

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

TALITA SOARES CÂMARA

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE CAPRINOS APÓS APLICAÇÃO
DE TESTOSTERONA BIOIDÊNTICA POR VIA TRANSDÉRMICA
ESCROTAL**

**FORTALEZA
2013**

TALITA SOARES CÂMARA

**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE CAPRINOS APÓS APLICAÇÃO
DE TESTOSTERONA BIOIDÊNTICA POR VIA TRANSDÉRMICA
ESCROTAL**

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. José Ferreira Nunes

**FORTALEZA
2013**

C173d Câmara, Talita Soares.

Desempenho reprodutivo de caprinos após aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal/Talita Soares Câmara.— 2013.

CD-ROM 60f. : il. (algumas color.) ; 4 ¾ pol.

“CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm)”.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, Mestrado Acadêmico em Reprodução e Sanidade Animal, Fortaleza, 2013.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientação: Prof. Dr. José Ferreira Nunes.

1. Aplicação de testosterona. 2. Caprinos. 3. Testosterona sérica. 4. Hormônio bioidêntico. I. Título.

CDD: 638.089

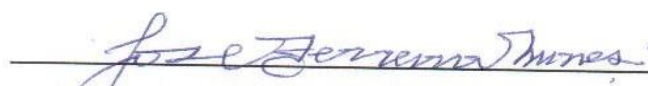
TALITA SOARES CÂMARA

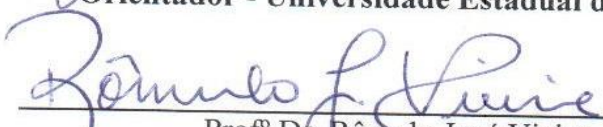
**DESEMPENHO REPRODUTIVO DE CAPRINOS APÓS APLICAÇÃO
DE TESTOSTERONA BIOIDÊNTICA POR VIA TRANSDÉRMICA
ESCROTAL**

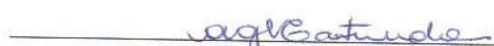
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Aprovada em: 13/12/2013

Banca Examinadora


Prof. Dr. José Ferreira Nunes (Presidente da Banca)
Orientador - Universidade Estadual do Ceará


Prof. Dr. Rômulo José Vieira
Examinador – Faculdade Integral Diferencial – FACID


Dra Ana Gláudia Vasconcelos Catunda
Examinadora – Bolsista PNPd/Rede Nordeste de Biotecnologia – Renorbio


Prof. Dr. José Maurício Maciel Cavalcante
Examinador – Faculdade de Tecnologia do Nordeste - FATENE

À minha mãe, Ana Alaídes; à meu pai, José Câmara; e à meu irmão, Cauê Câmara, pela força, apoio e carinho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Ceará por ter me acolhido e proporcionado dois anos de aprendizado.

À Capes, pelo concedimento da minha bolsa de pós-graduação.

À Universidade Federal da Bahia pela colaboração, atenção e disponibilidade para análise hormonal do experimento.

Ao meu orientador, Prof^o Dr. José Ferreira Nunes, pelos ensinamentos e principalmente por ter me acolhido e acreditado em meu potencial.

Ao Dr. José Maurício pela ajuda, pelas conversas, ensinamentos e paciência.

Ao Prof^o Rômulo José Vieira pela força, incentivo e paciência, obrigada por ter me apresentado à UECE.

À Dra. Ana Gláudia pela ajuda na realização da estatística, apoio e amizade.

À Prof^a Dra Maria Gorete Flores Salles, pela disponibilidade dos animais e do local para realização do experimento, além dos conselhos, conversas e amizade.

À Deus, por ter me dado força para superar todos os obstáculos e por não ter me deixado desistir nos momentos mais difíceis.

À minha família, em especial, minha mãe, por ter permanecido presente, me dando força, sempre tentando me acalmar nos momentos de tensão e acreditando na minha vitória; a meu pai, por não me deixar baixar a cabeça diante das dificuldades, e a meu irmão, que de sua forma calma e amorosa, sempre esteve ao meu lado, apesar da distância. Essa vitória é para vocês!!!

Às minhas amigas Cristiane Bezerra e Karynne Marques, pela amizade, por entenderem minha ausência e por torcerem por mim acima de tudo.

Às companheiras de mestrado, Ludmylla Furtado e Allana Ferreira, pelas conversas, momentos de diversão e troca de experiência, saber que em qualquer momento, pude contar com vocês, fez muita diferença.

À Mestre Bárbara Mara pelo apoio, ensinamentos e ajuda na realização do experimento.

A todos do Núcleo Integrado de Biotecnologia - NIB, em especial aos estudantes de iniciação científica: Bruna, Priscila, Leonardo, Lívia, Fábio, Juliana, Nayra, Brandinice, pela ajuda durante a realização da parte prática do trabalho e pelos momentos de descontração. E aos mais novinhos do laboratório, por sempre me ajudarem: Fábio, Lívia Furtado, Lara, Victor, Levi e Luiza.

