



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE
REPRODUTORES CAPRINOS

Diego Luiz dos Santos Ribeiro

São Luís - MA

2015

DIEGO LUIZ DOS SANTOS RIBEIRO

**DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE
REPRODUTORES CAPRINOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal – UEMA, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Reprodução Animal
Orientador: Prof. Dr. José Ribamar de Souza
Torres Junior

São Luís - MA

2015

DIEGO LUIZ DOS SANTOS RIBEIRO

**DOPPLERFLUXOMETRIA NA AVALIAÇÃO ANDROLÓGICA DE
REPRODUTORES CAPRINOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciência Animal – UEMA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. José Ribamar de Souza Torres Junior, DSc – UEMA
(Orientador)

Prof. Ricardo de Macêdo Chaves, DSc – UEMA
(1º Membro)

Prof. Rinaldo Batista Viana, DSc - UFRA
(2º Membro)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e suprir todas as minhas necessidades.

À minha família, em especial, aos meus pais, Luiz e Lourdinha, pela educação, amor, incentivo e apoio em todos os momentos.

À minha noiva Larissa pelo apoio incondicional e por todas as vezes que me ajudou e me amparou nas horas mais difíceis. Por sua paciência e dedicação inigualáveis que sem elas com certeza não conseguiria chegar ao fim dessa árdua, tortuosa e principalmente gratificante jornada. A minha fiel companheira o meu amor e meus agradecimentos para aquela que esteve sempre a meu lado em todas as batalhas do começo ao fim.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Ribamar de Souza Torres Júnior, pelos ensinamentos prestados e confiança depositada em mim, criando sempre oportunidades para o meu crescimento profissional e pessoal. Por todas as vezes que esteve disposto a ensinar sempre com dedicação, empenho e principalmente paciência. A esse dedicado mestre, os meus mais sinceros agradecimentos.

Às companheiras Itamara e Hélyda pelas incontáveis gotas de suor que derramaram e às dezenas de noites mal dormidas, estando sempre dispostas a ajudar independentemente do dia, hora ou lugar. Porque companheiro é companheiro...

A toda equipe do LAPIVE-UFMA, Joaquim, Cleidiane, Douglas, Laryssa e Celso, pela contribuição na execução do experimento.

Aos amigos Cicero e Aline por todas as vezes q se dispuseram a contribuir com seu trabalho e experiências.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico do Maranhão – FAPEMA pela bolsa estudantil que me mantiveram no curso de Mestrado e pela aquisição do aparelho de Ultrassom via edital de auxílio à pesquisa.

Aos pecuaristas que cederam seus animais e instalações para o desenvolvimento desse experimento.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na execução deste trabalho.

RESUMO

Trinta caprinos machos em idade reprodutiva sem padrão de raça definida, oriundos de propriedades localizadas na região do Baixo Parnaíba, foram submetidos a dois exames reprodutivos com intervalo de sete dias, totalizando duas colheitas de dados por animal. Para caracterizar o fluxo sanguíneo testicular foram realizados exames ultrassonográficos nos modos Bidimensional para identificação de estruturas, Doppler espectral para estudos dopplervelocimétricos e Doppler colorido analisar a extensão do fluxo sanguíneo. O exame andrológico foi realizado e o sêmen avaliado quanto às características físicas e morfológicas. Com auxílio do aplicativo PRO CORR do software SAS®, foram estudadas as correlações entre as variáveis resposta obtidas por ultrassonografia, biometria testicular e espermograma. Os efeitos das variáveis classificatórias (animal, testículo e coleta) sobre as variáveis resposta, e suas interações, foram analisadas por ANOVA e comparadas pelo teste t de Student (PROC GLM) (paramétricas) pelo teste de Wilcoxon (PROC NPAR1WAY WILCOXON) (não-paramétricas), com significância de 5%. Não houve diferença entre os testículos direito e esquerdo quanto às características hemodinâmicas ($P>0,05$). O mesmo foi observado quando se comparou as coletas 1 e 2. As variáveis doppler do parênquima e doplexo testicular foram altamente correlacionadas. De modo geral, as correlações entre as variáveis doppler, idade e perímetro escrotal foram altas, apresentando valores de r variando de 0,68 a 0,36 e valores de p entre $<0,005$ a $<,000$. Não foram encontradas correlações significativas entre as características espermáticas e as variáveis Doppler. O exame Doppler demonstrou ser uma ferramenta complementar na avaliação reprodutiva de caprinos por fornecer informações sobre a arquitetura e o fluxo vascular testicular, tornando possível o diagnóstico de afecções que podem comprometer o potencial reprodutivo. Conclui-se que há alta correlação entre os fluxos vasculares do plexo e do parênquima testiculares, entre as variáveis dopplerfluxométricas e o desenvolvimento testicular, mas não com as características espermáticas em reprodutores caprinos.

Palavras-chave: Caprino. Sêmen. Fluxo sanguíneo. Doppler. Testículo.

ABSTRACT

A total of thirty crossbreed male goats were evaluated. Two reproductive exams were performed at an interval of 10 d. To characterize testicular blood flow, ultrasound examinations were conducted. Bidimensional ultrasonography was performed to identify testicular structures. The study of testicular blood flow and hemodynamics was made by spectral and color Doppler. Andrological and sperm traits were evaluated by breeding soundness evaluation (BCS). The correlation coefficients between ultrasound and andrological responses was performed by PRO CORR of SAS®. The effects of categorical variables (animal, testis and BSC session) on the response variables, and their interactions were analyzed by ANOVA and compared by the Student t test (PROC GLM) (parametric) or by Wilcoxon test (PROC Npar1way WILCOXON) (not - paramétricas), with 5% significance. The hemodynamic characteristics of right and left testes were similar ($P > 0.05$). The same was observed when comparing the samples 1 and 2. High significant correlation were observed between parenchyma and testicular doppler data. In general, the correlation between Doppler, age and scrotal circumference was high, with r values ranging from 0.68 to 0.36 and P values ranging from <0.005 to <.000. There were no significant correlations between sperm characteristics and Doppler data. The Doppler is a complementary tool to evaluate reproductive traits of male goats, reporting architecture and testicular vascular flow and making it possible to diagnose diseases that can compromise the reproductive potential. In conclusion, were found high correlation between the vascular flows of plexus and testicular parenchyma, between Doppler data and testicular development, but not in between Doppler data and semen characteristics of male goats.

Keywords: Goat. Semen. Blood flow. Doppler. Testicle.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Imagem ultrassonográfica de dados coletados da artéria testicular do plexo pampiniforme de caprinos para obtenção do índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), velocidade de pulso sistólico (VPS) e velocidade diastólica final (VDF) no modo espectral (Z5Vet, Mindray). 25
- Figura 2.** Exemplos de imagens do fluxo sanguíneo do plexo pampiniforme por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 1. B. Escore 2. C. Escore 3. D. Escore 4. E. Escore 5. 26
- Figura 3.** Exemplos de imagens do fluxo sanguíneo do parênquima testicular por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet, Mindray). A. Escore 4 (0 a 4). B. Escore 1. 27
- Figura 4.** Exemplo de uma imagem obtida por ultrassonografia em modo de Doppler colorido a partir do plexo pampiniforme (A) e parênquima testicular (C) e as mesmas imagens tratadas (B e D), através do programa Adobe Photoshop, a fim de se obter o número médio de pixels coloridos. 28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por cor ultrassonografia Doppler colorido do plexo pampiniforme de caprinos na pontuação de 1 a 5. 26
- Tabela 2.** Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por cor ultrassonografia Doppler colorido do parênquima testicular de caprinos na pontuação de 1 a 5. 27
- Tabela 3.** Comparação entre as características hemodinâmicas (média ± erro padrão médio) em relação ao testículo direito e esquerdo de caprinos em idade reprodutiva 31
- Tabela 4.** Correlação entre as características hemodinâmicas e andrológicas de caprinos em idade reprodutiva 33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1	Sistema reprodutor masculino	10
2.1.1	Anatomofisiologia.....	10
2.1.2	Irrigação arteriovenosa e termorregulação.....	12
2.2	Princípios básicos do Doppler	14
2.2.1	Doppler espectral.....	15
2.2.2	Doppler colorido.....	17
2.3	Aplicações da Ultrassonografia Doppler	17
2.3.1	Exame do fluxo sanguíneo testicular em medicina veterinária.....	18
2.3.2	Exame do fluxo sanguíneo testicular em medicina humana.....	19
2.4	Avaliação andrológica	20
3	OBJETIVOS	22
3.1	Geral	22
3.2	Específicos	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Local e animais experimentais	23
4.2	Exame ultrassonográfico	23
4.3	Exame andrológico	28
4.3.1	Morfometria testicular macroscópica.....	28
4.3.2	Avaliações do sêmen.....	29
4.4	Análise estatística	30
5	RESULTADOS	30
6	DISCUSSÃO	34
7	CONCLUSÕES	38
	REFERÊNCIAS	38

1 1 INTRODUÇÃO

2
3 A avaliação andrológica de reprodutores caprinos assume grande importância,
4 considerando as características do manejo reprodutivo adotado na maioria dos rebanhos
5 do Brasil, onde se utiliza principalmente a monta natural. A necessidade de testes para
6 predizer a capacidade reprodutiva de reprodutores caprinos em regime de monta natural
7 vem aumentando, principalmente devido à aquisição de animais com potencial
8 reprodutivo comprovado, por ser uma importante ferramenta para aumentar os índices
9 de produtividade na caprinocultura nacional (Ribeiro, 1997; Moreira et al., 2000).

10 Qualquer redução ou interrupção do fluxo sanguíneo testicular acarreta em dano
11 isquêmico e consequente deterioração espermática (KAY et. al. 1992), devido aos
12 túbulos seminíferos corresponderem a 70 a 80% da massa testicular e possuírem uma
13 concentração de oxigênio muito baixa quando comparadas a outros órgãos (SETCHELL
14 1990; TAKIHARA et. al. 1983). Portanto o fluxo sanguíneo é extremamente importante
15 para função dos testículos (HERWIG et. al. 2004).

16 A ultrassonografia Doppler é um método relativamente recente na rotina
17 veterinária e que fornece informações em tempo real da arquitetura vascular e dos
18 aspectos hemodinâmicos dos vasos sanguíneos examinados em diversos órgãos,
19 inclusive em testículos (CARVALHO et al., 2008). Essa técnica é baseada no efeito
20 Doppler, que pode ser definido como o princípio físico no qual se verifica a alteração da
21 frequência das ondas sonoras refletidas quando o objeto refletor se move em relação a
22 uma fonte de onda sonora (VERMILLON, 1997).

23 No Doppler colorido, um mapa de cor da vascularização em tecidos e órgãos é
24 visualizado por uma imagem bidimensional (modo B). Por outro lado, a análise
25 espectral de modo Doppler proporciona informação de velocidade e de resistência do
26 fluxo de sanguíneo (POZOR; McDONNELL, 2002; 2004).

27 O índice de resistência (IR) é um indicador de confiança para a utilização clínica
28 de rotina para identificar homens inférteis (BIAGIOTTI et al., 2002). A aparência
29 subjetiva das imagens no Doppler colorido e valores do IR e índice de pulsatilidade (IP)
30 têm sido utilizados como parâmetros de diagnóstico reprodutivo em cães
31 (GÜNZELAPEL et al., 2001; GUMBSCH et al., 2002). Em camelídeos, a

32 ultrassonografia Doppler em onda pulsada tem sido usada para medir o fluxo sanguíneo
33 testicular e comparar com a fertilidade (KUTZLER et al., 2011).

34 Na medicina humana, a ultrassonografia Doppler é utilizada rotineiramente
35 para analisar o fluxo de sangue na artéria testicular, sobretudo no diagnóstico de
36 anormalidades testiculares (Aydos et al 1993; Sidhu 1999; Sriprasad et al 2001) e
37 também para prever a espermatogênese (Pinggera et al 2008). Em cães, o Doppler
38 colorido vem sendo utilizado para se avaliar a próstata (Newell et al., 1998), e os
39 padrões de fluxo sanguíneo fisiológicos dos testículos (GünzelApel et al., 2001), O
40 Doppler espectral tem sido usado para caracterizar o fluxo sanguíneo na artéria
41 testicular de garanhões e de carneiros (POZOR; MCDONNELL, 2002; BATISSACO et
42 al., 2013).

43 Em caprinos, a ultrassonografia modo-B tem sido aplicada com relativo sucesso
44 no diagnóstico da degeneração testicular (CAVALCANTE et al., 2014), o que permite o
45 diagnóstico precoce desta anormalidade antes de sua manifestação clínica (AHMAD et
46 al., 1991). Atualmente, a divulgação do uso do Doppler na reprodução de caprinos é
47 escassa, pois até o momento se restringe a manuscritos nos quais se realizou diagnóstico
48 de gestação (ISHWAR, 1995), aferição do fluxo sanguíneo testicular (SAMIR et al
49 2015) e detecção de alterações testiculares (GOMES et al 2011; BATISSACO et al.,
50 2013). Contudo, não há estudos sobre a hemodinâmica testicular associada às
51 características espermáticas nessa espécie, a fim de se detectar mais precocemente
52 possíveis alterações que comprometam o potencial reprodutivo desses animais.

53

54 **2 REVISÃO DE LITERATURA**

55 **2.1 Sistema reprodutor masculino**

56 **2.1.1 Anatomofisiologia**

57 A maioria dos mamíferos possui o sistema reprodutor masculino composto por
58 testículos, epidídimo, ductos deferentes, ampola, próstata, vesículas seminais, glândulas
59 bulbouretrais e pênis (HAFEZ ; HAFEZ, 2004).

60 Os testículos inicialmente se localizam na cavidade abdominal e em seguida
61 migram para bolsa escrotal, onde se mantêm alojados a uma temperatura de 2 a 6°C
62 abaixo da temperatura corporal (GIER; MARION, 1970; WAITES, 1970; KASTELIC

63 et al., 1996). Em pequenos ruminantes, o escroto é pendular e longo, chegando a
64 ultrapassar as articulações do jarrete, e sua pele fina e flexível é recoberta por pêlos
65 aderindo-se com firmeza a túnica dartos subjacente (GODINHO et al., 1981; GETTY,
66 1986; DYCE et al., 1997).

67 Em caprinos adultos, os testículos chegam a pesar cerca de 200 a 300 gramas, e
68 são cobertos pela túnica albugínea, que aloja as artérias e veias testiculares (EVANS;
69 MAXWELL, 1987). Dentre as principais funções dos testículos pode-se citar a secreção
70 hormonal e a espermatogênese que se caracteriza por um processo contínuo, resultando
71 na produção diária de espermatozoides a partir das células-tronco da linhagem
72 germinativa, denominadas espermatogônias (CASTRO et al., 1997).

