

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

MATHEUS WAGNER PAULINO DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA DEGENERAÇÃO TESTICULAR CAUSADA POR
INSULAÇÃO ESCROTAL EM CARNEIROS: MORFOMETRIA
TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E
ULTRASSONOGRÁFICAS**

FORTALEZA- CEARÁ

2010

MATHEUS WAGNER PAULINO DE SOUSA

AVALIAÇÃO DA DEGENERAÇÃO TESTICULAR CAUSADA POR
INSULAÇÃO ESCROTAL EM CARNEIROS: MORFOMETRIA
TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E
ULTRASSONOGRÁFICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Linha de Pesquisa: Reprodução e Sanidade de Pequenos Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo

FORTALEZA
2010

MATHEUS WAGNER PAULINO DE SOUSA

AVALIAÇÃO DA DEGENERAÇÃO TESTICULAR CAUSADA POR
INSULAÇÃO ESCROTAL EM CARNEIROS: MORFOMETRIA
TESTICULAR, CARACTERÍSTICAS SEMINAIS E
ULTRASSONOGRÁFICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Reprodução e Sanidade Animal
Linha de pesquisa: Reprodução e Sanidade de Pequenos Ruminantes.

Aprovada em: **07/12/2010**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo
Universidade Estadual do Ceará
Orientador -UECE

Prof. Dr. Davide Rondina
Universidade Estadual do Ceará
Co-orientador - UECE

Dra. Maria Gorete Flores Salles
Lar Antônio de Pádua
Examinadora - **Externa**

*À Minha esposa Nadja que me
leva cada dia mais longe do
que eu penso poder alcançar*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, sem Ele nada faria sentido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro na forma de bolsa de estudo, indispensável para a realização desse trabalho.

À Universidade Estadual do Ceará (UECE), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) que através de sua equipe de funcionários, professores, secretários e coordenadores, muito contribuíram para minha formação profissional.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), mais especificamente ao Núcleo de Ensino e Estudo em Forragicultura (NEEF), sem o qual este trabalho não teria sido realizado.

À minha esposa Nadja Soares Vila Nova, que caminha lado a lado comigo e me mantém caminhando.

Aos meus orientador e co-orientador Airton Alencar de Araújo e Davide Rondina, pela oportunidade, paciência e ensinamentos passados a mim.

Aos funcionários e estagiários do NEEF que colaboraram com a execução do experimento

Aos funcionários da Fazenda Experimental Campo da Semente, onde pude aprender muito sobre planejamento do meu experimento.

À meus Amigos e colegas do LANUPRUMI que me acolheram como “agregado” e me fizeram sentir parte do grupo, mais especificamente meus companheiros de mestrado, Liliane, Fabiana e Claudio.

À Dra. Maria Gorete Flores Salles que me apoiou mesmo antes de meu ingresso ao programa de Pós-graduação até o último minuto de permanência neste.

À Vicente de Paula Feitosa e toda sua família, que me acolheram quando eu mais precisei e me mostraram que família não precisa de parentesco.

À todas as pessoas que cruzaram meu caminho neste percurso, pois sempre podemos aprender algo novo.

Em especial ao amigo David Rocha por compartilhar as aflições, pelo companheirismo, incentivo, aconselhamento, ensinamentos e tantas outras coisas que não caberiam numa folha apenas.

RESUMO

A avaliação reprodutiva de ovinos deve ser realizada em rebanhos antes da estação reprodutiva, seleção de cordeiros para substituição, antes da compra de um ovino, ou quando se investigando um problema reprodutivo num rebanho. O exame ultras-sonográfico dos testículos permite a avaliação da anatomia, do parênquima do órgão e de estruturas vizinhas relacionadas, como epidídimo. O presente trabalho teve como objetivo comparar as imagens ultrassonográficas da degeneração testicular a partir do testículo hígado gradativamente até estágios de degeneração testicular térmica avançada. Carneiros da raça Morada Nova Var. Branca (n=6) foram examinados quanto a características morfométricas testiculares; temperatura retal; e parâmetros seminais. O sêmen foi obtido através de eletroejaculação. Foram realizados exames ultrassonográficos dos testículos e ainda medições da temperatura ambiente e umidade relativa do ar para o cálculo do ITU. O experimento foi dividido em 3 estágios: Pré-insulação; Insulação (onde colocaram-se bolsas de insulação nos testículos por 8 dias); e pós insulação. Não houve influência dos períodos na temperatura retal. Houve, entretanto, uma diminuição da circunferência escrotal nos períodos insulação e pós-insulação. Com exceção do Volume do ejaculado, Todas as variáveis seminais avaliadas sofreram redução a partir do período insulação. As imagens ultrassonográficas do período insulação demonstraram redução da ecogenicidade do parênquima testicular e um gradual aumento na dificuldade de se individualizar o mediastino testicular, que se intensificou no período pós-insulação. As alterações causadas pela insulação escrotal nas variáveis seminais e morfométricas causaram azoospermia permitindo o estudo da degeneração nos seus diferentes graus, desde o inicial até o mais avançado. A ultrassonografia mostrou-se um método eficaz para avaliar a degeneração testicular, principalmente nos estágios mais avançados de degeneração.

Palavras-chave: Carneiros. Eletroejaculação. Ultrassom. Testículo. Insulação escrotal.

ABSTRACT

The ovine reproductive evaluation must take place in flocks before reproductive seasons, when selecting lambs for replacement, before the purchase of a new animal, or when investigating a reproductive issue in a flock. The ultrasonographic examination of the testicles allows the anatomic evaluation of the organ parenchyma and adjacent structures, like epididymis. The current study aimed to compare ultrasonographic images of the testicular degeneration from the healthy testicle gradually towards severe thermal testicular degeneration. Morada Nova Var. Branca rams (n=6) were examined on their testicular morfometry; rectal temperature; and seminal parameters. Semen was obtained by eletroejaculation. Ultrasonographic exams of the testicles were performed and also room temperature and air humidity for the humidity and temperature index calculation. The experiment was divided in 3 phases: Pre-insulation; insulation, where insulation bags were put in the testicles for 8 days; and post-insulation. There was no influence of the period in rectal temperature. There was, however, a decrease in the scrotal perimeter in the insulation and post-insulation periods. Except for the Ejaculated Volume, all evaluated seminal variables suffered reduction, starting on the insulation period. The ultrasonographic images of the insulation period showed a reduction in the testicular parenchyma echogenicity, which was intensified in the post-insulation period. The alterations caused by the insulation allowed the study of the degeneration in its different degrees. Ultrasonography has proven to be an efficient way to evaluate the testicular degeneration, especially in more advanced degeneration phases.

Keywords: Rams. Eletroejaculation. Testicle. Ultrasound. Scrotal Insulation.