RESUMO

O maior efetivo de caprinos no Brasil está situado na região Nordeste, onde a criação destes animais justifica-se por apresentarem características de maior rusticidade e adaptabilidade às condições ambientais. Todavia, os índices reprodutivos atuais apresentam-se insatisfatórios. Em virtude disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal em caprinos com baixa libido e qualidade seminal, sobre o comportamento sexual, a produção quanti-qualitativa dos espermatozoides e as concentrações séricas de testosterona, Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), para o tratamento temporário de reprodutores inaptos a reprodução, uma vez que não existem dados na literatura referentes à associação do hormônio bioidêntico com a via de aplicação transdérmica em caprinos. O experimento foi conduzido em Pacatuba – Ceará, Brasil ($3^{\circ}53'49,9''\text{S}$ e $38^{\circ}34'32,5''\text{W}$). Foram utilizados quatro machos caprinos (Saanen=3 e Anglo Nubiano=1) com baixa libido e qualidade seminal insatisfatória, comprovada por exame andrológico. Semanalmente, ao longo de dois meses, foram realizadas colheitas e avaliação do sêmen; mensuração da circunferência escrotal (CE); aplicação da testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal; colheita de sangue para determinar concentração sérica de testosterona, FSH e LH; além da verificação do comportamento sexual através do teste de libido. Para efeito de análise dos dados adotou-se o agrupamento das coletas em três períodos (P1, P2, P3). Procedeu-se a um estudo de análise de variância para testar a eficácia das aplicações. As médias obtidas foram comparadas pelo teste *t-Student* com 5% de significância. Para análise dos dados utilizou-se o programa estatístico SAS v.8 (2000). Os níveis séricos de testosterona apresentaram diferenças significativas em função do período de tratamento, entretanto, não foi observada diferença significativa para os valores de FSH e LH entre os diferentes períodos de tratamento. Na análise, do sêmen fresco e resfriado, os parâmetros seminais avaliados não foram influenciados significativamente ao longo do período experimental. O método de aplicação da testosterona bioidêntica por via transdérmica foi eficiente para aumentar os níveis séricos de testosterona e libido, porém este aumento não foi suficiente para alterar a qualidade seminal.

Palavras-chave: Aplicação Transdérmica. Caprinos. Testosterona Sérica. Hormônio Bioidêntico.

ABSTRACT

The majority of goats in Brazil are located in the Northeast region, which the breeding is justified by presenting features for larger resistance and adaptability to environmental conditions. However, the current reproductive rates shows unsatisfactory. One of the important tools to increase the reproductive performance of these herds is the use of genetically superior males. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of bioidentical testosterone by transdermal scrotal way in goats, sexual behavior, quantitative and qualitative production of sperm and serum testosterone concentrations of Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH), since there is no data in the literature concerning association with bioidentical hormone by transdermal route of application in goats. The experiment was conducted in Pacatuba City (Ceará), Brazil (3°53'49, 9" S and 38°34'32, 5" W). Were used four male goats (Saanen=3 and Anglo Nubian=1) with low libido and poor semen quality, proven by breeding andrological examination. Every week, during two months, semen evaluation, measurement of scrotal circumference (CE); application of bioidentical testosterone transdermal scrotal and blood samples were made to determine serum testosterone, FSH and LH; and evaluation of sexual behavior by libido test. For purposes of data analysis adopted the grouping of samples collected throughout the experimental period (09 samples) in three periods (P1, P2, P3). The averages were compared by Student's t test with 5% significance. The data were analyzed by the statistical program SAS v.8 (2000). Serum testosterone showed significant differences depending on the treatment period, however, no significant difference was observed for FSH and LH between the different treatment periods. The analysis of seminal parameters of fresh and freezing semen were not affected significantly throughout the experimental period. It was observed that the absorption efficiency of bioidentical testosterone transdermal scrotal in goats, but they were not the expected effects on libido and semen quality. The transdermal method of bioidentical testosterone application was efficient to increase the levels of plasmatic testosterone, though, this level was not sufficient to change libido and seminal quality.

Key words: Transdermal Application. Goats. Serum Testosterone. Hormone bioidentical.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABP - Proteína ligadora de andrógeno
ACP® - Água de coco em pó
ACP - 101 meio diluente para sêmen caprino à base de água de coco em pó
Anvisa - Agência nacional de vigilância sanitária
AINEs - Antiinflamatórios não esteroidais
CASA - Análise de sêmen auxiliada por computador
CBRA - Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
CE - Circunferência escrotal
EUA - Estados Unidos da América
FDA - Food and Drug Administration
GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofina
LIN - Linearidade
MM - Motilidade massal
MOT - % de motilidade total através análise de sêmen auxiliada por computador
MP - Motilidade progressiva
MT - Motilidade total
PROG - % de motilidade progressiva através análise de sêmen auxiliada por computador
STR - Retilinearidade
FSH - Hormônio Folículo Estimulante
LH - Hormônio Luteinizante
P0 - Pré-coleta
P1 - Coleta 1 (1ª a 3ª semana de experimento)
P2 - Coleta 2 (4ª a 6ª semana de experimento)
P3 - Coleta 3 (7ª a 9ª semana de experimento)
PB - Proteína bruta
PEM - Porcentagem de espermatozoides móveis
TM - Tempo de monta
TTR - Teste de termorresistência
VA - Vagina artificial
VAP - Velocidade média da trajetória
VCL - Velocidade curvilinear
VSL – Velocidade linear