73 No interior dos testículos localiza-se a maior parte da massa testicular,
74 composta pelo parênquima, que do ponto de vista morfológico e funcional, se divide em
75 túbulos seminíferos, que são um emaranhado de estruturas contendo em seu interior o
76 epitélio germinativo (SETCHELL, 1978), constituindo cerca de 85 a 86% do volume
77 testicular (WROBEL et al., 1995), e o espaço intertubular, composto por tecido
78 conjuntivo, onde estão alojados os vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e as células de
79 Leydig que são responsáveis pela produção de andrógenos (SETCHELL, 1991).

80 A quantidade das células de Sertoli nos túbulos seminíferos está relacionada ao
81 tamanho dos testículos e à produção espermática (FRANÇA; RUSSELL, 1998). Os
82 pequenos ruminantes nascem com cerca de 25×10^7 células de Sertoli indiferenciadas
83 por testículo (KILGOUR et al., 1998), aumentando cerca de 500% com a chegada da
84 puberdade e é influenciado por fatores ambientais, nutricionais e hormonais, além da
85 raça do animal (HOCHEREAU-DE-REVIEERS et al., 1987).

86 Na fase pré-pubere, as células de Sertoli indiferenciadas se multiplicam
87 mediadas pelo FSH, e formam uma camada contínua ao redor dos túbulos seminíferos
88 (KILGOUR et al., 1998). Com a aproximação da puberdade, o perímetro escrotal atinge
89 cerca de 18 cm (SOUZA et al., 2001), o volume testicular atinge 25 cm^3 e o diâmetro
90 tubular atinge cerca de $100\mu\text{m}$, passando a ocupar 63% do volume do testicular. Após a
91 puberdade as células de Sertoli param de se multiplicar e passam a diferenciar-se
92 (HOCHEREAU-DE REVIEERS et al., 1987), iniciando dessa forma a espermatogênese,
93 com a formação das primeiras espermatogônias A (STEGER; WROBEL, 1996).

94 O perímetro escrotal tende a reduzir sua velocidade de crescimento e
95 estabilizar (YARNEY; SANFORD, 1993; SOUZA et al., 2001), devido ao pouco
96 crescimento do comprimento dos túbulos seminíferos que ocorre após maturidade
97 sexual (FRANÇA, 1987). Nessa fase, as células de Sertoli se ligam, formando a barreira
98 hematotesticular e iniciando os eventos cíclicos do epitélio seminífero (RUSSELL et al.,
99 1990; STEGER; WROBEL, 1996).

100 Após a produção dos espermatozoides no epitélio seminífero, estes são
101 liberados na luz dos túbulos e em seguida são conduzidos para uma rede testicular,
102 localizada no mediastino, que drena para os ductos eferentes, unindo-se para formar a
103 cabeça do epidídimos (ELLENPORT, 1986).

104 O epidídimos é uma estrutura alongada composta por um túbulo contorcido, tem
105 início na superfície cranial do testículo e está localizado ao longo da borda testicular
106 (DAVIDSON; BAKER, 2009). O epidídimos é dividido em cabeça, corpo e cauda, que
107 atuam no transporte e armazenamento de espermatozoides produzidos no testículo
108 (GRANADOS et al., 2006).

109 As vesículas seminais, bulbouretrais e próstata estão presentes no macho
110 caprino e tem a função de produzir o plasma seminal, importante para a sobrevivência
111 espermática no ejaculado (GRANADOS et al., 2006), além de atuar como veículo para
112 os espermatozoides serem transportados do trato genital do macho, ativar a motilidade
113 espermática e proporcionar um meio rico em nutrientes e tamponado, para manter a
114 sobrevivência dos espermatozoides após sua deposição no trato genital feminino
115 (EVANS; MAXWELL, 1990). O plasma seminal possui pressão osmótica semelhante
116 ao sangue e pH neutro (UPRETI et al., 1995).

117

118 2.1.2 Irrigação arteriovenosa e termorregulação.

119 O cordão espermático tem início no ânulo inguinal profundo, onde as partes que
120 o compõem se reúnem e estendem-se através do canal inguinal, passando na lateral do
121 pênis e terminando na borda superior do testículo onde se encontra inserido. É
122 composto pela artéria testicular, veias testiculares que constituem o plexo
123 pampiniforme, plexo testicular de nervos autônomos, ductos deferentes, feixes de tecido
124 muscular liso ao redor dos vasos e camada visceral da túnica vaginal (ELLENPORT,
125 1986).

126 A artéria testicular supre os testículos e o epidídimos com sangue arterial, e tem
127 origem na aorta dorsal, ao nível da terceira vértebra lombar, próximo ao local de origem
128 embrionária dos testículos, surgindo distalmente às artérias renais (DOGRA et al., 2006;
129 HAFEZ; HAFEZ, 2004). Após ultrapassar o cordão espermático, atinge os testículos e
130 em seguida se ramifica até o epidídimos (BUDRAS et al., 2007). Em adultos, a artéria
131 testicular após emergir do cordão espermático, se alonga e acompanha a margem do
132 epidídimos dos testículos, junto à cápsula, em curso linear e sem ramos. Essa artéria
133 marginal apresenta paredes mais finas e um diâmetro interno maior que a do cordão
134 espermático, devido ao fato de a artéria testicular, localizada no cordão espermático,
135 precisar se alongar mais que o normal para compensar a migração dos testículos para o
136 escroto (SETCHELL; BREED, 2006).

137 O parênquima testicular é permeado por uma densa rede de veias (SMITH,
138 1974). Dois sistemas venosos são distinguidos. Uma pequena porção do sangue venoso
139 no testículo é drenada, numa direção centrípeta através de veias que se unem para
140 formar a veia central, localizada na porção central cranial do testículo. A grande maioria
141 do sangue é drenada do testículo em uma direção centrífuga através do parênquima e
142 que se estendem para as veias interlobulares localizadas na cápsula do testículo,
143 formando a parede vascular superficial (SMITH, 1974; SCHUMMER; VOLLMER,
144 1995).

145 As veias testiculares se originam do plexo pampiniforme, que é formado
146 através da união de pequenas veias do testículo e epidídimos. As veias testiculares
147 circundam a artéria testicular e seguem em direção ao anel inguinal profundo, formando
148 dois ou três troncos venosos. Em nível da terceira vértebra lombar, os troncos venosos
149 unem-se para formar uma única veia testicular, e seguem acompanhando a artéria
150 testicular (HAFEZ; HAFEZ, 2004; NICKEL et al., 1979).

151 Foi observado em caprinos com bipartição escrotal que se prologam acima da
152 metade do comprimento testicular, um maior número de ramos terminais das artérias
153 testiculares quando comparados aos animais sem bipartição ou com bipartição abaixo da
154 metade do comprimento testicular. Isto se deve provavelmente à maior extensão da área
155 recoberta pelo escroto, o que não quer dizer que estes animais apresentam maior
156 irrigação, mas uma melhor distribuição (ALMEIDA et al., 2003).

157 Em mamíferos, os testículos permanecem constantemente alojados no escroto,
158 isso é um fator essencial para a espermatogênese, tendo em vista que a temperatura

159 apresenta-se de 2 a 6°C inferior a corporal. A temperatura intratesticular é regulada
160 pelos mecanismos de termorregulação, que são compostos pelos seguintes sistemas:
161 Glândulas apócrinas, situadas na bolsa escrotal, que promovem a sudorese e posterior
162 resfriamento do escroto; a túnica dartus e o músculo cremaster, que juntos promovem a
163 aproximação e o afastamento dos testículos da região inguinal e o plexo pampiniforme,
164 constituído por artéria e veias testiculares, que são responsáveis pela troca de calor e
165 consequente resfriamento do sangue arterial (VILLARES, 1976).

166 As artérias e veias auxiliam nos mecanismos de termorregulação do testículo
167 devido à íntima relação entre eles, proporcionando um eficiente mecanismo de contra
168 corrente, que consiste no resfriamento do sangue arterial enquanto passa pelos funículos
169 espermáticos. Este mecanismo expressa a propriedade de transferência de calor entre
170 fluidos com temperaturas diferentes e com fluxo em direção oposta aonde o sangue
171 arterial que chega aos testículos é resfriado pelo sangue venoso que deixa o testículo. A
172 temperatura do sangue da artéria testicular é reduzida ao longo de seu percurso do anel
173 inguinal interno, passando pelo plexo pampiniforme até a superfície dos testículos,
174 enquanto que a temperatura do sangue nas veias se eleva proporcionalmente à perda de
175 calor das artérias, no percurso entre os testículos e o anel inguinal externo. Quanto mais
176 próximas às artérias e veias estiverem da superfície testicular maior será a perda de
177 calor dos testículos (HAFEZ, 1995).

178 A elevação da temperatura testicular aumenta o metabolismo e a demanda de
179 oxigênio pelas células dos testículos, porém, seu fluxo sanguíneo é limitado, tornando-
180 se incapaz de suprir essa demanda, resultando, portanto, em hipóxia e redução da
181 qualidade seminal (VILLARES, 1976; KASTELIC et al., 1996; SETCHELL, 1998),
182 redução na fertilidade do macho (HULET et al., 1956), alterações na síntese de
183 proteínas e expressão de genes nas células germinativas e de Sertoli (GUO et al., 1999;
184 IKEDA et al., 1999; KUMAGAI et al., 2000).

185 Em cordeiros submetidos a altas temperaturas ambientes, foram observadas as
186 seguintes alterações: diminuição no peso testicular, degeneração das células
187 germinativas, vacuolização ou desaparecimento de túbulos seminíferos e forro epitelial,
188 formação de células gigantes multinucleadas, interrupção da atividade espermatogénica,
189 membranas basais engrossado com fibrose intersticial e aumento dos tecidos
190 conjuntivos peritubulares e um aumento nas concentrações séricas de cortisol
191 (RASOOLI et al., 2010).

192

193

194 **2.2 Princípios básicos do Doppler**

195 Ao longo das duas últimas décadas a ultrassonografia tem se popularizado
196 devido à sua utilidade para o estudo da estrutura e funcionamento dos órgãos internos
197 de um modo não destrutivo, não invasivo. A ultrassonografia em medicina e na
198 veterinária é atualmente um dos métodos de diagnóstico mais rápido e seguro devido à
199 possibilidade de se analisar imagens computadorizadas (PIERSON; ADAMS, 1995)

200 A ultrassonografia Doppler foi desenvolvida por Satomura e Kaneko, em 1960
201 e demonstrou ser um método eficaz e não invasivo capaz de avaliar as alterações
202 vasculares no testículo (LAM et al., 2005), além de fornecer informações sobre a
203 arquitetura vascular, direção e velocidade do fluxo sanguíneo de diversos orgãos
204 (CARVALHO et al., 2008). Essa técnica é baseada no efeito Doppler, que pode ser
205 definido como o princípio físico no qual se verifica a alteração da frequência das ondas
206 sonoras refletidas quando o corpo refletor se move em relação a uma fonte de onda
207 sonora. Quando os vasos sanguíneos são avaliados por essa técnica, as hemácias em
208 movimento dentro dos vasos comportam-se como corpos refletores e dessa forma a
209 ultrassonografia Doppler é capaz de registrar o movimento do sangue no sistema
210 cardiovascular (FEIGENBAUM, 1986; VERMILLON, 1997).

211 O deslocamento da frequência Doppler consiste na diferença entre a frequência
212 do som transmitido e a do refletido (SZATMARI et al., 2001). Na prática, se o sentido
213 do fluxo sanguíneo for em direção ao transdutor, a frequência Doppler terá valores
214 positivos, ou seja, o eco de retorno terá uma frequência mais alta do que aquele
215 transmitido e se o sentido do fluxo sanguíneo for contrário ao do transdutor, então a
216 frequência Doppler terá valores negativos, ou seja, a frequência refletida será mais baixa
217 do que aquela transmitida. A velocidade detectável pelo ultrassom Doppler é uma
218 função inversamente proporcional à frequência emitida pelo transdutor, ou seja, para se
219 monitorar fluxos sanguíneos em velocidades altas, é necessário utilizar frequências mais
220 baixas que as aplicadas para os modos bidimensionais (CERRI et al., 1998).

221 Com o auxílio do Doppler colorido é possível observar a perfusão testicular e
222 mostrar, de forma segura, a artéria testicular em todos os seus ramos utilizando o modo

223 Power Doppler, e é possível aferir a velocidade do fluxo sanguíneo em relação ao
224 tempo, utilizando o modo Doppler espectral (CARVALHO et al., 2008).

225

226 2.2.1 Doppler espectral

227 O transdutor do Doppler espectral é equipado com um cristal piezelétrico capaz
228 de transmitir ondas curtas de ultrassom, em forma de pulsos com intervalos regulares e
229 receber o sinal refletido no intervalo de tempo, e logo em seguida, compará-lo com
230 aquele transmitido. No modo espectral é possível medir uma região específica de cada
231 vez, dentro de um campo de imagem, possibilitando a aferição da velocidade do fluxo
232 sanguíneo dentro do vaso selecionado. A frequência de repetição é a quantidade de
233 pulsos que são emitidos por segundo (CARVALHO et al., 2008). A região onde os
234 sinais Doppler são mensurados é chamada de volume de amostra (ou *gate*)
235 (SZATMARI et al., 2001; YANIK,2002).

236 Após o recebimento do pulso sonoro refletido é feito o processamento do sinal,
237 onde as várias ondas de frequências diferentes são transformadas num espectro de
238 frequências. Em seguida, o sistema de processamento distribuirá as frequências de
239 deslocamento Doppler num gráfico, levando em conta o número de ondas apresentadas
240 numa mesma frequência (KAWAKAMA et al., 1993).

241 No modo espectral é possível se aferir os parâmetros dopplervelocimétricos,
242 que são fundamentais para avaliar a perfusão sanguínea nos testículos. Dentre as
243 variáveis observadas as mais relevantes são: velocidade de pico sistólico, velocidade
244 diastólica final e os índices de resistência e de pulsatilidade, que são calculados
245 automaticamente pelo Doppler (WOOD et al., 2010). As velocidades do pulso sistólico
246 e diastólica final representam a velocidade do sangue no pico da sístole cardíaca
247 representado pelo ponto máximo no gráfico espectral e a velocidade sanguínea no final
248 da diástole cardíaca é representada no gráfico espectral pelo ponto final do ciclo
249 cardíaco (COELHO et al., 2008). O índice de resistência (IR) indica a resistência do
250 fluxo sanguíneo causada pelo leito microvascular distal ao local de medição. Por outro
251 lado, o índice de pulsatilidade (IP) quantifica a pulsatilidade da onda (SCHURICH et
252 al., 2009).