LISTA DE FIGURAS

Fig01 A Sonograma do plano sagital. Pré-insulação I - Mediastino moderadamente hiperecótico ao parênquima testicular, que possui ecogenicidade homogênea. Epidídimo anecótico com contorno hipoecótico	29
Fig01 B Sonograma do plano sagital. Pré-insulação II: Mediastino difuso e hiperecogênico.....	29
Fig01 C Sonograma do plano sagital pré-insulação III: Mediastino hiperecogênico.....	29
Fig01 D Sonograma do plano sagital Insulação I: Mediastino moderadamente ecogênico.....	29
Fig01 E Sonograma do plano sagital Insulação II Mediastino levemente hiperecogênico ao parênquima testicular.....	29
Fig01 F Sonograma do plano sagital Pós-insulação I: Mediastino isoecótico ao parênquima testicular.....	29
Fig01 G Sonograma do plano sagital Pós-insulação II: Mediastino isoecótico ao parênquima. Parênquima testicular de ecogenicidade heterogênea.....	29
Fig01 H Sonograma do plano sagital Pós insulação III Mediastino isoecótico ao parênquima, que possui ecogenicidade heterogênea.....	29
Fig01 I Sonograma do plano sagital Pré-insulação: Plano transversal Mediastino não focalizado, Presença de formações hiperecóticas difundidas pelo parênquima testicular (setas).....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Temperatura ambiente, umidade relativa e índice de temperatura e umidade.....	26
Tabela 2 - Biometria testicular e temperatura retal, divididos em três diferentes períodos, em carneiros Morada Nova var. Branca submetidos a insulação escrotal.....	27
Tabela 3 - Variáveis seminais, divididas em três diferentes períodos, de carneiros Morada Nova Var. branca submetidos a insulação escrotal.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

AH- Air humidity

AT- Altura do testículo

At- Air temperature

C- Consistência do testículo

C- Testicular Consistency

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CE- Circunferência escrotal

CEUA – Comissão de Ética para o Uso de Animais

cm- Centímetro

Conc.- Concentração espermática

FAVET – Faculdade de Veterinária

g – Grama

ITU- Índice temperatura e umidade

LT- Largura do testículo

MA- Mass activity

mg- Miligrama

MHz – Megahertz

ml - Mililitro

MM- Motilidade massal

MT- Mediastino Testicular

MT- Mediastin Testis

PT- Profundidade do testículo

RT- Rectal Temperature

RH- Relative Air Humidity

SC- Scrotal Circumference

ST- Superficial Testicular Temperature

TA- Temperatura do ar

TD- Testicle Depth

THI- Temperature and humidity index

TL- Testicle Length

TR- Temperatura retal

TT- Temperatura testicular

TW- Testicle Width

UECE – Universidade Estadual do Ceará

UR- Umidade relativa do ar

V- Vigor

Vol- Volume do Ejaculado

°C- Graus Celsius

%M- Porcentagem de espermatozóides móveis

%N- Porcentagem de espermatozóides normais

® - Firma registrada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. MECANISMOS TERMORREGULATÓRIOS DO TESTÍCULO.....	15
2.2. DEGENERAÇÃO TESTICULAR.....	15
2.3. INSULAÇÃO ESCROTAL.....	16
2.4. ULTRASSONOGRAFIA TESTICULAR.....	17
3. JUSTIFICATIVA.....	19
4. HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	20
5. OBJETIVOS.....	21
5.1. Objetivos Gerais.....	21
5.2. Objetivos Específicos.....	21
6. CAPÍTULO I	22
7. CONCLUSÕES.....	35
8. PERSPECTIVAS.....	36
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

A fertilidade é uma consideração econômica primária na indústria de gado de corte (BAILEY et al., 1998) onde esta é cinco vezes mais importante economicamente que a taxa de crescimento e dez vezes mais importante que a qualidade de carcaça (COULTER, 1986).

A avaliação reprodutiva de ovinos, que inclui o exame da genitália e avaliação da libido deve ser realizada em rebanhos antes da estação reprodutiva. Também pode ser realizada durante a seleção de cordeiros para substituição, antes da compra de um ovino, ou quando se investigando um problema reprodutivo num rebanho (GOULETSOU et al., 2003).

Alterações patológicas no testículo e epidídimo de carneiros são pouco estudadas em comparação com outros animais domésticos, especialmente ovinos lanados que vivem em regiões semi-áridas, como o Nordeste do Brasil, onde as temperaturas elevadas e a falta de alimentos para animais estão presentes (COSTA et al., 2007).

As alterações testiculares são estudadas para melhorar o controle e assim aumentar o desempenho reprodutivo dos rebanhos. Por isso, métodos de se diagnosticar precocemente estas alterações sempre são pesquisados para reduzir as perdas econômicas que tais alterações possam acarretar. (COUROT & ORTAVANT, 1981)

A degeneração testicular não é uma enfermidade fácil de ser estudada, pois por possuir muitos fatores que interferem em seu desenvolver, muitas vezes definir o agente causal é uma tarefa complicada (FREITAS & NUNES, 1992).

O aumento local de temperatura é a técnica ideal para o estudo das alterações morfológicas e fisiológicas ocorridas nos testículos e dos distúrbios nos mecanismos parácrinos e autócrinos, a medida que são excluídas as interferências sistêmicas. A técnica consiste em bloquear ou reduzir a capacidade termorregulatória dos testículos através do acoplamento de uma bolsa térmica no escroto (SOUZA, 2004).

O exame ultrassonográfico dos testículos permite a avaliação da anatomia, do parênquima do órgão e de estruturas vizinhas relacionadas, como epidídimo. A ultrasonografia testicular e do escroto é realizada em medicina veterinária e humana. Ela é utilizada para avaliar mudanças palpáveis e não palpáveis, para diferenciar doenças testiculares de epididimais e de escrotais e para localizar testículos que não desceram. (NYLAND et al., 2005).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mecanismos termorregulatórios do testículo

O efeito da temperatura sobre a qualidade seminal já foi estudado em diversas espécies domésticas (GARCIA, 1971). Sabe-se que a elevação da temperatura testicular possui um efeito deletério na qualidade do sêmen, sendo referida como uma das principais causas de infertilidade em touros, principalmente naqueles que vivem em ambientes tropicais e subtropicais (McENTEE, 1970). A espermatogênese está sob o controle fisiológico do sistema neuroendócrino e sofre influência direta da termorregulação escroto-testicular (COUROT & ORTAVANT, 1981; BYERS & GLOVER, 1984). Os testículos dos mamíferos encontram-se alojados no interior da bolsa escrotal e a temperatura testicular mantém-se entre 2 e 6°C abaixo da temperatura corporal (KASTELIC et al, 1997). Vários fatores contribuem para a termorregulação escroto-testicular, incluindo a estrutura pendular do escroto e a vascularização testicular que, por meio do plexo pampiniforme, reduz a temperatura escrotal pela troca de calor entre o sangue circulante na artéria e na veia testicular (COULTER & KASTELIC, 1994; GUNN & GOULD, 1975;) A túnica dartos nos ruminantes altera a posição dos testículos em relação ao corpo em função da temperatura ambiente (SETCHELL, 1998) e as glândulas sudoríparas favorecem a evaporação diminuindo a temperatura escrotal (BLAZQUEZ et al., 1988). A falha deste sistema como um todo ou a combinação de alguns destes mecanismos pode levar à infertilidade (GABALDI & WOLF, 2002). Os animais da raça Morada Nova são deslanados e esta característica propicia maior tolerância ao calor. A maioria dos sistemas de produção do Nordeste brasileiro utiliza reprodutores em programas de monta natural, quase sempre a pasto, mas há poucas informações sobre o comportamento de reprodutores ovinos deslanados sob condições de estresse térmico. (MOREIRA et al., 2001)

2.2 Degeneração testicular

A degeneração testicular é considerada uma das causas mais frequentes de redução da fertilidade dos machos domésticos (JAINUDEEN & HAFEZ, 1983; ROBERTS, 1986) sendo considerada a principal causa da subfertilidade e infertilidade nos animais que vivem em condições climáticas desfavoráveis (GABALDI & WOLF 2002). Esta envolve alterações degenerativas do epitélio germinativo dos túbulos seminíferos (ARTHUR, 1979), os quais

perdem a capacidade de produzir espermatozóides fisiologicamente normais. Devkota et al, (2010) relatam alterações na expressão da α -actina do músculo liso das células mioepiteliais dos túbulos seminíferos, indicando a atrofia de tais túbulos. O processo de degeneração testicular pode ser uni ou bilateral em função das causas serem locais ou gerais. O desenvolvimento de um quadro de degeneração testicular pode ser rápido, em poucos dias ou em horas, sendo as diversas causas resumidas, conforme Jubb et al. (1985) e Roberts (1986), nos seguintes itens: influências térmicas; infecções localizadas ou sistêmicas; fatores nutricionais; distúrbios circulatórios dos testículos; lesões obstrutivas, biópsias testiculares; fatores hormonais; traumatismos; efeitos da idade; radiações; fatores estressantes; substâncias tóxicas; tumores testiculares; fatores hereditários e processos auto-imunes. Outros fatores podem ainda causar variação na produção normal de espermatozóides: estação do ano, idade, volume testicular e integridade dos tecidos envolvidos na reprodução além de fatores não determinados (BLANCHARD & JOHNSON, 1997).