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	11
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Características Reprodutivas.....	12
2.1.1 Comportamento sexual	12
2.1.2 Libido.....	13
2.1.3 Circunferência escrotal.....	14
2.2 Características Seminais.....	15
2.2.1 Sêmen caprino.....	15
2.2.2 Avaliação Seminal.....	16
2.2.3 Análise do sêmen auxiliada por computador (CASA).....	19
2.3 Características Hormonais.....	20
2.3.1 Testosterona.....	20
2.3.2 Secreção de testosterona.....	21
2.3.3 Concentração de testosterona em caprinos	22
2.3.4 Hormônios bioidênticos.....	23
2.3.5 Via de aplicação transdérmica.....	23
3.JUSTIFICATIVA.....	26
4.HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	27
5.OBJETIVOS.....	28
Capítulo 1. Avaliação da libido, concentração sérica de testosterona e qualidade seminal em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica.....	29
6.CONCLUSÕES.....	47
7.PERSPECTIVAS.....	48
8.REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	49

1. INTRODUÇÃO

A caprinocultura tem crescido bastante nos últimos anos como um ramo economicamente rentável, sendo a região Nordeste o local de maior concentração de caprinos no Brasil, totalizando 90,3% do efetivo nacional (ANDRIOLI *et al.*, 2002; IBGE, 2012). Estes animais apresentam características favoráveis sobre outros, incluindo a melhor tolerância em ambientes adversos (SILANIKOVE, 2000). Entretanto, esta atividade possui, de forma geral, baixo desempenho reprodutivo, justificada pela taxa de fertilidade do rebanho, que sofre interferência direta da testosterona (NUNES, 1982).

A testosterona é o hormônio reprodutivo de maior predominância no macho, e sua função está relacionada com as manifestações da libido, e o início da espermatogênese (GUYTON, 1992). Por isso, bem como pelas características sexuais secundárias, sua determinação poderá revelar maiores informações sobre o processo de desenvolvimento do sistema reprodutivo em caprinos adaptados ao clima semi-árido do Nordeste do Brasil, além da seleção de animais para reprodução, uma vez que, este hormônio interfere diretamente na libido e, conseqüentemente, no número de serviços do reprodutor (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Chenoweth (1983) relatou que a libido e a capacidade de serviço em touros são fortemente influenciadas por fatores genéticos. Portanto, animais com baixos níveis do hormônio terão conseqüentemente, baixa expressão da libido (BEARDEN e FUQUAY, 1997).

Contudo, Barbosa; Alencar e Barbosa (1991) e Fonseca; Pineda e Proença (1996) encontraram correlações de 0,84 e 0,62 ($P < 0,01$), respectivamente, entre a libido e a capacidade de serviço de touros da raça Nelore, e sugeriram que o teste da libido seria a alternativa mais viável para avaliar o comportamento sexual dos animais.

Em humanos, já se estuda o uso de hormônios que tem estrutura molecular exatamente idêntica à dos equivalentes produzidos pelo organismo, são aqueles manipulados em farmácias específicas, chamados de bioidênticos (PEIXOTO, 2012; SIYAM e YUKSEL, 2013). Estes oferecem vantagens quando comparados com preparações hormonais industrializadas, tais como larga margem de variação nas dosagens, concentração e composição individualizadas e uso de veículos e excipientes especiais, além da menor incidência de efeitos adversos e maior eficácia terapêutica (MARTINS e VEIGA, 2002).

A adoção de terapias de reposição hormonal tem sido recomendada para homens que apresentam baixa testosteronemia, com desenvolvimento de diversas preparações comerciais de testosterona (KIM *et al.*, 2013), de modo que diversas vias de administração de

testosterona estão disponíveis para uso clínico (ZITZMANN e NIESCHLAG, 2000), como a transdérmica, oferecendo vantagem sobre a via intravenosa e intramuscular, já que é indolor e não invasiva (BADRAN *et al.*, 2009).

Em virtude disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal, na qualidade seminal, libido e concentrações séricas de testosterona, Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), uma vez que não existem dados na literatura referentes a associação do uso de um hormônio bioidêntico com a via de aplicação transdérmica em caprinos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Características reprodutivas

2.1.1 - Comportamento sexual

Gomes; Butler e Johnson (1971) ao pesquisarem os efeitos da temperatura ambiente sobre a concentração plasmática de testosterona em caprinos, verificaram diminuição desse hormônio em animais criados sob altas temperaturas. Na região Nordeste do Brasil, o comportamento sexual, dos machos, não é marcadamente influenciado pelas estações do ano, uma vez que a concentração de testosterona, fator que interfere diretamente na libido, não sofre grande variação ao longo do ano (MIES FILHO, 1987).

Para Macdonald e Pineda (1989), a concentração de esteróides e outros hormônios varia entre diferentes animais em função da idade, estação do ano, hora do dia, frequência e condições de ejaculações.