253 Os valores dopplervelocimétricos são dispostos em um gráfico espectral gerado
254 a partir das informações coletadas do fluxo sanguíneo do vaso selecionado. O fluxo

255 sanguíneo em direção ao transdutor é mostrado no gráfico acima da linha da base e o
256 fluxo que vai em direção contrária ao transdutor fica disposto abaixo da linha de base,
257 sendo o fluxo zero representado pela linha base (YANIK, 2002). Para medir a
258 velocidade do sangue é necessário determinar o ângulo Doppler. O Ângulo de
259 insonação ou ângulo Doppler é o ângulo de intersecção do pulso de ultrassom com a
260 direção do movimento das células vermelhas do sangue. Para produzir um espectro
261 preciso é necessário um ângulo Doppler de 30 ° a 60 ° (GINTHER, 2007).

262 No modo Doppler espectral, a frequência de deslocamento Doppler não é
263 representada apenas como gráfico, mas também são audíveis. As artérias têm um som
264 semelhante a um assovio, enquanto que as veias possuem um som semelhante ao vento
265 soprando continuamente. A altura do som audível é diretamente proporcional à
266 quantidade de células sanguíneas em movimento e a velocidade do fluxo (SZATMARI
267 et al., 2001).

268 A perfusão normal dos tecidos está relacionada com o índice de resistência,
269 onde alterações tissulares nos testículos acarretam em elevação desses valores em casos
270 de contagem anormal de espermatozoides (SCHURICH et al., 2009). Foi sugerida,
271 também, a importância do índice de resistência, assim como a velocidade de pico
272 sistólico para a estimativa da taxa de produção espermática (BIAGIOTTI et al., 2002).

273

274 2.2.2 Doppler colorido

275 No modo Doppler colorido é possível analisar vários volumes de amostragem
276 dentro de uma região circunscrita (caixa colorida), possibilitando avaliar em tempo real
277 a perfusão vascular local no interior do tecido (GINTHER, 2007). Cada elemento
278 contido na caixa colorida emite um sinal e cada um desses elementos é interpretado por
279 cores em relação ao sentido e por tonalidade em relação à velocidade do fluxo
280 (KAWAKAMA et al., 1993). Por uma imagem em escala de cinza bidimensional (modo
281 B), um mapa colorido da vascularização dos tecidos ou órgãos é visualizado (POZOR;
282 McDONNELL, 2002; 2004).

283 Ao lado da imagem gerada pelo ultrassom, uma barra colorida ilustra a direção
284 do fluxo em relação ao transdutor. Fluxo com sentido em direção ao transdutor é
285 apresentado no monitor pela cor vermelha e aquele, que tem direção contrária, é azul.

286 Fluxos de maior velocidade são expressos por tonalidades mais claras da mesma cor
287 (TAYLOR; HOLLAND, 1990).

288 O fenômeno aliasing é observado em fluxo com altas velocidades, e é
289 interpretado no monitor por um mosaico colorido, que pode ser observado, por
290 exemplo, no ducto venoso. Fluxo de turbulência pode também ser representado por
291 mosaico de cores e é observado no bulbo carotídeo (NIMURA, 1998).

292

293 **2.3 Aplicações da Ultrassonografia Doppler**

294 O estudo ultrassonográfico é um método de diagnóstico comum e sendo
295 amplamente utilizado na Medicina Veterinária, por ser considerada uma técnica não
296 invasiva, segura para o paciente, acessível e que fornece diagnósticos, muitas vezes,
297 precisos, principalmente na avaliação reprodutiva de pequenos animais (DAVIDSON;
298 BAKER, 2009). E quando aliada ao Doppler, permite a avaliação da dinâmica do fluxo
299 sanguíneo e a detecção da neovascularização, empregada na Medicina Humana
300 (FORESTA et al. 1998; SHIRAI SHI et al., 2009), e mais recentemente na Medicina
301 Veterinária (FORSBERG, et al., 2002).

302

303 **2.3.1 Exame do fluxo sanguíneo testicular em medicina veterinária**

304 O uso do Doppler associado à avaliação ultrassonográfica bidimensional em
305 Medicina Veterinária é um método relativamente recente e a avaliação do trato
306 reprodutor masculino vem sendo pouco estudada nas diferentes espécies (CARRILLO
307 et at., 2002; FORSBERG et al., 2002).

308 A ultrassonografia Doppler é importante na avaliação de afecções que acometem
309 os testículos, sendo possível verificar mudanças, tanto na perfusão sanguínea quanto nos
310 valores dopplervelocimétricos. A análise subjetiva das imagens geradas pelo Doppler
311 colorido e os valores do índice de resistência e do índice de pulsatilidade tem sido
312 utilizado como parâmetro de diagnóstico de diversas patologias em cães
313 (GÜNZELAPEL et al., 2001; GUMBSCH et al., 2002).

314 Em camelídeos, o Doppler espectral, tem sido usado para medir o fluxo
315 sanguíneo testicular e comparar com a fertilidade (KUTZLER et al., 2011). Em

316 garanhões, a ultrassonografia com Doppler foi eficiente na caracterização do fluxo
317 sanguíneo testicular (POZOR; MCDONNELL, 2002).

318 Kutzler et al. (2011) verificaram em estudos em camelídeos que, os parâmetros
319 "velocidade de pulso sistólico" e "velocidade diastólica final" quando aferidos na artéria
320 testicular do cordão espermático, diferiam entre animais férteis e inférteis, sendo
321 maiores em animais férteis. Quando esses parâmetros são mensurados na artéria
322 marginal do testículo, apenas a velocidade de pulso sistólico é maior em animais férteis
323 que em inférteis, demonstrando que nos animais férteis, a vascularização do órgão é
324 mais eficaz para a realização das funções fisiológicas dos testículos. O mesmo foi
325 verificado por Zelli et al. (2013), que identificaram a relação entre o fluxo sanguíneo
326 testicular e a qualidade espermática de cães, mostrando que esses parâmetros podem ser
327 utilizados como potenciais marcadores dessa qualidade.

328 Em estudos desenvolvidos em cães, que objetivavam comparar o fluxo da
329 artéria testicular como a espermatogênese, foi possível constatar que os índices de
330 resistência e de pulsatilidade são os parâmetros mais eficientes na avaliação qualitativa
331 da espermatogênese, auxiliando no diagnóstico de animais que apresentam
332 oligospermias ou mesmo azoospermias (ZELLI et al., 2013).

333 Nos últimos anos, o Doppler vem se tornando cada vez mais disponível para
334 utilização na prática veterinária. Até o momento, os trabalhos publicados com Doppler
335 que caracterizam a vascularização periférica em cavalos inclui caracterização do fluxo
336 de sanguíneo de artérias dos membros anteriores e posteriores de cavalos, artérias
337 renais, artéria carótida e artérias uterinas e ovarianas e testicular (COCHARD et al.,
338 2000; BOLLWEIN et al., 1997)

339

340 2.3.2 Exame do fluxo sanguíneo testicular em medicina humana

341 O Doppler em medicina humana vem sendo utilizada para avaliar o fluxo de
342 sangue na artéria testicular e aplicado no diagnóstico de patologias testiculares
343 associadas com alterações do fluxo sanguíneo, como a torção do cordão espermático,
344 infarto testicular ou varicocele (POZOR; MCDONNELL, 2002)

345 O doppler colorido vem sendo útil na identificação de alterações inflamatórias
346 ou neoplásicas dos testículos e epidídimos, bem como na avaliação de outros distúrbios
347 do escroto de homens (HERBENER et al., 1996; GORECKA-SZYLD, 1999). O estudo

348 do fluxo de sanguíneo testicular por intermédio do Doppler vem demonstrando ser
349 essencial para a distinção entre a torção de cordão espermático (falta de fluxo
350 sanguíneo) e orquiepididimites (aumento do fluxo de sangue) (DUBINSKY et al.,
351 1998).

352 Em homens oligospérmicos foi observado que o índice de resistência na artéria
353 intratesticular é maior quando comparado aos normospérmicos, demonstrando que os
354 valores dopplervelocimétricos podendo servir de parâmetro para diagnosticar
355 infertilidade em homens (PINGGERA et al., 2008) e para diferenciar azoospermias
356 obstrutivas e não obstrutivas (FORESTA et al., 1998).

357 Em casos de patologias extratesticulares, o Doppler pode diagnosticar
358 patologias, como hidrocele, espermatocèle e varicocele. Na varicocele, tem
359 sensibilidade e especificidade superiores a 90% (Sociedade Brasileira de Urologia,
360 2008). Nas patologias testiculares, demonstra as alterações do fluxo sanguíneo no
361 parênquima em caso de torção, que leva a redução do fluxo sanguíneo e orquite e
362 neoplasias, leva a um aumento no fluxo sanguíneo (TIEMSTRA et al., 2008).

363

364 **2.4 Avaliação andrológica**

365 A avaliação andrológica é o procedimento mais utilizado para avaliar o potencial
366 de fertilidade de um reprodutor (SALVADOR et al., 2002). A avaliação reprodutiva de
367 um macho destinado à reprodução se baseia na observação da saúde geral, saúde
368 hereditária, saúde genital, *potentia coeundi* e *potentia generandi* (CBRA, 1998). As
369 características físicas e morfológicas do sêmen caprino têm sido estudadas por diversos
370 autores, para se estabelecer os padrões para seleção de reprodutores caprinos a partir da
371 avaliação clínico-andrológica do ejaculado. (Vinha; Megale, 1980; Mies Filho, 1987; Nunes et
372 al., 1997; Hafez; Hafez, 2004),

373 A avaliação andrologia é iniciada pelo exame clínico geral, que consiste em o
374 técnico, por meio de observações e inspeções, em estação e em movimento, avaliar a
375 condição corpórea do animal isso inclui os sistemas nervoso, respiratório, digestivo e
376 locomotor, atentando para os aprumos, articulações e cascos, assim como, ao estado
377 nutricional (UNANIAN et al., 2000). Os órgãos do sistema genital devem ser avaliados,
378 por observação, inspeção e palpação, podendo ser complementada pela ultrassonografia.

379 Devem-se analisar, nesta fase do exame, presença e posição dos órgãos, bem como
380 dimensão, consistência, simetria e mobilidade (RADOSTITS et al., 2002).

381 O aspecto do ejaculado é avaliado de acordo com a cor e a aparência. Esta
382 avaliação depende principalmente da concentração de espermatozoides e eventualmente
383 da presença de sangue, pus, urina, células epiteliais, detritos, etc. (CBRA, 1998). O
384 sêmen dos animais pode apresentar aspecto cremoso, tendo variações desde o cremoso
385 espesso ao cremoso fino, leitoso, opalescente ou soroso e aquoso. A estimativa da
386 concentração espermática pode ser efetuada, de forma empírica levando (MIES FILHO
387 et al. 1987). Hafez; Hafez (2004) afirmaram que o sêmen de caprino tem coloração que
388 varia de branca acinzentada a amarela.

389 O volume é expresso em mililitros (mL) é suscetível a variações, dependendo
390 do método de colheita, da espécie animal, do tempo de descanso anterior à colheita,
391 tempo de excitação, entre outros. O volume do ejaculado de caprinos, varia de 0,2 a 2,0
392 mL tendo como média 0,8 mL (BEZERRA et. al., 2007).

393 Para se avaliar o ejaculado, observam-se as características físicas como
394 volume, aspecto, turbilhão ou movimento de massa, motilidade total e motilidade
395 progressiva, vigor e concentração, a morfologia do espermatozoide e seus defeitos
396 (maiores e menores) (BEZERRA et. al., 2007),

397 O turbilhonamento é expresso em uma escala de zero a cinco (CBRA, 1998) ou
398 de 0 a 3 (BLOM, 1950). Possíveis variações na escala de turbilhão podem ocorrer
399 dependem do método de coleta e temperatura ambiente. Essa análise não pode ser
400 utilizada para desclassificar os reprodutores, porque mesmo sem apresentar
401 turbilhonamento os outros fatores de qualidade espermática podem apresentar-se
402 normais (VIU et. al. 2006).

403 A motilidade é o que avalia a movimentação dos espermatozoides, expresso em
404 porcentagem de acordo com a proporção de espermatozoides que apresentam motilidade
405 progressiva, esse parâmetro apresenta correlação com a fertilidade (SULLIVAN, 1970;
406 COLAS, 1981), devendo ser avaliada imediatamente após a coleta, o mínimo aceito
407 para o sêmen fresco é de 50,0% e o sêmen congelado de 30,0% (CBRA, 1998).

408 Segundo Garner; Hafez (2003), apenas a avaliação da motilidade espermática
409 não é um método seguro para se estimar a real capacidade fertilizante do reprodutor,
410 pois espermatozoides mesmo móveis podem apresentar alterações na membrana

411 plasmática de difícil visualização durante a avaliação da motilidade. A combinação de
412 vários fatores em uma análise multifatorial seria segundo MELO (1999), o mais
413 apropriado para o diagnóstico da funcionalidade dos espermatozoides.

414 O vigor espermático é graduado por uma escala de 0 a 5, essa escala é utilizada
415 para sêmen fresco e congelado, e representa a intensidade de deslocamento da célula no
416 campo do microscópio (CHACUR, 1999). A graduação representa a totalidade dos
417 espermatozoides em movimento progressivo retilíneo e o valor mínimo aceitável é três
418 (MIES FILHO, 1975; CBRA, 1998).

419 A concentração espermática do ejaculado depende de vários fatores, dentre eles
420 podemos citar o método da coleta do sêmen, tempo de estimulação do reprodutor,
421 ambiente, frequência de ejaculação, volume dos testículos, idade, fase reprodutiva e
422 raça (SMITH et al., 1989).

423 Características morfologias espermáticas do ejaculado, podem refletir a função
424 fisiológica dos testículos e epidídimos indicando seu funcionamento normal, ou anormal
425 em casos de patologias testiculares. Durante a transição do animal da fase jovem para
426 adulta, a fisiologia testicular sofre uma rápida modificação. Uma serie de métodos
427 utilizados para avaliação da célula espermática são comprovadamente eficazes, dentre
428 eles os mais utilizados são a microscopia óptica com utilização de corantes, microscopia
429 de contraste de fase e a utilização de sondas fluorescentes (SALVADOR et al., 2001).

430 As anormalidades espermáticas são classificadas em defeitos maiores, e
431 menores (CBRA, 1998), esta classificação leva em consideração a maior ou menor
432 importância do defeito para a fertilidade. Através da avaliação morfológica é possível
433 também identificar outras células no ejaculado além dos espermatozoides, que fornecem
434 um indicativo de infecção, danos ao testículo ou degeneração testicular (CASTRO;
435 CARDOSO, 2001).

436

437 **3 OBJETIVOS**

438 **3.1 Geral**

- 439 • Correlacionar a dopplerfluxometria, biometria testicular e características
440 espermáticas em reprodutores caprinos.