O aumento da temperatura do escroto, seja natural ou induzida pela insulação escrotal, interfere na termorregulação testicular, predispondo à degeneração do epitélio germinativo gonadal (MIEUSSET et al. 1992). A degeneração é o resultado de alterações na síntese de proteínas e expressão de gens nas células germinativas e células de Sertoli (IKEDA et al. 1999; GUO et al. 1999), levando a sérias consequências para a qualidade do sêmen e subsequentemente para a fecundação e a sobrevivência embrionária, interferindo diretamente sobre os resultados de fertilidade ao parto (MOULE & WAITES, 1963; MUCCILOLO et al., 1974; KISHORE & RAO, 1983). Variações na temperatura ambiente e umidade relativa do ar também estão associadas a alterações na temperatura corporal de carneiros e, consequentemente, na temperatura testicular (FOOTE et al. 1957).

2.3 Insulação escrotal

A palavra insulação deriva do inglês insulation, termo frequentemente usado nos Estados Unidos em referência às vestimentas de inverno, significando isolamento térmico (SOUZA, 2004).

O clima da região Nordeste do Brasil é caracterizado por elevadas temperaturas durante todo o ano (MOREIRA et al., 2001), as quais podem influenciar diretamente os mecanismos de termorregulação testicular e, consequentemente, as funções reprodutivas do macho. (NUNES et al., 1997). A insulação escrotal tem sido usada frequentemente para se estudar a dinâmica de defeitos espermáticos nos espermogramas bovinos, baseado na

severidade e na duração do insulto térmico e no intervalo entre a insulação e a colheita do sêmen. A insulação escrotal aumenta a temperatura e o metabolismo testicular com ausência do aumento de fluxo sanguíneo. Os testículos, que normalmente operam no limite da hipóxia, tornam-se hipóxicos (BARTH, 1993; SETCHELL, 1998). Na insulação escrotal os efeitos deletérios podem tanto ser exercidos por ação local como através de alterações nos padrões de secreções hormonais (BARTH & BOWMAN, 1994).

Lunstra & Coulter (1997) provaram que a ineficácia dos mecanismos de termorregulação testicular pode refletir em diminuições na eficiência reprodutiva do rebanho por haver uma ligação entre temperatura da superfície escrotal em touros e a taxa de concepção em novilhas servidas em monta natural.

Ao insular testículos de ovinos da raça Santa Inês, Moreira et al. (2001) afirmam que o estresse térmico imposto às gônadas não tem efeito sobre a temperatura retal, não detectando ocorrências de enfermidades nem de alterações no comportamento dos animais devido à utilização da bolsa escrotal.

2.4 Ultrassonografia Testicular

Dentre as técnicas de estudo a disposição da pesquisa em reprodução animal, a ultrassonografia em tempo real tem se revelado uma técnica precisa, segura e de alta praticidade, dependendo, logicamente, da qualidade do equipamento utilizado, bem como da experiência do operador. A utilização da ultrassonografia permite a reconstituição da anatomia do órgão estudado de forma dinâmica (CRUZ, 2001). O exame ultrassonográfico dos testículos permite a avaliação da anatomia, do parênquima do órgão e de estruturas vizinhas relacionadas, como epidídimo. A ultrassonografia testicular e do escroto é realizada em medicina veterinária e humana, sendo utilizada para avaliar mudanças palpáveis e não palpáveis, para diferenciar doenças testiculares de epididimais e de escrotais e para localizar testículos que não desceram (NYLAND et al., 2005), sendo considerada uma valiosa técnica de diagnóstico não invasiva para avaliação de doenças testiculares em bovinos (PECHMAN, 1987), bem como em caprinos e ovinos (AHMAD & NOAKES, 1994). No caso de degeneração testicular bilateral em caprinos, (comprovada em testes *post-mortem* apresentando evidência de calcificação nos túbulos seminíferos), o exame ultrassonográfico pode mostrar uma imagem heterogênea com muitas áreas ecóicas distribuídas no parênquima testicular sendo considerada uma boa técnica de diagnóstico para tal (AHMAD et al., 1991).

O principal entrave para a utilização da ultrassonografia no diagnóstico andrológico veterinário tem sido a ausência de parâmetros normais da anatomia testicular das espécies domésticas, assim como a ausência de estudos de correlação entre as lesões reveladas pelas imagens ultrassônicas e o atual estágio da afecção (AGUMBAH et al., 1995). O estabelecimento de parâmetros ultrassonográficos de normalidade para morfologia e dimensões testiculares permite estudos sobre processos degenerativos dos testículos, assim como a avaliação das imagens ultrassonográficas permite o estudo do processo ejaculatório e o papel das glândulas acessórias (GRIFFIN & GINTHER, 1992). Gouletsou et al., (2003) apresentou dados ultrassonográficos testiculares de ovinos clinicamente normais.

O tempo necessário para formação dos espermatozoides a partir de espermatogônias é de 42 a 53 dias na espécie ovina (COUROT et al., 1970) e o período de permanência destes espermatozoides no epidídimo é de 13 a 15 dias (SWIERSTRA, 1968). Por causa disso, exames ultrassonográficos alterados de testículos são mais corretamente associados com quedas de fertilidade futuras, do que simultâneas aos exames (ARTEAGA et al., 2005).

3 JUSTIFICATIVA

A degeneração testicular é uma das afecções mais importantes da reprodução dos machos em geral. Esta tem causas multifatoriais, sendo as mais frequentes a nutrição (má nutrição ou hipernutrição), as altas temperaturas ambientes e as orquites de origem traumáticas ou infecciosas. A degeneração pode ocorrer em vários graus de expressão, indo de um grau leve ao severo.

O diagnóstico desta afecção, geralmente baseia-se na palpação do órgão no qual se avalia sua localização, consistência, volume e aspecto, aliando este exame ao quadro espermático apresentado pelo animal. Contudo, não se sabe com precisão a real situação do parênquima testicular, sendo o diagnóstico concluído somente pela experiência do profissional.

Neste sentido, a ultrassonografia em tempo real, que é uma técnica viável e pouco invasiva, é um recurso mais sofisticado que permite um exame mais acurado do parênquima testicular, revelando seu real aspecto por imagens que podem levar a um diagnóstico mais preciso do grau de degeneração.

A literatura sobre a avaliação ultrassonográfica da degeneração testicular em carneiros é ainda escassa, necessitando uma descrição mais detalhada do parênquima testicular com relação aos vários graus de degeneração, o que vem justificar a realização deste trabalho.

Portanto, a indução da degeneração testicular em carneiros por insulação escrotal se faz necessário para uma avaliação progressiva da afecção em diferentes graus, havendo em seguida a reversibilidade deste processo.