O comportamento sexual pode ser avaliado pelo teste de libido ou pelo teste de capacidade de serviço. A libido pode ser conceituada como a espontaneidade e avidez do macho para montar e efetuar a cópula, sendo de fundamental importância para predizer a real capacidade reprodutiva do animal (CHENOWETH, 1981). A capacidade de serviço é o número de serviços realizados em uma situação favorável para a monta em um período de tempo específico (BLOCKY; WILKINS, 1984).

No macho, durante o comportamento sexual verificam-se duas fases: o cortejo e a cópula. De acordo com Sampaio (2008), no cortejo, o reprodutor adota uma postura diferenciada, onde alonga a cabeça para trás com as orelhas deitadas. É uma etapa de identificação olfativa, onde o macho cheira e lambe a região anogenital da fêmea e a urina, respondendo com o ato de fungar, estimulando-se com os feromônios da urina da fêmea, realiza o reflexo de Flehmen, exteriorizando e retraindo a língua, seguidas vezes, emitindo um som característico, batendo e raspando os cascos no chão, como demonstração de

masculinidade e, batendo no flanco da fêmea ou, a empurrando com os membros anteriores, acotovelando e o escoiceando. Essa sequência de condutas do macho ocorre na exposição frente a uma fêmea em estro (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Em caso de receptividade da fêmea, segue-se o ato sexual.

A cópula tem início numa fase de excitação diretamente ligada com o cortejo, seguida por ereção, emissão do pênis, monta, abraço, procura, introdução, empuxo final e ejaculação, desmonta, relaxamento e tranquilização, no qual o macho apresenta um período refratário não respondendo a estímulos sexuais (SAMPAIO, 2008).

2.1.2 - Libido

Em machos adultos, a eficiente motivação sexual depende de secreção hormonal, presença de fêmeas em estro, nutrição adequada, estação do ano (ALEU, 1992) e comportamento social, ou seja, qual posição social o macho ocupa no rebanho (SALLES, 2010). O início da estação reprodutiva é precedido por aumento na secreção testicular de andrógenos, que é revelado por um grande aumento nas concentrações plasmáticas de testosterona (MIES FILHO, 1987).

Segundo Ahmad e Noakes (1995), citados por Salles (2010), o teste de libido é utilizado para observar as variações estacionais na intensidade de comportamento sexual de machos. Há fatores genéticos e ambientais que influenciam o desenvolvimento da função reprodutiva e o comportamento.

A libido é uma das primeiras características comportamentais externas da reprodução, afetadas pela elevação da temperatura ambiente (CHEMINEAU *et al.*, 2004). Em bodes e carneiros de diferentes raças do Nordeste do Brasil, as alterações na libido ocorrem devido a variações climáticas em função da temperatura ambiente e do regime de chuvas (NUNES, 1982). A nutrição, idade, hora do dia e estimulação do macho são fatores, que também devem ser considerados (GOMES; BUTLER e JOHNSON, 1971). A amplitude das variações muda substancialmente de acordo com o rebanho e a individualidade do macho, representando a sensibilidade de cada animal ou rebanho para o meio.

No macho caprino, tanto a libido quanto a produção e a qualidade dos ejaculados variam ao longo do ano, e o fator indutor primário desta variação são as trocas na duração do dia, com relação ao fotoperíodo, crescente ou decrescente. Estas trocas provocam flutuações na secreção de LH e andrógenos, o que causa modificações na funcionabilidade testicular, com a máxima atividade testicular associada ao fotoperíodo decrescente (ALEU, 1992). A nutrição também é uma variável importante, pois se o verão for chuvoso, com disponibilidade

de nutrientes nas forrageiras, há melhor qualidade seminal dentro da estação reprodutiva (RIIS, 1983).

Em caprinos há poucos estudos sobre o comportamento sexual e menos ainda, quanto à avaliação da libido, normalmente a abordagem da libido em caprinos é baseada adaptando-se a avaliação do comportamento dos bovinos e ovinos (SALVIANO e SOUZA, 2008). Alguns autores adotaram a metodologia considerando o tempo de aproximação e monta, classificando os reprodutores como excelente (0 a 59 segundos), bom (60 a 120 segundos) e regular (superior a 120 segundos) (SILVA *et al.*, 2006).

2.1.3 - Circunferência escrotal

A circunferência escrotal (CE) em animais jovens é indicador útil do tamanho testicular, da capacidade de produção espermática, das características físicas do sêmen e também da fertilidade dos machos (PEÑA; QUEIROZ e FRIES, 2001). Devido à praticidade de sua obtenção, a CE é uma medida utilizada em programas de seleção como indicador de precocidade sexual, pois além de fácil mensuração é uma característica de herdabilidade moderada, indicando que a seleção a seu favor pode resultar em progresso genético efetivo (PEREIRA; ALENCAR e BARBOSA, 2007).