441

442 **3.2 Específicos**

- 443 • Estudar a vascularização testicular e valores dopplervelocimétricos em
444 caprinos por meio de ultrassonografia Doppler;
445 • Comparar as variáveis fluxométricas testiculares e os parâmetros
446 andrológicos entre testículos direito e esquerdo;

447

448

449

450

451 **4 MATERIAL E MÉTODOS**

452 **4.1 Local e animais experimentais**

453 Foram utilizados trinta caprinos machos com idade média de 4,28 anos, sem
454 padrão racial definido (SPRD), oriundos de três propriedades localizadas na região do
455 Baixo Parnaíba, Estado do Maranhão, Brasil, a 02°18' e 04°00' de latitude Sul e 41°37'
456 e 43°30' de longitude Oeste, a uma altitude 110m em relação ao nível do mar.

457 Foram selecionados animais sexualmente maduros, segundo o padrão mínimo
458 estabelecido para a seleção de reprodutores caprinos para monta natural (COLÉGIO
459 BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 1998) e previamente utilizados como
460 reprodutores nas propriedades as quais pertenciam. Os animais eram mantidos em
461 regime semiextensivo, os quais eram recolhidos a um aprisco durante a noite e, durante
462 o dia, permaneciam em pastagem de capim nativo com água e sal mineral *ad libitum*.

463 Com o intuito de padronizar o período de descanso sexual e renovar as reservas
464 espermáticas, os animais foram submetidos a dois exames reprodutivos com intervalo
465 de sete dias, totalizando duas colheitas de dados por animal. O primeiro exame foi
466 realizado com os animais em descanso sexual variando de sete a 30 dias. O segundo
467 exame foi considerado o de caráter experimental, o qual foi realizado após esgotamento
468 das reservas espermáticas e sete dias de descanso sexual.

469

470 **4.2 Exame ultrassonográfico**

471 Para caracterizar o fluxo sanguíneo testicular foram realizados exames
472 ultrassonográficos nos modos Bidimensional e Doppler.

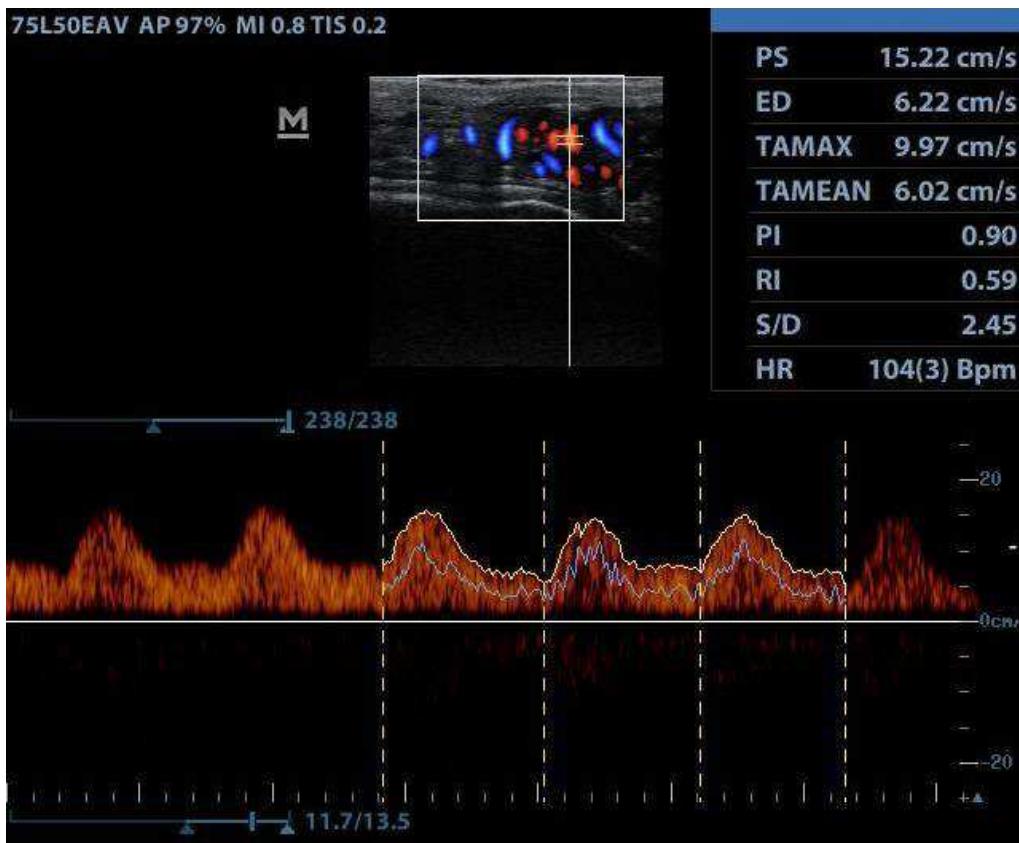
473 Foi utilizado um aparelho de ultrassom equipado com um transdutor linear de 6
474 MHz (Mindray, Modelo Z5Vet, Digital Ultrasonic Diagnostic Imaging System).

475 Foi realizada tricotomia na região para um melhor contato da superfície do
476 transdutor com a pele, a fim de se obter imagens de melhor qualidade sem potenciais
477 interferências. O transdutor foi posicionado no sentido longitudinal, diretamente sobre
478 pele da região central de ambos os cordões espermáticos para visualização dos plexos
479 pampiniformes e também sobre a pele na região central dos testículos para visualização
480 do parênquima testicular.

481 Inicialmente o aparelho foi ajustado em modo bidimensional (modo-B; escala
482 de cinza), para localização dos vasos sanguíneos. Em seguida, foi acionado o modo
483 Color Doppler para determinar a perfusão sanguínea, na qual a direção do fluxo
484 sanguíneo é indicada pelos sinais nas cores vermelha ou azul (GINTHER, 2007).
485 Objetivando análises posteriores, foi gravada a imagem que evidenciou maior área de
486 perfusão sanguínea e com melhor qualidade, o fluxo sanguíneo. Para isso, o fluxo
487 sanguíneo foi continuamente monitorado por um minuto e, por meio do recurso
488 “cineloop”, foi escolhida melhor imagem.

489 O modo Doppler espectral foi utilizado para monitorar os valores
490 dopplervelocimétricos da artéria testicular no plexo pampiniforme. Os dados foram
491 obtidos colocando o cursor na artéria testicular no plexo pampiniforme, para se obter
492 uma sequência de gráficos espectrais com ciclos distintos e simétricos da sístole e
493 diástole cardíaca (Figura 1). Um ciclo cardíaco foi escolhido para medir os índices de
494 resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP), velocidade do pulso sistólico (VPS) e a
495 velocidade diastólica final (VDF). Todos os scanners nos modos Doppler colorido e
496 espectral foram realizados em uma configuração constante de ciclo cardíaco, ganho,
497 configurações de filtro e definição do intervalo de velocidade.

498



499

500 **Figura 1.** Ultrassonografia Doppler da artéria testicular no plexo pampiniforme de caprinos para obtenção
501 do índice de pulsatilidade (IP), índice de resistência (IR), velocidade de pulso sistólico (VPS) e
502 velocidade diastólica final (VDF) no modo espectral (Z5Vet, Mindray).

503

504 A perfusão vascular foi avaliada subjetivamente por cinco avaliadores, através
505 das imagens da maior extensão da perfusão sanguínea do plexo pampiniforme e
506 parênquima testicular, capturadas no modo Doppler colorido. As pontuações máximas e
507 mínimas foram descartadas e as pontuações medianas utilizadas.

508 Os valores das avaliações foram classificados em escores de 1 a 5 para o plexo
509 pampiniforme, variando de vascularização extremamente baixa (escore 1) à
510 extremamente alta (escore 5) (Quadro 1 e Figura 2). Para o parênquima testicular, a
511 pontuação variou de 0 a 4, indicando vascularização aparentemente nula, baixa,
512 intermediária, alta, muito alta, respectivamente (Quadro 2 e Figura 3), de modo
513 semelhante ao descrito para útero de éguas (SILVA et al., 2005).

514 **Quadro 1.** Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por cor
515 ultrassonografia Doppler colorido do plexo pampiniforme de caprinos na pontuação de 1 a 5.

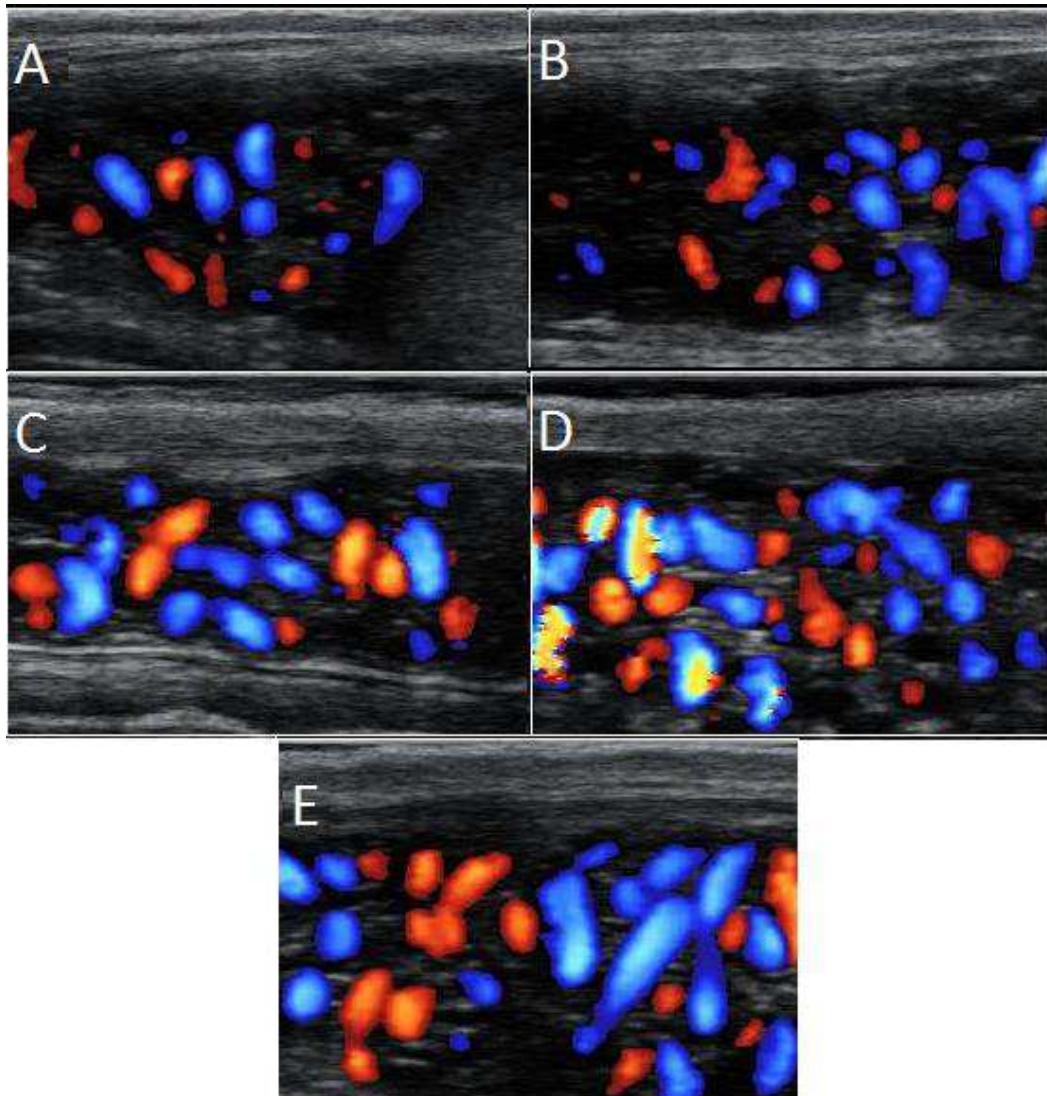
Escore	Percentual da área colorida	Visualização
1	0% - 20%	Vascularização extremamente pequena

2	21% - 40%	Pequena vascularização
3	41% - 60%	Media vascularização
4	61% - 80%	Grande vascularização
5	81% - 100%	Vascularização extremamente alta

516

Fonte: BATISSACO et al., 2013

517



518

519 **Figura 2.** Fluxo sanguíneo do plexo pampiniforme por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet,
 520 Mindray). **A.** Escore 1. **B.** Escore 2. **C.** Escore 3. **D.** Escore 4. **E.** Escore 5.

521

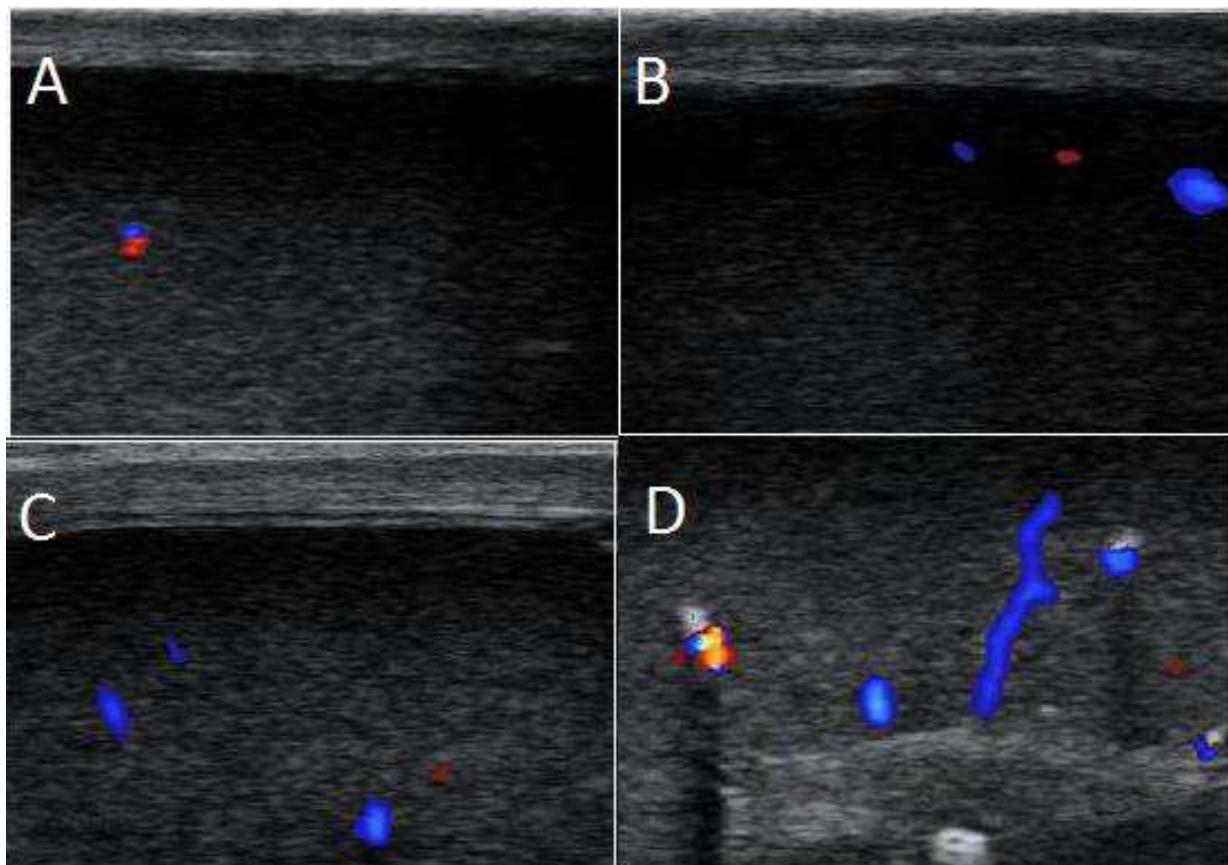
522 **Quadro 2.** Classificação dos escores utilizados para a avaliação da imagem obtida por cor
 523 ultrassonografia Doppler colorido do parênquima testicular de caprinos na pontuação de 1 a 5.