4 HIPÓTESE CIENTÍFICA

A avaliação da biometria testicular e parâmetros seminais associados ao exame ultrassonográfico constitui um método eficiente para avaliação dos vários graus de degeneração em reprodutores ovinos, eliminando a subjetividade do exame clínico tradicional.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Estabelecer um padrão ultrassonográfico da degeneração testicular a partir do testículo hígado até estágios de degeneração testicular térmica avançada

5.2 Objetivos Específicos

- Associar a imagem ultrassonográfica do testículo hígado com os resultados do espermograma e exame clínico do testículo.
- Associar a imagem ultrassonográfica do testículo degenerado com os resultados do espermograma e exame clínico do testículo, nos períodos insulação e pós-insulação.
- Avaliar as temperaturas retal e escrotal, antes, durante e após o período de insulação.
- Avaliar as variações da temperatura ambiental e umidade relativa do ar no período avaliado

6 CAPÍTULO I

**Avaliação da degeneração testicular causada por insulação escrotal em carneiros:
morfometria testicular, características seminais e ultrassonográficas**

**Evaluation of the testicular degeneration caused by scrotal insulation in rams:
Testicular morphometry, Seminal and ultrasonographic characteristics.**

Small Ruminants Research

Novembro, 2010

1. Introduction

The ovine reproductive evaluation, that includes the genital examination and libido evaluation, must take place in flocks before reproductive seasons. It can also be performed during the selection of lambs for replacement, before the purchase of a new animal, or when investigating a reproductive issue in a flock (Gouletsou *et al.*, 2003).

Testicular degeneration is considered one of the most frequent causes of fertility reduction in domestic males, being considered the main sub fertility and infertility cause in animals that live in unfavorable climatic conditions (Gabaldi & Wolf 2002). It includes degenerative alterations in the germinative epithelium of the seminiferous tubules (Arthur, 1979), which lose the capacity of producing physiologically normal sperm. Devkota *et al.* (2010) still report alteration in α -actin expression in seminiferous tubules myoepithelial cells indicating atrophy of these tubules.

The weather, in Brazilian northeastern region, is characterized by high temperatures during the whole year (Moreira *et al.*, 2001), which may directly influence the testicular thermoregulatory mechanisms and, consequentially, the male's reproductive function (Nunes *et al.*, 1997)

The Scrotal insulation has been frequently used to study the dynamics of the spermiatic defects in bovine spermograms, based in the severity and the length of the thermal insult, and the interval between the insulation and semen collection.

Among the available techniques in animal reproduction studies, the real time Ultrasonography has been revealed a precise, safe and highly practical technique, depending, on the quality of the equipment and the operator expertise. The ultrasonographic examination of the testes allows the anatomic evaluation of the organ parenchyma and related neighbor structures, like epididymis (Cruz & Freitas, 2001), being considered a valuable non-invasive technique for the evaluation of testicular diseases in bulls (Pechman, 1987), as well as in goats and rams (Ahmad & Noakes, 1994).

Since the time for the sperm formation from spermatogonia ranges from 42 to 53 days in the ram and its permanence in the epididymis is about 13 to 15 days (Swiestra, 1968) altered ultrasonographic exams of the testicles are more commonly associated to future drops in fertility than simultaneous to the examination (Arteaga, 2005).

The current study aimed to compare ultrasonographic images of the testicle with the changes in spermogram and clinical examination of the testis from the healthy testicle, gradually towards severe thermal testicular degeneration.

2. Material and methods

2.1. Animals

The study used 06 (six) White Morada Nova rams about 24 months old kept in individual stalls under intensive conditions and fed a (400g/(animal/day) in addition to water and fodder, *ad libitum*. The animals went through a 30 day period of adaptation to the semen collection method (electroejaculation) to assay their seminal quality to classify them as reproductively able.

They were kept in single pens at the Núcleo de Estudos e Ensino em forragicultura – NEEF- UFC, that is located 3°45'02"S and 38°32'35"W. the climate in the region is "AW".

2.2. Method: The experiment was divided in three periods: Pre-insulation, insulation and post-insulation. In the pre insulation period, there were performed exams to establish a normality standard for these animals in three different occasions, 7 days apart from each other. The end of this period marked the beginning of the next (insulation) by the placement of insulation bags in the scrotum. In the insulation period, the animals had their scrotum insulated for 8 days with bags crafted of a double plastic layer filled with synthetic foam placed carefully with a string. The data collection occurred two times: 4 and 8 days after the placement of the bags. In the post-insulation period, 3 collections were performed: 7, 14 and 21 days after the removal of the bags.

During these three periods, the morphometric parameters of Scrotal circumference (SC), obtained with a metric tape; Testicle Length (TL), testicle width (TW) and testicle depth (TD) were obtained with a pachimeter; testicle consistency (C) with manual exam. The seminal parameters of ejaculate volume (Vol) was observed by naked eye; spermatic concentration (Conc.), mass activity (MA), Vigor (V), percentage of motile spermatozoa (%M), percentage of normal spermatozoa (%N); testicle Ultrasonography; rectal temperature (RT) and superficial testicular temperature (ST). The testicular consistency was clinically assessed, being classified as normal, slightly flaccid, moderately flaccid or severely flaccid. The environmental parameters of air temperature (AT) and relative air humidity (RH) were acquired in the collection days.

2.3. Semen evaluation:

The semen was collected by electro ejaculation using a Torjet™ 69 with a modified rectal probe. The acquired semen was evaluated in a microscope for the MA, V, and %M, and the Conc. was made using a Neubauer's cell count chamber. For the %N, sperm smear slides were produced colored by bromophenol blue (Mies Filho 1987; Fonseca et al. 1991).

2.4. Ambiental parameters

The AT and RH were obtained with a thermohigrometer to calculate the temperature-humidity index (THI) (Thom, 1959).

2.5. Ultrasonographic exams

The animals had their scrotum washed and shaved before each examination. It was used a CHISON D600 VET device with a linear rectal probe at 7.0MHz and 10 images from each animal were stored, following Gouletsou's (2003) technique. For the homogeny of the exams, the scan depth was maintained at 9.5mm and the main gain, at 80dB. The Gain with Time was also maintained constant throughout the hole experiment. The best image of each day was chosen to represent it.

2.6. Statistical analysis

The statistical analysis were performed using the SYSTAT software version 12, where the data of RT, clinical, biometrical and seminal parameters were expressed in mean and standard deviation evaluated by ANSOVA at 5% using the GLM model. The differences between the periods and inside each period were evaluated by Tukey's test also at 5%.

3. Results

Table 1 indicates the values of AT, RH used to calculate the THI. Throughout the experiment there were found values of THI oscillating from 76.63 to 78.25.

The data exposed in table 2 showed that regarding rectal temperature, there were no statistical difference between the mean of pre-insulation and the means of insulation and post-insulation. The mean insulation bag temperature was 36.76°C during the evaluated period. To the variables EC, TV, TC, TL and TD, the values of the pre-insulation period were similar to the ones found in the insulation period and both periods were superior to the post-insulation period. The TT was higher in the insulation period then in the two other. There was a variation inside the pre-insulation period in TL and a variation inside post-insulation period in TT. There was no variation inside the periods regarding RT, SC, TV, TW and TD.

The data on table 3 shows that the ejaculate volume was kept constant in all three studied periods. The Conc. was similar in the periods pre-insulation and insulation and both had greater values than post-insulation period. The variables MA, %M, V and %N showed greater means in the pre-insulation than in insulation period and both were greater than post-insulation period. Inside the insulation period, the variables Conc., MA, %M, V and %N showed superior values in the first collection.

Ultrasonographically was possible the visualization of the testicular parenchyma as a region with uniform echogenicity hipoechoic to the mediastinum testis, wich showed itself as a linear and longitudinal central hiperechoic structure in the sagital and transverse plane, yet more focal, in the dorsal plane. The images of the epididymis tail were acquired in order to compare its echogenicity with the testicular parenchyma, showing itself as a hypoechoic to anechoic structure with uniform echogenicity with hypoechoic borders. Images of the epididymal head and body were not acquired as well as spermatic cord's.

In the insulation period, there can be seen a light, yet progressive drop in the echogenicity of the testicular parenchyma. The mediastin testis and epididymal tail remained similar to the images of the pre-insulation period.

