichs M, Baumgärtner W, Capen CC.** Immunocytochemical demonstration of proopiomelanocortin-derived peptides in pituitary adenomas of the pars intermedia in horses. *Veterinary pathology*, v.27, n.6, p.419-425, 1990.
- Horn R, Bamford NJ, Afonso T, Sutherland M, Buckerfield J, Tan RHH, Bertin FR.** Factors associated with survival, laminitis and insulin dysregulation in horses diagnosed with equine pituitary pars intermedia dysfunction. *Equine veterinary journal*, v.51, n.4, p.440-445, 2019.
- Hu Q, Lu Y, Hu F, He S, Xu X, Niu Y, Zhang H, Li X, Su Q.** Resistant dextrin reduces obesity and attenuates adipose tissue inflammation in high-fat diet-fed mice. *International Journal of Medical Sciences*,

v.17, p.2611-2621.

**Katib A.** Mechanisms linking obesity to male infertility. *Central European Journal of Urology*, v68, P.79-85, 2015.

**Kerr JB, Millar M, Maddokcs S, Sharpe RM.** Stage-dependent changes in spermatogenesis and Sertoli cells in relation to the onset of spermatogenic failure following withdrawal of testosterone. *The anatomical Record*, v.235, p.547-559, 1993.

**Kershaw EE, Flier JS.** Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, v.89, p.2548-2556, 2004.

**Kirkwood NC, Hughes Kristopher J, Stewart AJ.** Pituitary pars intermedia dysfunction (PPID) in horses. *Veterinary Sciences*, v. 9, n. 10, p. 556, 2022.

**Love CC.** Relationship between sperm motility, morphology and the fertility of stallions. *Theriogenology* 76, p.547-557, 2011.

**McCue ME, Geor RJ, Schultz N.** Equine metabolic syndrome: a complex disease influenced by genetics and the environment. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.35, p.367-375, 2015.

**McFarlane D, Toribio RE.** Pituitary pars intermedia dysfunction (equine Cushing's disease). In: . In: Reed SM, Bayly WM, Sellon DC, editors. *Equine Internal medicine*. 3 ed., 1. St-Louis, USA: Saunders Company; p.1262-70, 2010.

**McGowan TW, Pinchbeck GP & McGowan CM.** Prevalence, risk factors and clinical signs predictive for equine pituitary pars intermedia dysfunction in aged horses. *Equine veterinary journal*, v.45, n.1, p. 74-79, 2013.

**Morgan RA, McGowan TW, McGowan CM.** Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal*, v.92, p.101-106, 2014.

**Morgan R, Keen J, McGowan C.** Equine metabolic syndrome. *Veterinary Record*, v.177, p.173-179, 2015.

**Nacharaju VL, Muneyirci-delale O Khan N.** Presence of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in human semen: evidence of correlation with semen characteristics. *Steroids*, v.62, n.3, p.311-314, 1997.

**Oatley JM, & Brinster, R. L.** The germline stem cell niche unit in mammalian testes. *Physiological reviews*, v.92, n.2, p.577-595, 2012.

**Ogilvie CM, Milsom SR.** Dopamine agonists in the treatment of prolactinoma: are they still first choice?. *Internal Medicine Journal*, v.41, n.2, p.156-161, 2011.

**Pickett BW.** Reproductive evaluation of the stallion. In: McKinnon AO, Voss JL (eds), *Equine Reproduction Philadelphia, London: Lea and Febiger*, 1993;755-768

**Ryu BY, Orwig KE, Oatley JM, Avarbock MR & Brinster RL.** Effects of aging and niche microenvironment on spermatogonial stem cell self-renewal. *Stem cells*, v.24, n.6, p.1505-1511, 2006.

**Sermode N, Faure C, Fezeu L, Shayeb AG, Bonde JP, Jensen TK, Vanwely M, Cao J, Martini AC, Eskandar M.** BMI in relation to sperm count: An updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human Reproduction*, v.19, p.221-231, 2013.