Escore	Percentual de área colorida	Visualização
0	0% - 20%	Vascularização aparentemente nula
1	21% - 40%	Vascularização baixa
2	41% - 60%	Vascularização intermediaria
3	61% - 80%	Vascularização alta
4	81% - 100%	Vascularização muito alta

524

Fonte: BATISSACO et al., 2013

525



526

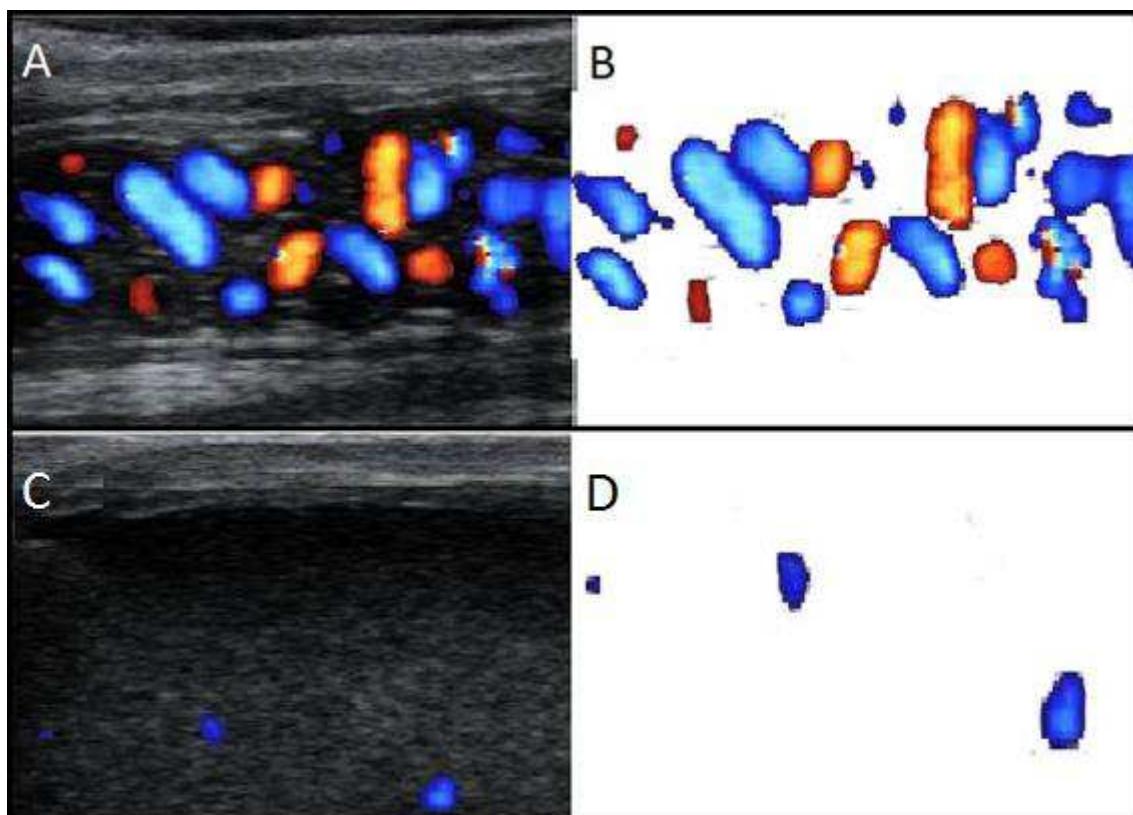
527 **Figura 3.** Fluxo sanguíneo do parênquima testicular por ultrassonografia Doppler colorido (Z5vet,
528 Mindray). **A.** Escore 1. **B.** Escore 2. **C.** Escore 3. **D.** Escore 4.

529

530

531 Também foi realizada avaliação objetiva da intensidade de pixels coloridos nas
 532 imagens, como descrito para éguas e novilhas (SILVA et al., 2005; GINTHER, 2007;
 533 ARAUJO; GINTHER, 2009). A medição da quantidade de pixels coloridos das imagens
 534 foi realizada com o auxílio do Adobe Photoshop CS5, que forneceu em escala de pixels
 535 a extensão da vascularização, do plexo pampiniforme e do parênquima testicular (Figura
 536 4) (SILVA; GINTHER, 2010).

537



538
 539 **Figura 4.** Ultrassonografia Doppler colorido em tempo real do plexo pampiniforme (A) e parênquima
 540 testicular (C) e as mesmas imagens tratadas, através do programa Adobe Photoshop (B e D).

541

542 **4.3 Exame andrológico**

543 A avaliação andrológica foi iniciada com o exame clínico geral através da
 544 identificação do escore de condição corporal (1 a 5, JORGE. et al. 2001), seguido da
 545 inspeção do prepúcio, escroto, pênis, testículos, epidídimos, simetria, consistência e
 546 mobilidade testicular. Foram observadas, também, lesões e infestações parasitárias,
 547 segundo recomendações de Mies Filho (1975). A palpação dos testículos e epidídimos
 548 foi realizada individualmente, levando em consideração a consistência testicular e a
 549 mobilidade dos testículos dentro do escroto.

550

551 **4.3.1 Morfometria testicular macroscópica**

552 O perímetro escrotal (PE) foi aferido por meio de uma fita métrica flexível, na
553 posição mediana do escroto, no ponto de maior dimensão horizontal, envolvendo as
554 duas gônadas e a pele escrotal. Empregando-se paquímetro, foi medido o comprimento
555 testicular (COMP), medida tomada no sentido dorsoventral de cada testículo, excluindo
556 a cauda do epidídimos. O diâmetro testicular ou espessura dos testículos (DIÂM) foi
557 aferido mensurando-se a maior distância no sentido craniocaudal de cada testículo. Os
558 valores finais de comprimento e diâmetro testiculares expressam a média dos dois
559 testículos (CBRA, 1998).

560

561 **4.3.2 Avaliações do sêmen**

562 O sêmen foi coletado pelo método de eletroejaculação, realizado após a devida
563 contenção do animal. Logo após a colheita o sêmen foi avaliado por métodos
564 convencionais de microscopia de luz comum quanto às características físicas (volume,
565 concentração espermática, motilidade espermática progressiva, vigor espermático e
566 turbilhonamento) e morfológicas (anormalidades morfológicas). A avaliação das
567 características físicas foi realizada pela deposição de uma gotícula de sêmen entre
568 lâmina e lamínula previamente aquecidas a 37°C e levadas à microscopia de luz com
569 aumento de 100x. A motilidade foi expressa como o percentual de espermatozoides
570 móveis e, o vigor, representando a força do movimento e a velocidade dos
571 espermatozoides (CBRA, 1998).

572 As avaliações microscópicas de turbilhonamento, motilidade progressiva e
573 vigor das células espermáticas, por ser um exame subjetivo, foram realizadas sempre
574 pelos mesmos examinadores. Para análise do turbilhonamento, seguindo a escala de
575 classificação 1 a 5, retirou-se uma alíquota de 10 µL do sêmen, a qual foi colocada
576 sobre a lâmina, e avaliado com auxílio de microscopia óptica convencional, com o
577 aumento de 100x. Em outra alíquota de 10 µL do sêmen, em uma lâmina recoberta por
578 uma lamínula, foi avaliada a motilidade espermática progressiva, que variou de 0 a
579 100%, seguido da avaliação do vigor espermático, em uma escala variando de 0
580 (ausente) a 5 (máxima), pelo método de microscopia óptica convencional, no aumento
581 de 100x a 400x.

582 Para o cálculo da concentração espermática o sêmen foi diluído em formol
583 salina na proporção de 1:200, e utilizou-se a contagem de células na câmara de
584 Neubauer. Para a montagem da câmara de Neubauer, a diluição (1:200) foi
585 homogeneizada e, em seguida, preenchida a câmara. Após homogeneização do material
586 montou-se a câmara de Neubauer, contaram-se todos os espermatozoides presentes em
587 cinco quadrados grandes da câmara. A contagem foi feita por microscopia de luz
588 convencional com aumento de 400x.

589 As análises morfológicas dos espermatozoides foram feitas pelo método de
590 coloração simples direta com rosa bengala e a avaliação realizada pela contagem de 200
591 células em aumento de 1000x, utilizando óleo de imersão, sob microscopia de luz
592 convencional. A câmara foi deixada em repouso cinco minutos para que as células
593 ficassem depositadas no fundo da mesma. Foram registradas anormalidades de
594 acrossoma, cabeça, peça intermediária e peça principal, como recomendado pelo
595 COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (CBRA, 1998). Os defeitos
596 foram classificados em maiores e menores seguindo a classificação proposta por Blom
597 (1973).

598

599 **4.4 Análise estatística**

600 A análise dos dados foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis
601 System for Windows SAS® (SAS, 2001). Através do aplicativo PROC UNIVARIATE,
602 os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e à homogeneidade das
603 variâncias pelo teste de Shapiro-Wilk.

604 As variáveis dependentes de distribuição normal (paramétricas) foram expressas
605 em média e erro padrão da média (média \pm EPM), analisadas por ANOVA e
606 comparadas pelo teste *t* de Student (PROC GLM) e as de distribuição não-normal (não-
607 paramétricas) pelo teste de Wilcoxon (PROC NPAR1WAY WILCOXON). Foram
608 também determinados os coeficientes de correlação de Pearson (paramétrica) e
609 Spearman (não paramétrica) entre as variáveis de acordo com a normalidade de cada
610 resposta (SAMPAIO, 2002).

611 O nível de significância para rejeitar H0 (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é,
612 para um nível de significância menor que 0,05, consideramos que houve efeito das
613 variáveis classificatórias e das suas interações.

614

615 **5 RESULTADOS**

616 O perímetro escrotal apresentou valor médio de $28,01 \pm 0,54\text{cm}$, variando de 24
 617 a $35,5\text{cm}$. O volume do ejaculado teve variações mínimas e máximas de 0,20 a $2,50\text{mL}$,
 618 com valor médio de $0,63 \pm 0,41\text{ mL}$. O vigor teve valor médio de $2,67 \pm 1,34$, com
 619 valores variando de 0 a 5. A média da motilidade foi $72,17 \pm 20,18\%$, variando de 20 a
 620 90%, e a concentração média foi de $1,93 \pm 1,38$ bilhões de espermatozoides por
 621 ejaculado, com valores variando de 0,20 a 6,60 bilhões. A avaliação da morfologia do
 622 sêmen mostrou $4,28 \pm 1,24\%$ de defeitos menores, variando de 2 a 9%, $1,85 \pm 0,91\%$ de
 623 defeitos maiores, variando de 0,50 a 5,50%. O total de espermatozóides anormais foi de
 624 $6,13 \pm 1,50\%$, variável entre 3 e 10%. A idade teve valor médio de 4,28 anos, com
 625 valores variando de 1 a 9. O escore de condição corporal variou de 1 a 4 (escore de 1 a
 626 5) com valor médio de 2,32.

627 As médias, erros-padrão das médias, valores mínimos e máximos das
 628 características hemodinâmicas dos caprinos estão apresentadas na Tabela 3. Não houve
 629 diferença entre coletas, nem entre os testículos direito e esquerdo quanto às
 630 características hemodinâmicas.

631

632 **Tabela 3.** Médias, erros-padrão das médias, valores mínimos e máximos das características
 633 hemodinâmicas testiculares de reprodutores caprinos.

Variável	Testículo		valor de P
	Direito	Esquerdo	
Quantidade de pixel do plexo	$9790,22 \pm 437,08$	$9357,68 \pm 383,56$	0,59
Escore do Plexo	$2,76 \pm 0,12$	$2,68 \pm 0,10$	0,82
Quantidade de pixel do parênquima	$717,05 \pm 53,82$	$591,47 \pm 32,97$	0,25
Escore do parênquima	$2,45 \pm 0,08$	$2,37 \pm 0,07$	0,85
Velocidade do pulso sistólico	$16,81 \pm 0,36$	$16,80 \pm 0,38$	0,89
Velocidade diastólica final	$7,78 \pm 0,26$	$8,01 \pm 0,29$	0,64

Índice de pulsatilidade	$0,83 \pm 0,04$	$0,80 \pm 0,04$	0,52
Índice de resistência	$0,53 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,02$	0,45

634

635 Em relação às variáveis andrológicas, quando comparadas entre coletas,
 636 verificou-se que somente o volume, com valor médio na coleta um de 0,71mL e na
 637 coleta dois de 0,56mL e total de defeitos menores com valores médios de 4,68% e
 638 3,88% nas coletas um de dois respectivamente, diferiram significativamente.

639 As correlações significativas entre as variáveis dopplerfluxométricas e
 640 andrológicas estão ilustradas na tabela 4, com valores máximos e mínimos de p
 641 variando entre 0,005 e <0,0001 e valores de r variando entre 0,36 a 0,97. De modo
 642 geral, as correlações entre as variáveis doppler, idade e perímetro escrotal foram altas,
 643 apresentando valores de r variando de 0,68 a 0,36 e valores de p entre <0,005 a
 644 <0,0001.

645 O detalhamento das correlações obtidas no presente estudo e suas respectivas
 646 significâncias estatísticas estão apresentadas na tabela 4. A velocidade do pulso sistólico
 647 (VPS) apresentou correlação significativa com a quantidade de pixels do plexo (PPI)
 648 ($r=0,48$; $p<0,0001$) e o escore do plexo (EPI) ($r=0,39$; $p=0,002$). O índice de
 649 pulsatilidade (IP) correlacionou-se com PPI ($r=0,33$; $p=0,009$), EPI ($r=0,26$; $p=0,045$),
 650 VPS ($r=0,62$; $p<0,0001$) e VDF ($r=-0,85$; $p<0,0001$).