In the post insulation period the testicular parenchyma of some animals atarted to show a mixed echogenicity and even more hipoechoic since the collection post-insulation I (Fig. 1. F, G and H). The mediastinum Testis became difficult to be individualized, being the most frequent alteration.

Table 1 – Air temperature, relative humidity and Temperature and humidity index

Period	AT (°C)	RH (%)	THI
Pre-insulation	28.54 ± 0.77 ^A	52.41 ± 6.49 ^A	76.63 ± 1.19 ^A
Insulation	28.56 ± 0.63 ^A	56.92 ± 7.47 ^{AB}	77.32 ± 1.42 ^{AB}
Post-insulation	28.75 ± 0.72 ^A	61.88 ± 7.85 ^B	78.25 ± 0.74 ^B

Diferent capital letters in the Column show differences between periods ($p < 0,05$) by tTukey Test.

Table 2- Testicular biometry and rectal temperature divided in three different periods, in White Morada Nova rams submitted to scrotal insulation.

Period	Collection	TR ($^{\circ}$ C)	Testicular Temperature ($^{\circ}$ C)	Bag Temperature ($^{\circ}$ C)	Scrotal Circumference (cm)	Testicular Volume (cm ³)	Testicular Length (cm)	Testicular Width (cm)	Testicular Depth (cm)
Pre-insulation	I	38.58 \pm 0.23a	31.9 \pm 0.89a		29.68 \pm 2.05a	385.49 \pm 60 a	11.02 \pm 0.62a	6.53 \pm 0.37a	6.57 \pm 0.65a
	II	38.40 \pm 0.21a	30.56 \pm 1.08a		30.12 \pm 1.57a	393.86 \pm 66.48a	10.92 \pm 0.75ab	6.86 \pm 0.52a	6.96 \pm 0.43a
	II	38.40 \pm 0.19a	31.22 \pm 0.25a		29.75 \pm 1.97a	434.98 \pm 79.52a	12.35 \pm 0.79c	6.87 \pm 0.41a	6.63 \pm 0.33a
Mean		38.46 \pm 0.22A	31.26\pm0.93a		29.83\pm1.80A	405.42\pm68.73a	11.46\pm0.96A	6.75\pm0.44A	6.71\pm0.49a
Insulation	I	38.15 \pm 0.29a	35.77 \pm 0.79a	36.35 \pm 1.87a	31.25 \pm 2.23a	443.22 \pm 71.88a	11.42 \pm 0.32a	7.12 \pm 0.51a	6.68 \pm 0.37a
	II	38.47 \pm 0.39a	34.67 \pm 0.94a	35.80 \pm 1.68a	29.73 \pm 2.05a	374.95 \pm 73.72a	10.63 \pm 0.56a	6.73 \pm 0.51a	6.47 \pm 0.56a
Mean		38.31 \pm 0.37BA	35.22\pm1.01B	36.07 \pm 1.72	30.49\pm2.19BA	409.08\pm78.03BA	11.02\pm0.60BA	6.92\pm0.52BA	6.57\pm0.46A
Post-insulation	I	38.62 \pm 0.18a	32.63 \pm 0.50a		26.08 \pm 2.08a	271.62 \pm 73.47a	9.95 \pm 1.12a	6.17 \pm 0.31a	5.38 \pm 0.51a
	II	38.48 \pm 0.21a	30.53 \pm 1.36b		24.25 \pm 0.82a	222.49 \pm 27.85a	9.55 \pm 0.56a	5.77 \pm 0.33a	4.88 \pm 0.48a
	III	38.55 \pm 0.16a	31.02 \pm 0.86a		23.17 \pm 1.37a	192.78 \pm 30.90a	9.05 \pm 0.57a	5.70 \pm 0.48a	4.93 \pm 0.29a
Mean		38.55 \pm 0.18CA	31.39\pm1.30CA		24.50\pm1.88C	228.96\pm56.70C	9.51\pm0.83C	5.87\pm0.41C	5.06\pm0.47C

Different lower cap letters in the column show differences inside the periods ($p < 0.05$) by Tukey's Test.

Different capital letters in the column show difecences between the periods ($p < 0.05$) by Tukey's Test

Table 3- Seminal Variables of Morada Nova Var. White rams submitted to scrotal insulation, divided in three different periods.

Period	Collection	Volume (mL)	Concentration (x10 ⁹)	Mass Activity	% of motile Spermatozoa	Vigor	% of normal Spermatozoa
Pre-insulation	I	0.93±0.33a	1.86 ± 1.01a	3.75±1.04a	65.83±4.92a	3.75±0.42a	91.33±9.77a
	II	0.88±0.39a	1.86±0.71a	3.60±0.96a	68,00±16.43a	3.50±0.50a	90.80±3.83a
	III	0.88±0.58a	2.0±0.95a	4.08±0.66a	68.33±11.69a	3.83±0.26a	94.16±5.49a
Mean		0.90±0.42a	1.90±0.85A	3.82±0.86A	67.35±10.91A	3.70±0.40a	92.17±6.73A
Insulation	I	1.13±0.25a	2.34±1.07a	2.08±1.85a	53.33±8.16a	2.42±0.38a	82.00±16.86a
	II	1.12±0.45a	0.81±0.37b	0.0b	3.33±8.16b	0.0b	36.00±6.78b
Mean		1.12±0.35a	1.57±1.10BA	1.04±1,66B	28.33±27.25B	1.21±1.29B	59±26.96B
Pós-insulation	I	1.18±0.59a	0.28±0.32a	0.0a	0.0a	0.0a	26.00±15.08a
	II	0.63±0.25a	0.15±0.38a	0.0a	0.0a	0.0a	3.50±8.57a
	III	0.73±0.22a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	12.00±29.39a
Mean		0.85±0.44a	0.14±0.29C	0.0C	0.0C	0.0C	13.83±20.83C

Different lower cap letters in the column show differences inside the periods (p<0.05) by Tukey's Test.

Different capital letters in the column show difecences between the periods (p<0.05) by Tukey's Test.