**Stephenson HM, Green MJ, Freeman SL.** Prevalence of obesity in a population of horses in the UK. *Veterinary Record*, v.168, p.131, 2011.

**Stewart BL & Roser JF.** Effects of age, season, and fertility status on plasma and intratesticular immunoreactive (IR) inhibin concentrations in stallions. *Domestic Animal Endocrinology*, v.15, n.2, p.129-139, 1998.

**Svartberg J, Vonmuhlen D, Sundsfjord J, Jorde R.** Waist circumference and testosterone levels in community dwelling men. The Tromso study. *European Journal of Epidemiology*, v.19, p657-663, 2004.

**Tadros EM, Fowlie JG, Refsal KR, Marteniuk J & Schott H C.** Association between hyperinsulinaemia and laminitis severity at the time of pituitary pars intermedia dysfunction diagnosis. *Equine veterinary journal*, v.51, n.1, p.52-56, 2019.

**Thatcher CD, Pleasant RS, GeorRJ, Elvinger F.** Prevalence of overconditioning in mature horses in southwest Virginia during the summer. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.26, p.1413-1418, 2012.

**Toribio RE, Burns TA.** Endocrine and Metabolic Evaluation in horses with Laminitis. In: BELKNAP J.K., GEOR R.J. (Eds.). *Equine Laminitis*. John Wiley & Sons, p.252-265, 2017.

**Turner RM, Zeng W.** The emerging pathophysiology of age-related testicular degeneration with a focus on the stallion and an update on potential therapies. *Reprod Domest Anim*. 2012;47:178-86.

**Turner RM.** Declining testicular function in the aging stallion: management options and future therapies. *Animal reproduction science*, v. 207, p. 171-179, 2019.

**Turner RM, Zeng W, Li Y, Modelski M & Dobrinski, I.** Paracrine factors from normal testicular tissue improve the condition of xenografts of degenerate testicular tissue. *Anim Reprod Sci S*, v.121, p.S198-S199, 2010.

- Turner RM, Rathi R, Honaramooz A, Zeng W, Dobrinski I.** Xenografting restores spermatogenesis to cryptorchid testicular tissue but does not rescue the phenotype of idiopathic testicular degeneration in the horse (*Equus caballus*). *Reprod. Fertil. Dev.* V.22, p.673–683, 2010a.
- Turner RM.** Pathogenesis, diagnosis, and management of testicular degeneration in stallions. *Clinical techniques in equine practice*, v. 6, n. 4, p. 278-284, 2007.
- Ujvari S, Gerber V, Sieme H, Fouché N & Burger D.** Effect of Pergolide Therapy on Semen Parameters in a Stallion With Pituitary Pars Intermedia Dysfunction. *Journal of equine veterinary science*, v.58, p.64-67, 2017.
- Van der Kolk JH, Heinrichs M, van Amerongen JD, Stooker RC & van den Ingh TS.** Evaluation of pituitary gland anatomy and histopathologic findings in clinically normal horses and horses and ponies with pituitary pars intermedia adenoma. *American journal of veterinary research*, v.65, n.12, p.1701-1707, 2004.
- Varner DD, Gibb Z, Aitken RJ.** Stallion fertility: a focus on the spermatozoon. *Equine Veterinary Journal*, v.47, n.1, p.16-24, 2015.
- Vick MM, Adams AA, Murphy BA, Sessions DR, Horohov DW, Cook RF, Fitzgerald BP.** Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of animal science*, v.85, n.5, p.1144-1155, 2007.
- Watson ED, Clarke CJ, Else RW, Dixon PM.** Testicular degeneration in 3 stallions. *Equine Vet Journal*, 26:507–10, 1994.
- Woodward E, Schlingmann K, Tobias J & Turner R.** Characterisation of the testicular transcriptome in stallions with age-related testicular degeneration. *Equine Veterinary Journal*, 55(2), p.239-252, 2023.
- Zhang X, Ebata KT, Robaire B & Nagano MC.** Aging of male germ line stem cells in mice. *Biology of reproduction*, v.74, n.1, p. 19-124, 2006.
-