Em regiões de média a altas latitudes, a flutuação do perfil reprodutivo endócrino, principalmente, no que diz respeito às concentrações de testosterona, exerce influência sobre a CE. No período que antecede a estação de acasalamento, quando a luminosidade diminui, a concentração de testosterona alcança níveis máximos, estimulando a espermatogênese e proporcionando elevação da CE em pequenos ruminantes (BARBOSA *et al.*, 1999). Esses eventos fisiológicos puderam ser verificados em caprinos criados nos trópicos, submetidos ao manejo artificial do fotoperíodo (SANTOS *et al.*, 2006). No Nordeste Brasileiro, não se verifica alterações de comportamento sexual no macho caprino que apresenta uma circunferência escrotal de 28 a 32 cm (NUNES *et al.*, 2001).

Entretanto, mesmo em condições em que exista influência do fotoperíodo, a condição nutricional e o peso corpóreo continuam a exercer influência sobre a CE. De La Vega *et al.* (2006), que estudaram caprinos da raça Crioulos Serranos, criados extensivamente na Argentina observaram menores valores de CE no inverno, estação de déficit alimentar, que aqueles verificados no meio da primavera.

Para Delgadillo; Chemineau e Leboeuf (1992), o perímetro escrotal em caprinos, apresenta alta correlação positiva ($r = 0,70$) com o volume seminal, concentração espermática,

percentual de anormalidade da peça intermediária, gota citoplasmática distal e com os níveis plasmáticos de testosterona.

Vilar Filho *et al.* (1993) estudaram as características testiculares em caprinos de diferentes raças, e verificaram valores médios relativos à circunferência escrotal de 25,8 cm para a raça Parda Alpina; 25,3 cm, para a raça Anglo-Nubiana; e 23,9 cm, para a raça Canindé. Santos *et al.* (2001) trabalhando com bodes da raça Saanen observaram uma diminuição da circunferência escrotal entre os meses de setembro a janeiro, com uma variação de 31,37 cm a 25,41 cm para este parâmetro.

Diversos autores (AHMAD e NOAKES, 1996; BECKER-SILVA; MARQUES JR; ANDRADE, 2000; BONGSO; JAINUDEEN; ZAHRAH, 1982) indicaram que o tamanho da CE teve correlação altamente significativa com o peso corporal e a idade e verificaram ainda, uma variação racial para o parâmetro circunferência escrotal, além disso, Santos *et al.* (2006) observaram uma maior precocidade dos caprinos Saanen sobre os da raça Alpina, podendo-se confirmar que, a circunferência escrotal é uma característica importante para a precocidade sexual e o volume do ejaculado.

2.2 – Características Seminais

2.2.1 - Sêmen Caprino

O sêmen é composto por espermatozoides produzidos nos testículos, e por uma fração líquida, formada por fluido testicular e epididimário, e por secreções das glândulas acessórias do sistema genital masculino, denominada plasma seminal (CORTEEL, 1981). O sêmen pode ser processado de diferentes maneiras, podendo ser usado imediatamente após a colheita (puro ou diluído), conservado resfriado ou congelado. Mesmo empregado puro, o ejaculado que um macho proporciona, pode ser utilizado em um número relativamente elevado de fêmeas (NUNES, 1988a).

O sêmen do bode possui características físicas e bioquímicas específicas, que podem variar mesmo dentro da espécie caprina, dependendo da raça e do indivíduo, da idade, da época e método de colheita (vagina artificial ou eletro-ejaculador), da alimentação do animal, e do número de colheitas ao qual o animal é submetido (MIES FILHO, 1987).

Variações estacionais na quantidade e qualidade do sêmen têm sido atribuídas ao fotoperíodo (PELLETIER; CHEMINEAU e DELGADILLO, 1988), com diferenças entre raças em função da latitude do local de medição. Em altas latitudes, a atividade reprodutiva dos machos pode estar ausente por alguns meses (AHMAD e NOAKES, 1996; CORTEEL e BARLER, 1975; SAUMANDE e ROUGER, 1984), enquanto em latitudes intermediárias as

variáveis seminais são menos pronunciadas (KARAGIANNIDIS; VARSAKELI e KARATZAS, 2000; PEREZ e MATEOS, 1996; ROCA *et al.*, 1992). Em regiões tropicais, próximas a linha do Equador, onde não há variação da luminosidade diária, não ocorrem diferenças estacionais na produção espermática dos machos de raças nativas (CHEMINEAU, 1986; HIBBERT; RODRIGUES; NOBLE, 1986). Nessas áreas, as variáveis quanti-qualitativas do ejaculado caprino parecem estar condicionadas a outros fatores mais importantes do que o fotoperíodo, tais como a temperatura ambiente (CHEMINEAU, 1986; HIBBERT *et al.*, 1986; MACHADO; FREITAS e SIMPLÍCIO, 2000; NUNES, 1988).

Em regiões tropicais, o macho caprino é capaz de se reproduzir satisfatoriamente ao longo do ano, desde que tenha potencial genético (ARAÚJO FILHO; CARVALHO e PIMENTEL, 1994), e seja adequadamente bem manejado, principalmente, no que diz respeito à nutrição e à saúde. Considera-se que nessas regiões a alta umidade relativa, isolada ou em associação com as elevadas temperaturas do ambiente, exercem maior efeito negativo sobre a libido e sobre as características quanti-qualitativas do sêmen, do que a temperatura ambiental por si só, e o fotoperíodo (ELWISHY e ELSAWAF, 1971).