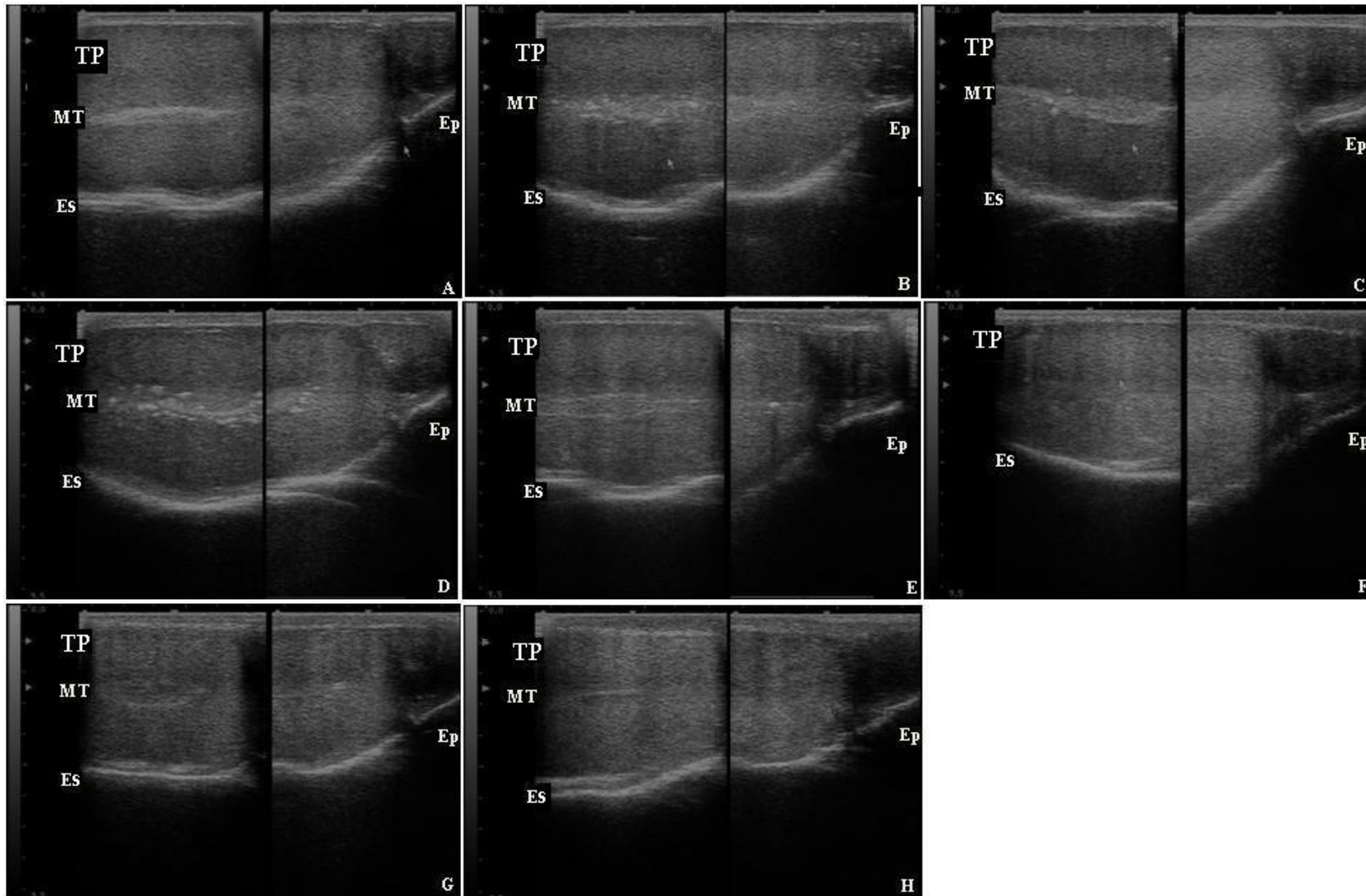


Fig.1. Sonograms of the sagittal plane: (A) pre-insulation I –Mediastinum testis moderately hiperhechoic to the testicle parenchyma, which shows homogenous echogenicity. Anechoic epididymis with hipoechoic margin; (B) Pre-insulation II- diffuse and hiperechogenic Mediastinum testis; (C) Pre-insulation III- hiperechogenic Mediastinum testis; (D) Insulation I- Mediastinum testis moderately echogenic; (E) Insulation II- Mediastinum testis slightly hyperechogenic to the testicle parenchyma; (F) Post-insulation I- Mediastinum testis isoechoic to the testicle parenchyma; (G) Post-insulation II- mediastinum testis isoechoic to the testicular parenchyma. Testicular parenchyma with heterogeneous echogenicity; (H) Post-insulation III- mediastinum testis isoechoic to the testicular parenchyma. Testicular parenchyma with heterogeneous echogenicity. MT: mediastinum testis. TP: Testicular Parenchyma. Es: Scrotum. Ep: Epididymis).

4. Discussion

Throughout the experiment the range of THI values found fall in the category pointed by Johnson (1987) Apud Pimentel (2003) of mild stress. In this category the animals begin to use some energy in termoregulation, but in a low intensity.

In the current essay, rectal temperatures values ($38.32 \pm 0.08^\circ\text{C}$) were similar to the ones Morais et. al.(2009) found, in their paper on Morada Nova ewes in tropical climate. Therefore, there was no physiological alteration in the animals caused by the testicular insulation, which agrees with Moreira et al. (2001). The mean rectal temperature showed statistical difference between the insulation and post insulation periods, but that variation wasn't great enough to make the temperature leave the standards accepted to the ovine species (Swenson, 1996).

The superficial thermometer used in the experiment has a margin of $\pm 1^\circ$. That might be the cause of the difference between the TT in collections II and III of the post-insulation period. The temperatures, even though statistically different, still are in the normal temperature range to maintain the normal testicular activity.

Since in no other scrotal insulation assay a monitoring of the effect of the collection inside each period was performed, the non-existence of variation in the biometric parameters of SC, TV, TL, TW and TD suggests a gradual variation of these parameters as the damage caused by the insult goes further. The effects of the collection effect inside the insulation period in the variables EC, MA, %M, V, and %N, shows a greater susceptibility of these parameters to the deleterious effects of the testicular degeneration. Those information allows to say that a 04 days insulation period is enough to express deleterious effects in ovine spermograms.

The Variable V did not suffer variation during the experiment, which agrees with the findings of Moreira et al (2001). Still, the drop in the Conc. shows that the ejaculate volume is more related to the annex glands than to the testicles, not being a trustable pointer of reproductive sanity, when analyzed alone (Moule & Waites, 1963). Other causes of testicular degeneration, apart from thermal, may cause, on ovines and caprines, reduction in the ejaculate volume, by sclerosis (Ahmad & Noakes, 1995). Ferreira & Oliveira (1965) found, in rats, decrease in ejaculate volume obtained by electroejaculation in animals experimentally infected with *L. chagasi*.

The drop in the spermatic concentration occurred from the second collection in the insulation period, which indicates that the previously produced sperm cells were released, in the majority in the first collection in the insulation period and suggesting a more intense

aggression to the spermatocytes and spermatids and less intense in the already formed spermatozooids (Van Demark & Free 1970), since there still was sperm cells present in the ejaculate in post-insulation II collection. Those findings complement Moreira et al (2001) study, that says the drop in spermatic concentration occurs 08 days after the removal of the insulation bag.

Brito et al., (2003) showed a great individual variation in the reduction in seminal quality in response to insulation. Souza e Costa (1992) Said that the testicular measures have a direct relation to the spermatic production in rams, which justifies the concomitant reduction of the biometric parameters of SC, TV, TL, and in the seminal parameters of Conc., %N. the testicular temperature showed itself way superior during the insulation period (about 4°C) due to the presence of the insulation bags. The severity of the testicular degeneration depends on the duration of the exposure and exposed temperature, but a thermal increase of 1 or 2 °C for 8 hours may cause great alterations in spermatogenesis (Entwistle, 1992).

The ultrasonographic images of the pre-insulation period showed normality aspects, according to Gouletsou et al (2003). The individualization difficulty of the mediastinum testis in the insulation and post-insulation periods was influenced by the fact that the testicle consistency became flaccid, hindering the acquisition of images. That difficulty was more pronounced from the post-insulation II and on, being then ultrasonographically characterized the severe testicular degeneration.

The ultrasonographic examination showed a delay in the diagnosis of severe degeneration in relation to clinical exam by testicular palpation (being the testicle characterized as flaccid in the insulation II collection), since the organ still had characteristics of ultrasonographical normality, being the advance of the condition observed in a more gradual way than in the clinical exam. The development of alterations in the testicles ultrasonographic images had a more intimate relation with the spermatic concentration (Conc.) as the images became more altered, lower was the Conc. The morphometric characteristics SC, TV, TL, TD, although didn't express variations inside each period, showed a constant reduction which can be associated with the ultrasonographic changes. The epididymis kept their echogenicity and hipoechoic appearance throughout the whole experiment serving as hipoechoic reference to compare the other structures.

5. Conclusion

The alterations caused by the scrotal insulation in the seminal and morfometrical variables were enough to cause azoospermy allowing to the gradual study of the degeneration. The ultrasonographic study of the degeneration allows the real time visualization of the

testicle state, especially in more advanced states of the affection, besides allowing the monitoring of the affection development through successive exams. The ultrasonographic diagnosis of testicular degeneration requires, when isolated, sequential examinations to be more precise. The association of the former with other diagnosis methods (testicular palpation and spermogram) implies in a greater accuracy in the diagnosis of this condition.