651 Quando se correlacionou as variáveis hemodinâmicas e andrológicas,
 652 observou-se valores altamente significativos entre idade (IDA) com VPS ($r=0,37$;
 653 $p=0,003$), IP ($r=0,41$; $p=0,001$) e índice de resistência (IR) ($r=0,36$; $p=0,005$). O
 654 perímetro escrotal apresentou correlação positiva com VPS ($r=0,43$; $p=0,000$), IP
 655 ($r=0,47$; $p=0,000$) e IR ($r=0,49$; $p<0,0001$).

656

657

658

659

Tabela 2. Correlação entre as características hemodinâmicas testiculares e andrológicas de reprodutores caprinos.

	PPL	EPL	PPA	EPA	VPS	VDF	IP	IR	IDA	ECC	PE	MOT	VIG	TURB	VOL	CON	TDMA	TDME	TOT	NOR
PPL	---																			
<i>p=</i>																				
EPL	0,907	---																		
<i>p=</i>	<,000																			
PPA	0,406	0,417	---																	
<i>p=</i>	0,001	0,001																		
EPA	0,360	0,404	0,905	---																
<i>p=</i>	0,005	0,001	<,000																	
VPS	0,483	0,390	0,282	0,283	---															
<i>p=</i>	<,000	0,002	0,029	0,028																
VDF	-0,147	-0,101	0,071	-0,097	0,214	---														
<i>p=</i>	0,260	0,441	0,588	0,460	0,101															
IP	0,333	0,260	0,227	0,253	0,620	-0,859	---													
<i>p=</i>	0,009	0,045	0,081	0,051	<,000	<,000														
IR	0,301	0,230	0,210	0,256	0,613	-0,852	0,978	---												
<i>p=</i>	0,019	0,077	0,107	0,048	<,000	<,000	<,000													
IDA	0,685	0,615	0,609	0,476	0,375	-0,253	0,401	0,360	---											
<i>p=</i>	<,000	<,000	<,000	0,000	0,003	0,051	0,001	0,005												
ECC	-0,448	-0,490	-0,250	-0,153	-0,090	-0,093	0,039	0,079	-0,516	---										
<i>p=</i>	0,000	<,000	0,054	0,242	0,491	0,482	0,769	0,549	<,000											
PE	0,290	0,212	0,263	0,289	0,435	-0,354	0,475	0,489	0,215	0,490	---									
<i>p=</i>	0,024	0,103	0,043	0,025	0,000	0,006	0,000	<,000	0,098	<,000										
MOT	0,053	0,104	-0,106	-0,061	0,080	-0,089	0,128	0,017	-0,162	0,095	0,153	---								
<i>p=</i>	0,688	0,430	0,421	0,643	0,542	0,500	0,922	0,896	0,216	0,471	0,244									
VIG	0,087	0,131	-0,107	-0,044	0,092	-0,064	-0,002	0,001	-0,175	0,084	0,157	0,955	---							
<i>p=</i>	0,508	0,318	0,416	0,737	0,484	0,625	0,986	0,993	0,180	0,522	0,230	<,000								
TURB	0,186	0,222	-0,022	0,047	0,209	-0,186	0,153	0,159	-0,029	0,015	0,168	0,885	0,924	---						
<i>p=</i>	0,154	0,088	0,864	0,720	0,110	0,155	0,242	0,224	0,827	0,906	0,199	<,000	<,000							
VOL	-0,029	0,000	-0,285	-0,246	0,026	-0,207	0,172	0,130	-0,139	0,321	0,218	0,250	0,239	0,214	---					
<i>p=</i>	0,824	0,100	0,027	0,058	0,840	0,112	0,188	0,320	0,290	0,012	0,094	0,054	0,065	0,100						
CON	0,076	0,170	-0,105	0,008	0,113	-0,099	0,085	0,065	-0,163	0,088	0,009	0,638	0,637	0,706	0,365	---				
<i>p=</i>	0,563	0,194	0,425	0,953	0,389	0,452	0,520	0,621	0,211	0,503	0,942	<,000	<,000	<,000	0,004					
TDMA	0,111	0,126	-0,081	-0,061	-0,014	-0,111	0,087	0,094	0,196	-0,138	-0,079	-0,162	-0,151	-0,177	-0,028	-0,165	---			
<i>p=</i>	0,398	0,339	0,535	0,641	0,917	0,399	0,507	0,472	0,132	0,294	0,550	0,216	0,249	0,176	0,830	0,208				
TDME	0,227	0,309	0,036	0,016	-0,074	-0,222	0,122	0,111	0,143	-0,267	-0,129	0,152	0,201	0,163	-0,027	0,049	0,075	---		
<i>p=</i>	0,081	0,016	0,785	0,902	0,573	0,088	0,351	0,398	0,276	0,039	0,325	0,245	0,123	0,213	0,835	0,706	0,566			
TOT	0,233	0,286	0,026	0,004	-0,033	-0,237	0,198	0,186	0,268	-0,274	-0,070	-0,037	0,012	-0,029	-0,065	-0,159	0,646	0,734	---	
<i>p=</i>	0,073	0,027	0,844	0,977	0,804	0,069	0,130	0,154	0,038	0,034	0,594	0,776	0,927	0,822	0,620	0,225	<,000	<,000		
NOR	-0,233	-0,286	-0,026	-0,004	0,033	0,237	-0,198	-0,186	-0,268	0,274	0,070	0,037	-0,012	0,029	0,065	0,159	-0,646	-0,734	-1,000	
<i>p=</i>	0,073	0,027	0,844	0,977	0,804	0,069	0,130	0,154	0,038	0,034	0,594	0,776	0,927	0,823	0,620	0,225	<,000	<,000		

6 DISCUSSÃO

O processo de padronização por descanso sexual de sete dias, após esgotamento e renovação da reserva espermática, foi bem sucedido, pois, conforme esperado, o total de defeitos menores e o volume do ejaculado diminuíram. Este achado é devido aos espermatozoides não ejaculados armazenados nos epidídimos e nas ampolas dos ductos deferentes serem gradativamente eliminados pela urina e os não eliminados sofrerem gradual degeneração, aumentando o percentual de defeitos espermáticos totais nos primeiros ejaculados (EILEEN LINFORD et al. 1986) e no ejaculado seguinte pode ocorrer uma redução significativa no percentual de células anormais como observado em caprinos por Martins et al. (2006). O descanso sexual por tempo prolongado pode acarretar em aumento no percentual de anormalidades espermáticas como cabeça isolada normal e alterações acrossomais (MIES FILHO, 1987). Por outro lado, a atividade sexual excessiva, com alta proporção de fêmeas em estro por reprodutor, afeta adversamente a libido e as características seminais (COULTER; KOZUB, 1989).

A alta correlação entre os valores absolutos do número de pixels e os escores tanto do plexo pampiniforme quanto do parênquima testicular demonstra que a pontuação subjetiva da extensão da perfusão vascular foi eficientemente validada com base na intensidade de pixels coloridos das imagens, como já descrito em éguas e novilhas (SILVA et al., 2005; GINTHER, 2007).

Também ficou evidente que a vascularização do plexo está altamente relacionada à vascularização do parênquima. Esta relação pode ser explicada anatomicamente pelo fato de que a artéria testicular tem origem na aorta dorsal (DOGRA et al., 2006;) ultrapassa o plexo pampiniforme e atinge os testículos, se ramificando pela superfície do parênquima até o epidídimo (BUDRAS et al., 2007). Já as veias testiculares se originam do plexo pampiniforme que é formado pela união de pequenas veias do parênquima testicular (NICKEL et al., 1979) localizadas na cápsula do testículo, formando a parede vascular superficial (SMITH, 1974; SCHUMMER; VOLLMER, 1995). A parede vascular e o plexo pampiniforme contribuem com a redução da temperatura testicular, e isso ocorre devido aos eficientes mecanismos de termorregulação, fluxo sanguíneo superficial e o arranjo dos vasos sanguíneos, que

favorecem a troca de calor entre a superfície do escroto e o meio externo (BOHÓRQUES et al. 1992).

A elevação da temperatura testicular conduz ao aumento do metabolismo e da demanda de oxigênio, mas seu fluxo sanguíneo é limitado pela microvascularização, resultando em hipóxia, e deterioração espermática (SETCHELL, 1978; SETCHELL 1998). Em bovinos, observou-se que as alterações morfológicas, tais como tamanho da cabeça e vacúolos na peça intermédia, podem surgir em adição às causas genéticas, termorregulação ineficaz ou diminuição no fluxo sanguíneo do testículo (BARTH; OKO, 1989).

A baixa correlação entre as velocidades do pulso sistólico e diastólica final se deve provavelmente ao fato de o fluxo, em animais púberes, englobar todo ciclo cardíaco. Estas baixas correlações também ocorrem em indivíduos pré-púberes que demonstram ondas com fluxo apenas durante a sístole, sem fluxo diastólico, refletindo uma fase não funcional dos testículos (WOOD et al., 2010). As velocidades de pulso sistólico e diastólico final são influenciadas independentemente pelos valores de resistência do leito vascular (WOOD et al., 2010), o que demonstra total independência entre essas duas variáveis.

No presente experimento, o índice de resistência se correlacionou negativamente com a velocidade diastólica final. O mesmo foi observado por Batissaco et al. (2013) em experimento realizado com ovinos. Segundo Wood et al. (2010), altos índices de resistência são observados em vasos sanguíneos que suprem leitos vasculares de alta resistência, e necessitam de fornecimento de sangue intermitente. Nestas artérias, a alta resistência periférica impede o fluxo diastólico em repouso, enquanto a resistência periférica baixa permite um fluxo diastólico significativo. As alterações hemodinâmicas que envolvem o leito capilar e/ou drenagem venosa têm efeitos diretos sobre a impedância arterial (BALCI et al., 2008).

Alguns autores sugerem que a drenagem venosa inadequada provoca um aumento da estase venosa e diminuição do fluxo sanguíneo arterial, levando a hipóxia e deficiência na microcirculação testicular (BALCI et al., 2008). Além disso, acredita-se que esta hipóxia pode ser responsável por alterações no metabolismo energético mitocondrial, causando disfunção das células de Leydig e células germinativas (COMHAIRE et al., 1983; UNSAL et al., 2007). O aumento da temperatura intraescrotal devido à estase venosa é um dos mecanismos associados na etiologia da

infertilidade em casos de varicocele. O efeito do arrefecimento no plexo venoso para manter a baixa temperatura intraescrotal foi diminuído em casos de estase venosa (NAUGHTON et. al 2011). Tarhan et al. (2003) investigaram as mudanças na irrigação sanguínea testicular em 62 pacientes com varicocele esquerda e observaram uma diminuição significativa no fornecimento de sangue testicular no grupo de varicocele em comparação com o grupo controle.

A correlação positiva entre o índice de resistência e de pulsatilidade com a velocidade de pulso sistólico ocorre devido a artéria testicular após atravessar o plexo pampiniforme, se ramificar na superfície do parênquima até o epidídimo (BUDRAS et al., 2007), ocasionando a redução do calibre da artéria e o aumento da resistência vascular, consequentemente, a velocidade sanguínea aumenta para manter o mesmo fluxo sanguíneo através das ramificações. O mesmo pode ser observado em casos de aumento linear de estenose que está altamente correlacionado com o aumento logarítmico da velocidade (WOOD et al., 2010).

Em estudos realizados em homens, Biagiotti et al. (2002) observaram que, pacientes com varicocele tiveram os maiores valores de pulsos sistólico e índice de resistência. Os autores concluíram que a velocidade de pulso sistólico e o índice de resistência podem ser utilizados como indicadores de confiança na avaliação de rotina de homens com infertilidade ou dispermia. Além disso, foram encontradas correlações significativas entre a análise do sêmen e imagens de ultrassonografia em homens com varicocele (TARHAN et al., 2011). Balci et al. (2008) não observaram alterações na velocidade de pulso sistólico da artéria intratesticular em homens inférteis com varicocele esquerda, mesmo seis meses após cirurgia. Por outro lado, estes mesmos autores verificaram aumento na velocidade diastólica final e diminuição nos índices de resistência e de pulsatilidade.

Além disso, homens com azoospermia obstrutiva apresentaram velocidade de pulso sistólico significativamente maior do que pacientes normais, provavelmente devido a uma elevada resistência ao fluxo sanguíneo através do parênquima testicular (EZEH et al. 1998).

A alta correlação entre os índices de resistência e de pulsatilidade estão associados com a perfusão normal dos tecidos. O aumento do IR e IP indicam diminuição de perfusão do tecido distal, que está associado a alterações tissulares nos testículos, tais como orquite, epididimite, criptorquidismo e tumores testiculares, tanto

em homens (SCHURICH et al., 2009) quanto em cães (BUMIN et al., 2007). Também tem sido demonstrado que homens com maior percentual de espermatozoides anormais apresentaram IR maior quando comparados a pacientes normospérmicos (PINGGERA et al., 2008).

Em relação às variáveis obtidas no exame andrológico, a idade apresentou correlação altamente positiva com o escore e com as medições da quantidade de pixels do plexo e do parênquima. Há vários relatos em humanos que demonstraram que o fluxo sanguíneo nos testículos aumenta com a idade (MIDDLETON et al 1989; OYEN 2002). Dudea et al. (2010) observaram que o índice de resistência é menor em adultos (0,6) do que em indivíduos pré-púberes (0,87), devido à hipovascularização fisiológica dos testículos nestes últimos. Em garanhões adultos, o efeito da idade sobre o fluxo sanguíneo foi relatado por Pozor; McDonnell (2004).

A correlação positiva do perímetro escrotal com a velocidade do pulso sistólico e os índices de pulsatilidade e resistência reflete o aumento do fluxo sanguíneo nos testículos durante o desenvolvimento testicular e, consequente, aumento da funcionalidade e produção espermática (SETCHELL, 1978; BRITO et al., 2002). Diversos autores observaram alta correlação entre perímetro escrotal, produção e qualidade espermática em caprinos (BORGOHAIN et al., 1983; AL-GHALBAN et al., 2004), ovinos (MICKESEN et al., 1981), bovinos (TROCÓNIZ et al., 1981; MAKARECHIAN et al., 1985; TORRES-JÚNIOR; HENRY 2005; MENON et al., 2011), suínos (HUANG; JOHNSON, 1996) e cães (OLAR et al., 1983; CORTEZ et al., 2002).

Apesar das variáveis obtidas por doppler terem apresentado altas correlações com o aumento da idade e do desenvolvimento testicular, o mesmo não ocorreu em relação ao espermograma provavelmente devido à alta variabilidade de respostas ao estímulo ejaculatório, sobretudo à eletroejaculação. Tem sido descrito que o sêmen caprino possui características físicas e bioquímicas específicas, que podem variar, dependendo de fatores como raça, indivíduo, idade, época do ano, método de coleta, alimentação (CORTEEL, 1977), frequência de coletas, hierarquia social, libido e clima (SILVA et al., 1991; FATEL et al., 2011).