Além disso, as características seminais são afetadas por outras variáveis, seja de ordem intrínseca, destacando-se a raça, o peso e a idade; e extrínseca, como fotoperíodo, latitude, temperatura e alimentação (NUNES; CIRÍACO e SUASSUNA, 1997). Ejaculações frequentes, tipo de colheita, condicionamento, idade, tamanho testicular e higidez testicular alteram a concentração espermática podendo resultar em menor volume; quando dois ejaculados são obtidos consecutivamente, o segundo usualmente apresenta menor volume (KAYA; AKSON e TEKELI, 2002).

Em estação não reprodutiva, a qualidade seminal reduz-se drasticamente, principalmente quando os ejaculados são utilizados para criopreservação na forma resfriada, apresentando fertilidade de aproximadamente 30%. Em amostras colhidas na estação reprodutiva e congeladas, sua fertilidade incrementa-se para, aproximadamente, 68% (ALEU, 1992). Existindo uma correlação entre a baixa qualidade de sêmen e os baixos índices de fertilidade, portanto não sendo apenas as fêmeas responsáveis pela baixa fertilidade que ocasionalmente, é constatada nos rebanhos caprinos (SILVA e NUNES, 1988).

2.2.2 - Avaliação seminal

A análise do sêmen é o método mais utilizado para estimar o potencial de fertilidade de um macho (CAVALCANTE, 2003), sendo este um requisito imprescindível para sua classificação como reprodutor ou doador de sêmen (BORQUE; VÁSQUEZ; SAGÜEZ, 1993).

Segundo CORTEEL (1981), a percentagem de espermatozoides móveis (PEM) e a motilidade individual progressiva (MIP) são os parâmetros mais comumente utilizados para mensurar a qualidade do sêmen.

Segundo Fonseca *et al.* (1991), os ejaculados devem ser analisados macroscopicamente quanto ao: volume (mL), aspecto (cremoso, leitoso, opalescente, seroso ou aquoso), cor (normalmente amarelada) e microscopicamente quanto ao: turbilhonamento ou massal (0-5), motilidade espermática (%), vigor espermático (0-5), concentração espermática (sptz/mL), morfologia, provas de integridade de membrana e teste de termorresistência.

O objetivo da avaliação seminal é conhecer o número de células estrutural e funcionalmente normais relacionando com a capacidade fecundante do sêmen (PEÑA, 1997). Entretanto, nenhum teste, isoladamente, é capaz de prever a fertilidade de um ejaculado, mas a combinação de vários testes pode ser utilizada para selecionar ejaculados com maior potencial de fertilidade (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Deste modo, têm-se buscado identificar animais capazes de produzir ejaculados com um maior número de espermatozoides morfolologicamente normais, dotados de motilidade progressiva e aptos a executarem a fertilização (GARCIA, 2006).

Os critérios de avaliação para sêmen caprino seguem os padrões estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 1998), onde o sêmen fresco deve apresentar no mínimo motilidade da ordem de 70% (0-100%), vigor 3 (0-5) e 70% de espermatozoides com morfologia normal.

Para caprinos, o volume do ejaculado varia de 0,2 a 2,0 mL tendo como média 0,8 mL (HAFEZ e HAFEZ, 2004; MIES FILHO, 1987), a concentração espermática varia de 1 a 5 x 10⁹ espermatozoides/mL, sendo a média de 3 x 10⁹ (MIES FILHO, 1987). Já Hafez e Hafez (2004) afirmaram que a concentração espermática varia entre 2 a 6 x 10⁹ espermatozoides/mL. Em caprinos esse parâmetro parece ser uma característica individual influenciada pelo período do ano (CATUNDA *et al.*, 2011).

As porcentagens de espermatozoides vivos e normais são consideradas importantes indicadores da função testicular, sendo o número total de espermatozoides normais a melhor forma de avaliar-se o efeito da época do ano na viabilidade espermática (VIEIRA *et al.*, 2008). Para Tuli e Holtz (1992), algumas variações nas anormalidades morfológicas dos espermatozoides de 5-8% são encontradas durante a estação reprodutiva e de 10-18% na estação não reprodutiva, em região de clima temperado. Silva e Nunes (1988) observaram maior ocorrência de patologias espermáticas, no sêmen caprino, durante a época seca, e em bodes com bolsa escrotal sem bipartição.

A descrição da morfologia espermática tem se tornado parte integrante da rotina da análise de sêmen. A razão disso é que essa informação é um importante indicador de fertilidade, expressando danos espermáticos causados por agentes físicos e químicos (MATOS *et al.*, 2008). A integridade dos espermatozoides, em especial das membranas é um dos aspectos essenciais para a manutenção da habilidade fertilizante do gameta masculino e por isso, a análise desse parâmetro é considerada fundamental para a predição da fertilidade do reprodutor (LUZ; NEVES e GONÇALVES, 2000).