6. References

Ahmad, N.; Noakes, D. E.; Subandrio, A. L. 1991. B mode real time ultrasonographic imaging of the testes and epididymis of sheep and goats. *Vet. Rec.* v. 128, 491-496.

Ahmad, N.; Noakes, D. E. 1995. A clinical and ultrasonographic study of induced testicular and epididymal lesions in goats and a ram. *Animal Reproduction Science.* 39, 35-48.

Arteaga, A. A; Barth, A. D; Brito, L. F. C. 2005. Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls *Theriogenology* 64, 408-415.

Arthur, G.H. 1979. Anomalias Reprodutivas dos Machos. In:---. *Reprodução e Obstetrícia em Veterinária* 4^a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, chap.32, p.500-540.

Brito, L. F. C., Silva, A. E. D. F., Barbosa R. T., Unanian, M. M., Kastelic, J. P. 2003. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* bulls. *Animal Reproduction Science* 79:1-15.

Cruz, j. F. Da; freitas, v. J. De f; a. 2001. Ultra-Sonografia Em Tempo Real Na Reprodução De Caprinos *Ciência Animal*, 11(1), 53-61.

Devkota, B; Sasaki, M; Matsui, M; Takahashi, K; Matsuzaki S; Koseki T; Miyake Y. 2010. Effects of Scrotal Insulation and Pathological Lesions on -SmoothMuscle Actin (SMA) and Vimentin in the Bull Testes *Journal of Reproduction and Development*, v. 56, n. 2, p. 187-190.

Ferreira, A. L., Oliveira, J. S. M. 1965 Volume do Sêmen obtido por eletro-ejaculação de ratos chagásicos (inoculados experimentalmente) Revista do Instituto de Medicina Tropical., 7:127-130.

Fonseca V.O; Vale Filho V.R; Mies Filho, A; Abreu, J.J. 1991. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, Belo Horizonte MG.

Gabaldi, S. H; Wolf, A. 2002. Importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. Ciências agrárias e da saúde. Andradina-SP. 2(2), 66-70.

Gouletsou, P.G; Amiridis, G.S; Cripps, P.J; Lainas, T; Deligiannis, K; Saratsis, P; Fthenakis, G.C. 2003. Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epidymides of rams. Theriogenology, 59, p. 1959-1972.

Morais, J. H. G., Moraes, D. A. E. F., Costa, W. P., Guilhermina, M., Chaves, D. F., Facó, O. 2009. Variação diária de frequência respiratória e temperatura retal de ovelhas da raça Morada Nova durante o período chuvoso. 46° Reunião annual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.

Moreira, E. P., Moura A. de A. A., Araújo A. A. de, 2001. Efeitos da Insulação Escrotal sobre a Biometria Testicular e Parâmetros Seminais em Carneiros da Raça Santa Inês Criados no Estado do Ceará. Revista brasileira de zootecnia, 30(6): 1704-1711.

Nunes, J.F., Ciríaco, A.L.T., Suassuna, U. 1997. Produção e reprodução de ovinos e caprinos. 2.ed. Fortaleza, Ceará. p.23-53.

Pechman, R.D; Eilts, B.E. B-mode ultrasonography of the bull testicle Theriogenology, V. 27, N. 2, Fev 1987, P 431-441.

Pimentel, G.P. Consumo de Matéria Seca e Nutrientes, Produção de Leite e Indicadores de Estresse Térmico de Vacas Pardo-Suíço Alimentadas com Diferentes Níveis de Castanha de Caju no Semi-Árido. 2002 (Dissertação de Mestrado - UFC).

Souza, J.A.T., Costa, F.A.L. Características do sêmen e correlação com outros parâmetros reprodutivos em ovinos deslanados. In: SIMPÓSIO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - PESQUISA COM CAPRINOS E OVINOS NO CCA, 1992, Teresina, PI. *Anais...* Teresina, 1992. p.80-86.

Swenson, M. J.; Reece, W. O. 1996. *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 855 p.

Swierstra, E.E. 1968. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar. Duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat. Rec.*, 61:171-185.

7 CONCLUSÕES

As alterações ocasionadas pela insulação escrotal nas variáveis seminais e morfométricas foram suficientes para ocasionar azoospermia nos animais estudados, permitindo assim o estudo gradual da degeneração testicular desde seu estágio mais leve até um estágio avançado.

A avaliação da degeneração testicular através de ultrassonografia permite uma visualização em tempo real do estado dos testículos, principalmente nos estágios mais avançados da degeneração, além de permitir, através de exames seriados, o acompanhamento do desenvolvimento da afecção.

A ultrassonografia testicular apresenta alterações durante e após a insulação escrotal condizentes com os valores da concentração espermática e consistentes com as alterações dos valores de circunferência escrotal e volume testicular.

O diagnóstico ultrassonográfico da degeneração testicular, quando isolado, requer exames seriados para ser mais preciso. A associação deste com outros métodos de diagnóstico (palpação, espermograma) implica em maior acurácia para o diagnóstico desta afecção.

8 PERSPECTIVAS

Estudos mais aprofundados das características ultrassonográficas da degeneração testicular térmica se fazem necessários para se obter dados relativos ao retorno da higidez testicular ultrassonográfica e sua comparação com a higidez clínica.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUMBAH, G. J. O.; ODIANO, G. O.; TYREL, D.; OGAA, J. S. Ultrasonography to diagnose testicular lesions in infertile Angora buck. **Irish Veterinarian Journal** v. 48, p. 416-418, 1995.

AHMAD, N.; NOAKES, D. E.; SUBANDRIO, A. L. B. Mode real time ultrasonographic imaging of the testes and epididymis of sheep and goats. **Veterinary Record** v. 128 p. 491-496, 1991.

AHMAD, N.; NOAKES, D. E. A clinical and ultrasonographic study of induced testicular and epididymal lesions in goats and a ram. **Animal Reproduction Science** n.39, p.35-48, 1995.

ARTEAGA, A. A; BARTH, A. D; BRITO, L. F. C. Relationship between semen quality and pixel-intensity of testicular ultrasonograms after scrotal insulation in beef bulls **Theriogenology** n.64 p. 408-415, 2005.

ARTHUR, G.H. Anomalias Reprodutivas dos Machos. In: **Reprodução e Obstetricia em Veterinária** 4a ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, cap.32, p.500-40, 1979.

BAILEY T.L, HUDSON R.S, POWE T.A, RIDDELL M.G, WOLFE D.F, CARSON R.L. Caliper and ultrasonographic measurements of bovine testicles and mathematical formula for determining testicular volume and weight in vivo, **Theriogenology**, 49, p. 581-594, 1998.

BLASQUEZ, N.B., MALLARD, G.F., WEDD, S.R. Sweat glands of the scrotum of the bull. **Journal of Reproduction and Fertility**, 83:673-677. 1988.

BRITO, L. F. C., SILVA, A. E. D. F., BARBOSA R. T., UNANIAN, M. M., KASTELIC, J. P.. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* bulls. **Animal Reproduction Science**, 79:1-15. 2003

BYERS, S.W.; GLOVER, T.D. Effect of scrotal insulation on the pituitary-testicular axis of the ram. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.71, n.1, p.23-31, 1984.

COULTER G.H. Puberty and postpuberal development of beef bulls, in Morrow DA(ed), Current therapy in **Theriogenology**, Philadelphia:, p. 142-148, 1986.