Contextualizando pesquisas anteriormente citadas, estudos realizados por Semiz et al. (2014), verificaram que a análise espectral Doppler é um método não invasivo que pode fornecer informações valiosas no diagnóstico de alterações hemodinâmicas e

status da microcirculação testicular. Contudo, os valores dopplervelocimétricos da artéria testicular não podem ser genericamente utilizados como indicadores de qualidade seminal ou mesmo preditores do potencial de fertilidade.

Finalmente, o exame Doppler demonstrou ser uma ferramenta complementar na avaliação reprodutiva de caprinos por fornecer informações sobre a arquitetura e o fluxo vascular testicular, tornando possível o diagnóstico de afecções que podem comprometer o potencial reprodutivo.

7 CONCLUSÃO

Diante das condições experimentais aqui apresentadas, conclui-se que há alta correlação entre os fluxos vasculares do plexo e do parênquima testiculares, entre as variáveis dopplerfluxométricas e a biometria testicular, mas não com as características espermáticas em reprodutores caprinos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, N.; NOAKES D. E.; SUBANDRIO A. L. B-mode real time ultrasonographic imaging of the testis and epididymis of sheep and goats. **The Veterinary Record**, v.25, p. 491-496, 1991.
- AL-GHALBAN, A. M., TABBA, M. J., KRIDL, R. T. Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. **Small Rumin. Res.**, v. 53, p. 141–149, 2004.
- ALMEIDA, M. M. **Vascularização arterial testicular e escrotal de caprinos nativos do Estado do Piauí, segundo grau de divisão do escroto, e a relação com parâmetros reprodutivos.** Teresina, 2003. 96p. Dissertação.
- AYDOS K, BALTAZI S, SALIH M, ANAFARTA K, BEDU-KY, GU-LSOY U,: Use of color Doppler sonography in the evaluation of varicoceles. **Eur Urol**24, 221–225, 1993.

- BALCI, A.; KARAZINCIR, S.; GORUR, S.; SUMBAS, H.; EGILMEZ, E.; INANDI, T. Long-term effect of varicocele repair on intratesticular arterial resistance index. **Journal of Clinical Ultrasound**, v. 36, n. 3, p. 148-152, 2008.
- BARTH, A. D.; OKO, R. J. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames: **Iowa State University Press**, 1989. 285 p.
- BATISSACO L.; CELEGHINI E. C. C.; PINAFFI, F. L. V.; OLIVEIRA, B. M. M; ANDRADE, A. F.C; RECALDE, E. C. S; FERNANDES, C. B. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 50, n. 5, p. 384-395, 2013
- BEZERRA F.Q.G.; OLIVEIRA M.A.L. Avaliação de parâmetros fisiológicos e andrológicos de caprinos jovens da raça. **Medicina Veterinária**, Recife, v.1, n.1, p.99-100, 2007.
- BIAGIOTTI G., CAVALLINI G., MODENINI F., VITALI G., AND GIANAROLI L., Spermatogenesis and spectral echo-colour Doppler traces from the main testicular artery. **BJU International**, vol. 90, no. 9, pp. 903–908, 2002.
- BLOM E. A one minute live dead sperm stain by means of eosin-nigrosin. **Fertil Steril**, v.1, p.176-177, 1950 BOHÓRQUEZ MAHECHA, G.A.; GODINHO, H.P. Irrigação arterial do escroto de zebu, Bos indicus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.44, n.2, p. 121-127, 1992.
- BOHÓRQUES MAHECHA, G. A.; GODINHO, H. P. Irrigação arterial do escroto de zebu, Bos indicus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.44, n.2, p.121- 127, 1992.
- BOLLWEIN H, MAIERL J, MAYER R, STOLLA R. Transrectal Color Doppler sonography of the a.uterina in cyclic mares. **Theriogenology**, v. 49, p. 1483–8, 1998.
- BORGOHAIN, B.N.; BENJAMIN, B.R.; BARUAH, B. et al. The testicular consistency and scrotal circumference in relation to the seminal characteristics among goats (*Capra hircus*). **Indian J. Anim. Sci.**, v.53, p.1233-1235, 1983.
- BUDRAS KD, MCCARTHY PH, FRICKE W, RICHTER R. **Anatomy of the Dog**. 5.ed. London, UK: Manson, 2007. p.68-70.

- BUMIN A, KAYA M, KAYA Ü, KIBAR M, ALKAN Z. Gray-scale, colour and power Doppler sonography of scrotal disorders in dogs. **Rev Méd Vét**, v.158, p.128-133, 2007.
- CARRILLO J.D., SOLER M., LUCAS X.; AGUT A. Colour and pulsed Doppler ultrasonographic study of the canine testis. **Reproduction in Domestic Animals**. v. 47, n. 4, p. 655-659, 2012.
- CARVALHO, C.F.; CHAMMAS, M.C. Uso do ultra-som duplex Doppler no diagnóstico de shunt portossistêmico em gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 1, p. 109 -112, 2008.
- CASTRO, A.C.D., BERNEDSON, W.E.; CARDOSO, F.M. 1997. Cinética e quantificação da espermatogênese: bases morfológicas e suas aplicações em estudos da reprodução de mamíferos. **Rev. Bras. Reprod. An.**, 21: 25-34.
- CASTRO, A.C.S.; CARDOSO, F.M. Avaliação dos métodos de quantificação da produção espermática em estudos experimentais em animais domésticos. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, v.35, p. 31- 40, 2001.
- CAVALCANTE, J.M.M.; BRASIL, O.O.; OLIVEIRA, R.V.; PESSOA, A.W.P.; ARAÚJO, A.A; NUNES, J.F. Ultrassonografia testicular em caprino com degeneração testicular associado a lesões escrotais: Relato de caso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 08, n. 1, p. 54 - 72, 2014.
- CERRI, G.G. et al. **Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais.** In: _____. Doppler. São Paulo: Sarvier, cap.6, p.120-121, 1998.
- CHACUR, M.G.M. **Estresse térmico em touros bufalinos *Bubalus bubalis* avaliações das características fisiológicas da reprodução.** 1999. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Botucatu, 85p., 1999.
- COCHARD T, TOAL R, SAXTON AM. Doppler ultrasonography features of thoracic limb arteries in clinically normal horses. **Am J Vet Res**, 61:183–90, 2000
- COELHO, M.F.; CARDOSO, A.J.P.; SANTOS, P.B. **Ultrassonografia Doppler em andrologia.** 1. ed. Cadernos de urologia do Hospital Fernando Fonseca. Amadora: Saúde, Sá – artes gráficas, 2008

- COLAS, G. Variations saissonières de la qualité du sperme chez le bœuf lie-de-France. II. Fécondation: relation avec les critères qualitatifs observés in vitro. **Reproduction and Nutrition Development**, v.21, n.3, p.399-407, 1981.
- COMHAIRE, F.; SIMONS, M.; KUNNEN, M.; VERMEULEN, L. Testicular arterial perfusion in varicocele: the role of rapid sequence scintigraphy with technetium in varicocele evaluation. **Journal of Urology**, v. 130, n. 5, p. 923-926, 1983.
- CORTEEL, J.M. Production, storage and insemination of goat semen. Symposium of reproduction in sheep and goats, 1977, Madison – University of Wisconsin. Anais...p.41-57, 1977.
- CORTEZ, A.A.; AQUINO-CORTEZ, A.; SILVA, A.R., CARDOSO, R. C.S.; SILVA, L.D.M. Relação entre perímetro escrotal e concentração espermática em cães, clinicamente normais, da raça Pastor Alemão. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v.54 n.5, 2002.
- COULTER GH, KOZUB GC. Efficacy of methods to test fertility of beef bulls used for multiple-sire breeding under range conditions. **J Anim Sci**, v.67, p.1757-1766, 1989..
- DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. 2009. Reproductive ultrasound of dogs and tom. **Top Companion Anim Med.** v. 24, p.64-70.
- DOGRA, V.S.; BHATT, S.; RUBENS, D.J.: Sonographic evaluation of testicular torsion. **Ultrasound Clinics**. v.1; p. 55 – 66, 2006.
- DYCE, K. M., SACK, W. O., WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. Rio de Janeiro/RJ. Editora Guanabara Koogan. 1997.
- DUBINSKY T, CHEN P, MAKLAD N. Color-flow and power Doppler imaging of the testes. **World J Urol**; 16:35–40, 1998.
- DUDEA, S.M., CIUREA, A., CHIOREAN, A., BOTAR-JID, C. Doppler applications in testicular and scrotal disease. **Medical Ultrasonography** 12, 43–51. 2010.
- ELLENPORT. C.R. **Anatomia dos animais domésticos** In: GETTY, R.; SISSON, S.; GROSSMAN, J.D. 862p. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1986, v.2 p
- EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. Butterworth Publishers, Sydney, 1987, 194p.

- EVANS, G.; MAXWELL W.M.C. 1990. **Inseminación artificial de ovejas y cabras.** Editorial Acribia, Zagarroza, 194p.
- EZEH UIO, MOORE HDM, COOKE ID. Correlation of testicular sperm extraction with morphological, biophysical and endocrine profiles in men with primary azoospermia due to primary gonadal failure. **Human Reprod**; v. 13, p. 3066–74, 1998
- FATET, A.; PELLICER-RUBIO, M.T; LEBOEUF, B. Reproductive cycle of goats. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 211-219, 2011.
- FEIGENBAUM, H. **Instrumentation.** In: _____. Echocardiography. 4.ed. Philadelphia. Lea and Febiger, 1986. cap.1, p.1-49.
- FORSBERG F1, JOHNSON DK, MERTON DA, LI JB, LOSCO PE, HAGEN EK, GOLDBERG BB. Contrast-enhanced transrectal ultrasonography of a novel canine prostate cancer model. **Journal of Ultrasound in Medicine**. v. 21, p. 1003-1013, 2002.
- FRANÇA, L. R. **Desenvolvimento testicular de suínos da raça Piau, do nascimento aos 12 meses de idade.** 1987. Dissertação - Universidade Federal de Minas Gerais.
- FRANÇA, L. R.; RUSSEL, L. D. **The testis of domestic mammals.** In: MARTÍNEZGARCÍA, F.; REGADERA, J. Male reproduction: a multidisciplinar overview. Churchill Comm. Europe, 1998.
- FORESTA, C.; GAROLLA, A.; BERTELLA, A.; FERLIN, A.; ROSSATO, M.; CANDIANI, F.: Doppler ultrasound of the testis in azoospermic subjects as a parameter of testicular function. **Human Reproduction**, v. 13 n.11, p 3090-3093, 1998.
- FORSBERG F., JOHNSON D.K., MERTON D.A., LI J.B., LOSCO P.E., HEGEN E.K.; GOLDBERG B.B. Contrast-enhanced transrectal ultrasonography of a novel canine prostate cancer model. **Jourrnal of Ultrasound in Medicine**, v. 21, n. 9, p. 1003-1013, 2002.
- GINTHER O.J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography**, Ginther O.J. (ed). Cross Plains: Equiservices Publishing, 258p. 2007.
- GODINHO, H.P.; CARDOSO, F.M.; NASCIMENTO, J.F. **Anatomia dos ruminantes domésticos.** Belo Horizonte, 1981. p. 372-4

GOMES W. A.; SILVA1 I. C. C.; PELINCA1 M. A.; CAMARGO N. I.; SILVA E. C. B.; SILVA S. V.; BATISTA A. M.; GUERRA M. M. P.; COSTA F. S.: Calcificação testicular em caprinos Saanen – relato de dois casos. *Medicina Veterinária* v. 8, n. 2. 2014.

GORECKA-SZYLD B. Assessing the value of Color Doppler ultrasound investigations in diagnostics of most frequently occurring diseases of scrotal pouch. *Ann Acad Med Stetin*, v. 45, p. 227–37, 1999.

GUMBSCH, P.; GABLER, C.; HOLZMANN, A. Color-coded duplex sonography of the testes of dogs. *Veterinary Record*, v. 151, n. 5, p. 140-144, 2002.

GÜNZEL-APEL A. R, MOHRKE C, POULSEN NAUTRUP C. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. *Reproduction in Domestic Animals*, v.36, p.236-240, 2001.

GRANADOS L.B.C., DIAS A.J.B.; SALES, M.P. **Aspectos Gerais da Reprodução de Caprinos e Ovinos**. Projeto PROEX/UENF, Campo dos Goytacazes, 54p. 2006.

GUO, C.X.; TANGTS, M.U.X.M. Cloning of novel temperature-related expressed sequence tags in rat testis during spermatogenesis. *Biochem Biophys Res Com*, v.258, p.401-406, 1999.

GÜNZELAPEL, A. R.; MOÈHRKE, C.; POULSEN NAUTRUP, C. Color-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 36, n. 5, p. 236- 240, 2001.

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

HERBENER TE. Ultrasound in the assessment of the acute scrotum. *J Clin Ultrasound*, v. 24, p. 405–21, 1996.

HERWIG, R., TOSUN, K., PINGGERA, G. M., SOELDER, E., MOELLER, K. T., PALLWEIN, L., FRAUSCHER, E., BARTSCH, G., WILDT, L. AND ILLMENSEE, K. **Tissue perfusion essential for 330 spermatogenesis and outcome of testicular sperm extraction for assisted 331 reproduction**. *J. Assist. Reprod. Genet.* v. 21, n. 5, p. 175-180, 2004.

- HOCHEREAU-DE-REVIRS, M. T. MONET-KUNTZ, C. COUROT, M. Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 34, p. 101, 1987.
- HUANG, Y. T.; JOHNSON, R. K. Effect of selection for size of testes in boars on semen and testis traits. **J. Anim. Sci.** v. 74, p. 750–760, 1996.
- HULET C. V, VOIGTLANDER H. P, POPE A. L. The nature of early season infertility in sheep. **J Anim Sci**, v.15, p.607-615, 1956.
- IKEDA M, KODAMA H, FUKUDA J. Role of radical oxygen species in rat testicular germ cells apoptosis induced by heat stress. **Biol Reprod**, v.61, p.393-399, 1999.
- ISHWAR, A. K. Pregnancy diagnosis in sheep and goats: a review. **Small Rum. Res.**, v. 17, p. 37-44, 1995.
- JORGE J. R, J. et al. Influência de alguns fatores de ambiente sobre os escores de conformação, 34 precocidade e musculatura à desmama em um rebanho da raça Nelore. **Rev. Bras. Zootec.** v. 30, n. 6, p. 1697-1703, 2001.
- KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; COULTER, G. H Contribution of the scrotum and testes to scrotal and testicular thermoregulation in bulls and rams. **Journal of Reproduction and Fertility**, vol. 108, no. 1, pp. 81–85, 1996
- KASTELIC, J. P.; COOK, R. B.; COULTER, G. H. Scrotal/testicular thermoregulation and the effects of increased testicular temperature in the bull. **Vet. Clin. North Am.: Food An. Pract.** v.13, n.3, p.271-282, 1997
- KAWAKAMA, J. et al. **Física**. In: CERRI, G.G.; ROCHA, D.C. Ultra-sonografia abdominal. São Paulo: Sarvier, 1993. cap.1, p.1-14.
- KAY, G. W., GROBBELAAR, J. A. AND HATTINGH, J. Effect of surgical restriction of 338 growth of the testicular artery on testis size and histology in bulls. **J. Reprod. Fertil.**, v. 339, n. 2, p. 549-553. 1992.
- KILGOUR, R. J. et al. Ram lambs need FSH for normal testicular growth, sertoli cell numbers and onset of spermatogenesis. **Reproduction, Nutrition, Development**, v.38, p.539-550, 1998.