A morfologia espermática pode ser avaliada por meio de esfregaços corados com fucsina-eosina, eosina-nigrosina, vermelho congo ou rosa bengala; ou, ainda, através de preparação úmida, avaliada em microscópio de fase (HENRY e NEVES, 1998).

As alterações morfológicas são classificadas em defeitos maiores e menores. Os defeitos maiores incluem as lesões marcantes de cabeça, peça intermediária, gota citoplasmática proximal entre outros enquanto que os defeitos menores incluem aqueles de menor impacto sobre a fertilidade como cabeça delgada, inserção inadequada de cauda, cauda dobrada e gota citoplasmática distal (BLOOM, 1973; SILVA *et al.*, 2002).

O teste hiposmótico (HOST) é o método utilizado para avaliar a integridade funcional da membrana da célula espermática em várias espécies, incluindo a caprina (FONSECA; TORRES; SANTOS, 2001). Este teste baseia-se na capacidade do espermatozoide reagir quando exposto a soluções hiposmóticas. Nessas condições ocorre o influxo de água para o interior da célula, para que se estabeleça o equilíbrio osmótico entre os meios extra e intracelular, provocando o aumento de volume da célula e posterior dobramento da cauda (JEYENDRAN; VAN DER VER e ZANEVELD, 1992).

A motilidade e o vigor espermático são parâmetros analisados durante o teste de termorresistência (TTR), no tempo zero. O TTR é útil na avaliação seminal por simular a capacidade do sêmen em sobreviver no sistema reprodutivo da fêmea. Os espermatozoides precisam de várias horas após a ejaculação ou inseminação artificial para atingirem o local de fecundação na fêmea (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Seu poder fecundante está consequentemente, em parte ligado à sua sobrevivência no sistema genital da fêmea (MIES FILHO, 1987). Esta observação tem levado a utilização de testes de termorresistência à mesma temperatura corpórea da fêmea, *in vitro* para apreciar a sobrevivência espermática. As condições de incubação variam com a espécie e com o tipo de sêmen a testar (fresco ou congelado), mas em caprinos e ovinos, o sêmen é geralmente diluído em concentração compreendida entre 80 e 300 x 10⁶ spz/ml, e colocado em banho-maria à 37 – 38°C (CBRA,

1998). A percentagem de células móveis e motilidade podem ser calculadas ao início do teste e duas a três horas após a incubação (BARIL *et al.*, 1993).

2.2.3 - Análise do sêmen auxiliada por computador (CASA)

A análise subjetiva é a técnica convencional utilizada para realizar as análises seminais, entretanto, está sujeita a diferentes graus de imprecisão, devido à subjetividade da avaliação, que é baseada na observação através de microscópio óptico, sendo a determinação subjetiva da motilidade e da morfologia especialmente susceptíveis ao erro humano (LLÉO, 2003). Essa análise ocasiona uma ampla variedade nos resultados, devido a numerosos fatores, como o uso de diferentes procedimentos de coloração e a experiência dos técnicos, dentre outros aspectos. Sistemas de análises computadorizadas têm substituído a avaliação de sêmen por microscopia de luz convencional, uma vez que proporcionam informações mais detalhadas e objetivas sobre várias características da motilidade e da morfometria (VERSTEGEN; IGUER-OUADA e ONCLIN, 2002).

A Análise de Sêmen Auxiliada por Computador (CASA) é definida como um sistema automatizado para visualizar, digitalizar e analisar imagens sucessivas dos espermatozoides, fornecendo informação acurada, precisa e significativa do movimento individual de cada espermatozoide (AMANN e KATZ, 2004). A automatização desta análise permite maior objetividade e rapidez, uma vez que é realizada numa fração menor do tempo requerido pela avaliação subjetiva (MORTIMER, 2000). Nas últimas décadas, diversos sistemas de CASA têm sido propostos e aplicados na tentativa de minimizar os efeitos da avaliação convencional do sêmen, além de incrementar o estudo da andrologia humana e das espécies de animais domésticos (VERSTEGEN; IGUER-OUADA e ONCLIN, 2002).

Vários sistemas de CASA comerciais, como *Hamilton Thorn* (*Hamilton Thorn Research*, Bervely, USA); *IMAGESP*[®] (*Vimas IMAGESP*[®], Barcelona, Espanha); *Hobson Sperm Tracker* (*Hobson Tracking Systems Ltda.*, Sheffield, Inglaterra) e *Sperm Class Analyzer*[®] (*SCA*[®], Microptic SL, Barcelona, Espanha), baseados predominantemente na avaliação individual do espermatozoide, foram validados para uso em espécies domésticas, incluindo os caprinos (MORTIMER, 2000).

Atualmente, esses sistemas estão sendo utilizados, principalmente nos centros andrológicos de reprodução assistida, demonstrando ser uma ferramenta eficiente, precisa e real na avaliação objetiva da fertilidade, por permitir a obtenção de medidas individuais de movimento, contribuindo assim, na melhoria das tecnologias da reprodução, bem como no

desenvolvimento de estudos fisiológicos (VERSTEGEN; IGUER-OUADA e ONCLIN, 2002).