COULTER, G.H., KASTELIC, J.P. Testicular thermoregulation in bulls. In: 15^o Technical Conference On **Artificial Insemination And Reproduction**, 1994, Columbia. *Proceedings...* Columbia: National Association of Animal Breeders. p.28-34. 1994

COSTA, F. L. A.; SILVA, S. M. M. S; NASCIMENTO, E. F. Pathologic evaluation of testis and epididymis of hary rams in the semi-arid region of Piaui State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 59:1110-1116, 2007.

COUROT, M., HOCHEREAU de-REVIERS, M.T., ORTAVANT, R. Spermatogenesis. In: JOHSON, A.D., GOMES, W.R., VANDEMARK, N.L. (Eds.) **The testis**. New York: Academic Press. p.339. 1970.

CRUZ, J. F. da; FREITAS, V. J. de F; A Ultra-Sonografia Em Tempo Real Na Reprodução De Caprinos. **Ciência Animal**, 11(1):53-61, 2001

DEVKOTA, B; SASAKI, M; MATSUI, M; TAKAHASHI, K; MATSUZAKI S; KOSEKI T; MIYAKE Y Effects of Scrotal Insulation and Pathological Lesions on –Smooth Muscle Actin (SMA) and Vimentin in the Bull Testes **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, n. 2, p. 187–190, 2010

FERREIRA, A. L., OLIVEIRA, J. S. M. Volume do Sêmen obtido por eletro-ejaculação de ratos chagásicos (inoculados experimentalmente). **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. 7, p.127-130, 1965.

FONSECA V.O; VALE FILHO V.R; MIES FILHO, A; ABREU, J.J. Procedimentos para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Belo Horizonte, **Colégio Brasileiro de Reprodução Animal**, 1991.

FOOTE, W.C., POPE, A.L., NICHOLS, R.E. The effects of variations in ambient temperature and humidity on rectal and testis temperature of sheared and unsheared rams. **Journal of Animal Science**, n.16, p.144-150, 1957.

FREITAS, V.J.F., NUNES, J.F. Parâmetros andrológicos e seminais de carneiros deslanados criados na região litorânea do Nordeste Brasileiro em estação seca e chuvosa. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.**, n.16, p.95-104, 1992.

GARCIA, O.S. **Características físicas e morfológicas do sêmen de touros normais e de touros com distúrbios reprodutivos, de raças européias e indianas, criadas no Estado de Minas Gerais.** 1971. 61p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GABALDI, S. H; WOLF, A. Importância da termorregulação testicular na qualidade do sêmen em touros. **Ciências agrárias e da saúde.** v. 2, n. 2, Andradina-SP, p 66-70, 2002.

GOULETSOU, P.G; AMIRIDIS, G.S; CRIPPS, P.J; LAINAS, T; DELIGIANNIS, K; SARATSIS, P; FTHENAKIS, G.C. Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epidymides of rams. **Theriogenology**, 59, p. 1959-1972, 2003.

GRIFFIN, P.G.; GINTHER, O. J. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. **Journal of Animal Science.** v. 70, p. 953-972, 1992.

COUROT, M.; ORTAVANT, R. Endocrine control of spermatogenesis in the ram. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.30, p.47-60, 1981.

GUO, C. X., TANG, T.S., MU, X.M. et al. Cloning of novel temperature-related expressed sequence tags in rat testis during spermatogenesis. **Biochemical Biophysics.** N. 258, p.401-406, 1999.

GUNN, S.A., GOULD, T.C. 1975. Vasculature of the testes na adnexa. In: GREEP, R.O., ASTWOOD, E.B. Handbook of Physiology, Section 7 Endocrinology. Washington D.C.: **American Physiology Society.** v.5, p.117-142.

IKEDA, M., KODAMA, H., FUKUDA, J. et al. Role of radical oxygen species in rat testicular germ cells apoptosis induced by heat stress. **Biology and Reproduction**, n.61 p.393-399, 1999.

JAINUDEEN, M.R. & HAFEZ, E.S.E. Distúrbios Reprodutivos nos Machos. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal** 4a ed. Sao Paulo, Manole, cap.23, p.545-69, 1983.

JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C. & PALMER, N. The male genital system. In:---. **Pathology of Domestic Animals**. 3a ed. Florida, Academic Press, v.3, cap.5, p.428-32, 1985.

KASTELIC, J.P.; COOK, R.B.; COULTER, G.H. Contribution of the scrotum, testes, and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. **Animal Reproduction Science**, v. 45, p. 255-61, 1997.

KISHORE, P.N.; RAO, A.R. Effect of induced testicular degeneration on characteristics of bucks. **Indian Veterinary Journal**, Madras, v.60, n.4, p.281-286, 1983.

MIES FILHO, **Inseminação Artificial**. Porto Alegre, Editora Sulina, 1987.

MIEUSSET, R.; QUINTANA CASARES, P.; SANCHEZ PARTIDA, L.G.; SOWRBUTTS, S.F.; ZUPP, J.L.; SETCHELL, B.P. Effects of heating the testis and epididymites of ram by scrotal insulation on fertility and embryo mortality in ewes inseminated with frozen semen. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.94, n.2, p.337-344, 1992.

MORAIS, J. H. G., MORAIS, D. A. E. F., COSTA, W. P., GUILHERMINA, M., CHAVES, D. F., FACÓ, O. Variação diária de frequência respiratória e temperatura retal de ovelhas da raça Morada Nova durante o período chuvoso. 46° Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2009.

MOREIRA, E. P; MOURA A. de A. A; ARAÚJO A. A. de; Efeitos da Insulação Escrotal sobre a Biometria Testicular e Parâmetros Seminais em Carneiros da Raça Santa Inês Criados no Estado do Ceará. **Revista brasileira de zootecnia**, 30(6) p.1704-1711. 2001.

MOULE, G.R.; WAITES, G.M.H. Seminal degeneration in the ram and its relation to the temperature of the scrotum. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.5, p.433-446, 1963.

MOULE, G.R.; WAITES, G.M.H. Seminal degeneration in the ram and its relation to the temperature of the scrotum. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, Grã-Bretanha, v.5, p.433-446, 1963.

MUCCIOLO, R.G.; BARBABÉ, R.C.; BARNABÉ, V.H. Variações no quadro espermático de carneiros submetidos à degeneração testicular experimental. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.11, p.155-177, 1974.

NUNES, J.F., CIRÍACO, A.L.T., SUASSUNA, U. 1997. **Produção e reprodução de ovinos e caprinos**. 2.ed. Fortaleza, Ceará. p.23- 53.

NYLAND T.G, MATTOON J.S, **Ultra-Som Diagnostico em Pequenos Animais**, 2ed. Roca, São Paulo-SP, 2005, 469p.

PECHMAN, R.D; EILTS, B.E. B-mode ultrasonography of the bull testicle **Theriogenology**, V. 27, n. 2, p. 431-441, 1987.

PIMENTEL, G.P. **Consumo de Matéria Seca e Nutrientes, Produção de Leite e Indicadores de Estresse Térmico de Vacas Pardo-Suíço Alimentadas com Diferentes Níveis de Castanha de Caju no Semi- Árido**. (Dissertação de Mestrado - UFC). 2002

ROBERTS, S.Y. Infertility in Male Animals. **Veterinary Obstetrics and Genal Diseases**. Michigan, Edwards Brothers, 3^a ed. cap.18, p.752-893, 1986.

SETCHELL, B.P. heat and the testis. **Journal of Reproduction and Fertility**, 114:179-194. 1998.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 855 p1996.

SWIERSTRA, E.E. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar. Duration of spermatozoan transit through the epididymis. **Anatomy Recourse**, 61:171-185. 1968.

THOM, E.C. **The discomfort index Weatherwise**. n.60, p.12-57, 1959.

VANDERMARK, N.L.; FREE, M.J. Temperature effects. Apud: JHONSON, W.R; GOMES, W.R; VANDERMARK, N.L. **The testis**. New York: Academic Press, p. 233-312. 1970.