- KUMAGAI J, FUKUDA J, KODAMA H. Germ cell-specific shock protein 105 binds to p53 in a temperature-sensitive manner in rat testis. **Eur J Biochem**, v.267, p.3073-3078, 2000.
- KUTZLER, M.; TYSON, R.; GRIMES, M.; TIMM, K. Determination of testicular blood flow in camelids using vascular casting and color pulsed-wave Doppler ultrasonography. **Veterinary Medicine International**, v. 2011, p. 1-7, 2011.
- LAM, W. W.; YAP, T.; JACOBSEN, A. S.; TEO, H. J. E. Colour Doppler ultrasonography replacing surgical exploration for acute scrotum: myth or reality? **Pediatric Radiology**, v. 35, n. 6, p. 597- 600, 2005.
- CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte, 1998.
- MAKARECHIAN M, FARID A, BERG T. Scrotal circumference, semen characteristics, growth parameters, and their relationships in young beef bulls. **Can J Anim Sci**; v. 65, p. 789–98, 1985.
- MARTINS L. F., PEREIRA M. C. B., GUIMARÃES J. D., COSTA E. P., SILVEIRA T. S. S., TORRES C. A. A., RODRIGUES M. T., BRAZ V. B. Avaliação espermática e da concentração de proteínas solúveis no plasma seminal de bodes da raça Alpina em regime de monta controlada. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.4, p.1653-1659, 2006.
- MELLO, M. I. V.; HENRY, M.; BEKER, A. R. C. L. Teste hiposmótico para avaliação da viabilidade do sêmen equino resfriado com diferentes diluidores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.757-63, 2005.
- MENON, A. G., BARKEMA, H. W., WILDE, R., KASTELIC, J. P., THUNDATHIL, J. C. Associations between sperm abnormalities, breed, age, and scrotal circumference in beef bulls. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 4, p. 241–247, 2011.
- MORAES, J. C. F.; HORN, M. M.; ROSADO, A. Avaliação andrológica em touros: qualidade dos indicadores da aptidão reprodutiva em distintos grupos raciais. **Ciência Rural**, v.28, n.4, p. 647-652, 1998.
- MICKELSEN, W. D., PAISLEY, L. G., DAMEN, J. J. The effect of scrotal circumference, sperm motility and morphology in the ram on conception rates and lambing percentage in the ewe. **Theriogenology**, v.16, n.1, p. 53-9, 1981.

MIDDLETON, W. D.; THORNE, D. A.; MELSON, G. L.: Color Doppler ultrasound of the normal testis. **American Journal of Roentgenology.** v 152, p. 293-297, 1989.

MIES FILHO A. **Reprodução dos animais.** 6.ed. Porto Alegre: Sulina, 1987.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos Animais e Inseminação Artificial.** 3.ed. Porto Alegre, Sulina, 1975. 545p. MORROW DA. **Current therapy in theriogenology.** 2.ed. Philadelphia: WB Saunders, 1986. 1084p.

NAUGHTON C. K.; NANGIA A. K.; AGARWAL A. Varicocele and male infertility: part II, pathophysiology of varicoceles in male infertility. **Hum Reprod Update** 2001;7:473.

Newell S. M.; Neuwirth L.; Ginn P. E.; Roberts G. D.; Prime L. S.; Harrison J. M. Doppler ultrasound of the prostate in normal dogs and in dogs with chronic lymphocytic lymphoplasmacytic prostatitis. **Veterinary Radiology; Ultrasound**, v.39, n.4, p.332-336, 1998.

NUNES J. F, CIRIACO A. L. T, SUASSUNA U. **Produção e reprodução de caprinos e ovinos.** 2.ed. Fortaleza: LCR, 1997.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE. E. **The visceral of the domestic mammals.** 2 ed., Berlim: Verlag Paul Parey, 1979. 401p.

NIMURA Y. Introduction of the ultrasonic Doppler technique in medicine: a historical perspective. **J med ultrasound** 6:5-13, 1998.

OLAR, T. T.; AMANN, R. P.; PICKETT, B. W. Relationships among testicular size, daily production and output of spermatozoa, and extragonadal spermatozoa reserves of the dog. **Biol. Reprod.**, v.29, p.1114-1120, 1983.

POZOR, M. A.; McDONNELL, S. M. Doppler ultrasound measures of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, v. 58, n. 2, p. 437-440, 2002.

POZOR, M. A.; McDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, v. 61, n. 5, p. 799-810, 2004.

PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: Strange bedfellows. **Theriogenology** 42, 105–112. 1995.

- PINGGERA, G. M.; MITTERBERGER, M.; BARTSCH, G.; STRASSER, H.; GRADL, J.; AIGNER, F.; PALLWEIN, L.; FRAUSCHER, F. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. **British Journal of Urology International**, v. 101, n. 6, p. 722-726, 2008.
- RADOSTITS O. M.; MAYHEW, I. G. J.; HOUSTON D. M.; **Exame clínico e diagnóstico em veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002.
- RASOOLI, A.; TAHA JALALI, M.; NOURI, M.; MOHAMMADIAN, B.; BARATI, F. Effects of chronic heat stress on testicular structures, serum testosterone and cortisol concentrations in developing lambs. **Animal Reproduction Science**, v. 117, n. 1-2, p. 55-59, 2010.
- RUSSELL, L. D.; ETTLIN, R.; SINHA HIKIM, A. P.; CLEGG, E. D. Histological and Histopathological Evaluation of the Testes, Cache River Press, Clearwater, FL, 1990.
- SAKAMOTO H.; SAITO K.; SHICHIZYO T.; ISHIKAWA K.; IGARASHI A.; YOSHIDA H.; Color Doppler ultrasonography as a routine clinical examination in male infertility. **International Journal of Urology**, v. 13, p. 1073–1078, 2006.
- SALVADOR, D. F.; ANDRADE, V. J.; VALE-FILHO, V. R. Potencial das proteínas do plasma seminal ou ligadas à membrana espermática como indicadores da fertilidade de touros. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, n.35, p. 61-71, 2001.
- SALVADOR D. F.; DIAS J. C.; VALE FILHO V. R. Perfil andrológico de touros da raça Nelore com três e quatro anos de idade, criados extensivamente em condições do estado do Mato Grosso do Sul. **Rev Bras Reprod Anim**, v.26, p.64-67, 2002.
- SAMIR H.; SASAKI K.; AHMED E.; KAREN A.; NAGAOKA K. E.; SAYED M.; TAYA K.: Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 77, n. 5, p. 549-56, 2015.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2^a.ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.

- SCHUMMER, A. B.; VOLLMERHAUS. **Harn- und Geschlechtsapparat.** In: NICKEL, R., A. SCHUMMER u. E. SEIFERLE: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band II: Eingeweide. Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin-Wien, 7. Auflage, 300-420, 1995.
- SCHURICH, M.; AIGNER, F.; FRAUSCHER, F.; PALLWEIN, L.: The role of ultrasound in assessment of male fertility. **European Journal of Obstetrics; Gynecology and Reproductive Biology.** v 144, p 192-198, 2009.
- SEMIZ I1, TOKGÖZ O, TOKGOZ H, VOYVODA N, SERIFOGLU I, ERDEM Z. The investigation of correlation between semen analysis parameters and intraparenchymal testicular spectral Doppler indices in patients with clinical varicocele. **Ultrasound Q.,** v. 30, n. 1, p. 33-40, 2014.
- SETCHELL, B. P. **The scrotum and thermoregulation.** In: SETCHELL, B. P. The mammalian testis. New York: Cornell University Press, 1978. p. 90-104.
- SETCHELL, B. P. The parkes lecture heat and the testis. **Journal of Reproduction and Fertility,** v.114, p.179-194, 1998.
- SETCHELL, B. P. Local control of testicular fluids. **Reprod. Fertil. Dev.** 2 (3):291-309. 401, 1990. SETCHELL BP, BREED WG. **Anatomy, vaculation and innervations of the male reproduction tract.** In: Neill JD (Ed.). Knobil's and Neill's Physiology of Reproduction. New York: Elsevier, 2006. p.771-825.
- SHIRAI SHI, K.; TAKIHARA, H.; NAITO, K.: Testicular volume, scrotal temperatures, and oxidative stress in fertile men with left varicocele. **Fertility and Sterility.** v. 91, n 4, p 1388 – 1391, 2009.
- SIDHU P. S.: Clinical and imaging features of testicular torsion: role of ultrasound. **Clin Radiol** 54,343–352. 1999
- SILVA, L. A.; GASTAL, E. L.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction,** v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005.
- SILVA, A.E.D.F.; DODE, M.A.N.; PORTO, J.A. et al. Estacionalidade na atividade sexual de machos bovinos Nelore e mestiços Fleckvieh e Chianina x Nelore: características biométricas testiculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** v.26, n.10, p.1745-1750, 1991

SMITH, J.A.: Biopsy and the testicular artery of the horse. **Equine Vet. J.**, 6, 81-83
1974.

SMITH, B.A. BRINKS, J.S., RICHANDSON, G.V. Relationships of sine scrotal circumference of offspring reproduction and growth. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.2881-2885, 1989.

Sociedade Brasileira de Urologia. **Varicocele**. Brasília: Associação Médica Brasileira; 2008

SOUZA, C. E. A.; MOURA, A. A.; LIMA, A. C. B. Circunferência escrotal e características seminais em carneiros Santa Inês. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n. 2, p.196-199. 2001.

SRIPRASAD S.; KOOIMAN G. G.; MUIR G.H.; SIDHY P.S.: Acute segmental testicular infarction: differentiation from tumour using high frequency colour Doppler ultrasound. **Br J Radiol** 74, 965-967. 2001.

STEGER, K.; WROBEL, K. H. Postnatal development of ovine seminiferous tubules: an electron microscopical and morphometric study. **Annals of Anatomy**, v.178, p.201-213, 1996.

SULLIVAN, J. J. **Sperm numbers required for optimum breeding efficiency in cattle**. In: Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, p.36-43, 1970.

SZATMÁRI, V. et al. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.42, n.2, p.93-107, 2001.

TAKIHARA, H.; SAKATOKU, J.; FUJII, M.; NASU, T.; COSENTINO, M. J.; AND COCKETT, A. T. K. Significance of testicular size measurement in andrology. A new orchidometer and its 403 clinical application. **Fertil. Steril.** 39: 836-840, 1983.

TARHAN S.; GU'MU' S B.; GU'NDU' Z I.; AYYILDIZ V.; GO'KTAN C. Effect of varicocele on testicular artery blood flow in men—color Doppler investigation. **Scand J Urol Nephrol.**, v. 37, n. 1, p. 38-42, 2003.

TAYLOR K. J.; HOLLAND S. Doppler US. Part I. Basic Principles, Instrumentation and Pitfalls. **Radiology**, v. 174, p. 297-307, 1990.

TIEMSTRA J. D.; KAPOOR S. Evaluation of scrotal masses. **Am Fam Physician.** v. 78, n. 10, p. 1165-70, 2008.

TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; HENRY, M. Sexual development of Guzerat (*Bos taurus indicus*) bulls raised in a tropical region. **Anim. Reprod.**, v.2, n.2, p.114-121, 2005.

TROCÓNIZ, J.F.; BELTRÁN, J.; BASTID, A.S.H.; LARREA, H.; BASTIDAS, P. Testicular development, body weight changes, puberty and semen traits of growth of Guzerat and Nellore bulls. **Theriogenology**, v. 35, p. 815-826, 1991.

UNANIAN, M.M.; SILVA, A.E.D.F.; McMANUS, C.; CARDOSO, E.P. Características biométricas testiculares para avaliação de touros zebuínos da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p.136-144, 2000.

UNSAL, A.; TURGUT, A. T.; TAŞKIN, F.; KOŞAR, U.; KARAMAN, C. Z. Resistance and pulsatility index increase in capsular branches of testicular artery: indicator of impairedtesticular microcirculation in varicocele? **Journal of Clinical Ultrasound**, v. 35, n. 4, p. 191-5, 2007.

UPRETI G.C., OLIVER J.E., DUGANZICH D.M., MUNDAY R.; SMITH, J.F. Development of a chemically defined ram sêmen diluent (RSD-1). **Animal Reproduction Science** v. 37, p. 143-157, 1995.

VERMILLON, R.P. Basic physical principles. In: SNIDER, A.R. et al. **Echocardiography in pediatric heart disease**. 2.ed. Missouri: Mosby, 1997. cap.1, p.1-10.

VILLARES, J. B. **Bioclimatologia da reprodução animal: revisão sobre efeitos do ambiente de calor**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2. 1976, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: CBRA, 1976. p. 192-215.

VIU M. A. O.; MAGNABOSCO C. U.; FERRAZ H. T.; GAMBARINI M. L.; OLIVEIRA FILHO B. D.; LOPES D. T.; VIU A. M. F.:Desenvolvimento ponderal, biometria testicular e qualidade seminal de touros nelore (*Bos taurus indicus*) criados extensivamente na região centro-oeste do brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n.3,p.53-57,2006

WOOD, C. R., LACSER, A., BARLOW, J. F., PADHRA, A., BELCHER, S. E., NEMITZ, E., HELFTER, C., FAMULARI, D., AND GRIMMOND, C. S. B.: Turbulent

flow at 190 metres above London during 2006–2008: a climatology and the applicability of similarity theory, **Bound.-Layer Meteorol.**, 137, 77–96, 2010.

WROBEL, K.H.; REICHOLD, J.; SCHIMMEL, M. Quantitative morphology of the ovine seminiferous epithelium. **Annals of Anatomy**, v.177, p.1-14, 1995.

YANIK, L. The basics of Doppler ultrasonography. **Veterinary Medicine**, v.3, p.388-400, 2002.

YARNEY, T. A., SANFORD, L. M. Pubertal development of ram lambs: physical and endocrinological traits in combination as indices of postpubertal reproductive function. **Theriogenology**, v.40, p.735-744, 1993.

ZELLI R, TROISI A, ELAD NGONPUT A, CARDINALI L, POLISCA A. 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.