2.3. Características hormonais

2.3.1 - Testosterona

A testosterona é entre outras funções, responsável pela espermatogênese e comportamento sexual; assim, com a ocorrência da estacionalidade, o padrão de secreção de testosterona pode limitar a eficiência reprodutiva do macho durante alguns períodos do ano (TODINI *et al.*, 2007). Suas funções periféricas incluem o desenvolvimento e manutenção da libido, a atividade secretora dos órgãos acessórios e as características sexuais secundárias dos machos, como a musculatura mais desenvolvida e o padrão de crescimento dos pêlos. Algumas mudanças comportamentais tais como a agressividade, posição social frente à disputa por alimentos, marcação do território e masturbação, são influenciadas pela testosterona (MATSUOKA *et al.*, 2006).

Os modelos secretórios de testosterona em carneiros diferem durante as estações reprodutiva e não-reprodutiva, e a atividade de monta está associada com frequência aumentada dos picos deste hormônio (STELMASIAK, 1979), cuja liberação varia em função do momento do dia. Segundo Darbeida e Brudieux (1980), a secreção ocorre em pulsos.

Na latitude 36° 43'N, Khammar; Amirat e Darbeida (1996) constataram que a taxa de produção de testosterona pelos testículos ovinos exibiu marcante variação anual, sendo mínima no outono e no início do inverno, aumentando posteriormente, atingindo o máximo ao início do verão. Contrariamente à maioria dos resultados, Bielli *et al.* (1996), em latitude 32° SL, não encontraram diferenças significativas do mês sobre a concentração de testosterona plasmática em animais Corriedale. Na latitude 22° 53'S, com carneiros Ideal, Bicudo (1999) verificou concentrações plasmáticas de testosterona mais baixas nos meses de maio, agosto e setembro. Ao avaliar as estações separadamente, o autor observou níveis mais baixos deste hormônio no inverno.

Segundo Roselli *et al.* (2002), as variações na testosterona podem resultar mais nas diferenças da receptividade funcional do testículo ao LH, do que na sensibilidade do eixo Hipotalâmico-hipofisário, assim como, no metabolismo periférico deste hormônio (SOUZA *et al.*, 2006). Aproximadamente, 95% da testosterona circulante no sangue têm origem testicular, o restante é liberado pela produção adrenal com a conversão periférica de androstenediona (DADOUNE e DEMOULIN, 1993). Por outro lado, Eloy *et al.* (2007) verificaram que em bodes da raça Moxotó, a amplitude e a frequência dos picos de

testosterona entre os turnos do dia e, observaram um aumento entre 04:00 e 15:20 h, e início do declínio às 16:00 h, com os valores basais observados entre 16:00 e 03:20 h. Portanto, um específico ritmo diário foi observado, sugerindo uma relação do eixo Hipotálamo/hipófise/gônadas com o ambiente externo na região semi-árida do Nordeste brasileiro.

2.3.2 - Secreção da Testosterona

De acordo com Fuentes; Fuentes e Garcia (1998), a secreção de testosterona é estimulada por gonadotrofinas hipofisárias, liberadas pelo GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotrofina), através de estímulo primário do hipotálamo através do sistema Porta-hipotalâmico-hipofisário, e estimula liberação das gonadotrofinas, FSH e LH. O FSH desencadeia a produção de uma proteína fixadora de andrógeno denominada *Androgen Binding Protein* (ABP) pelas células de Sertoli. Essa proteína, secretada dentro da luz do túbulo seminífero, ajuda a manter um alto nível de andrógenos dentro do referido túbulo (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Testosterona e FSH agem através das células dos túbulos seminíferos para estimular a espermatogênese. Altas concentrações de testosterona em fluidos que envolvem os túbulos seminíferos são aparentemente essenciais para uma espermatogênese normal (BEARDEN e FUQUAY, 1992).

A principal função do LH na regulação da espermatogênese parece ser indiretamente estimulada pela liberação de testosterona pelas células de Leydig. No animal adulto, a liberação de LH comumente é seguida por uma elevação de testosterona sérica. Sugeriu-se que a concentração periférica abundante de testosterona regule a forma de secreção do LH (FORD; SCHANBACHER, 1977). A testosterona exerce um *feedback* negativo sobre o hipotálamo e hipófise anterior, possivelmente pela liberação de opióides endógenos. Portanto, altas concentrações de testosterona inibem sua liberação no nível de hipotálamo (GnRH) e hipófise (FSH e LH), enquanto baixas concentrações permitem sua liberação (BEARDEN e FUQUAY, 1992). Aumentos na secreção de LH são seguidos, dentro de 30-60 minutos, por níveis aumentados de testosterona produzida pelas células de Leydig, que se desloca para dentro do túbulo seminífero por difusão simples ou facilitada e que, que duram de uma há várias horas (AMANN e SCHANBACHER, 1983).

A espermatogênese ocorre nos testículos, de modo permanente e contínuo, a partir da puberdade, quando os níveis hormonais de FSH e LH elevam-se e ocorre o amadurecimento do eixo Hipotalâmico-hipofisário-gonádico, sob o controle fisiológico do sistema

neuroendócrino, sofrendo influência direta da termorregulação escroto-testicular (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

2.3.3 - Concentração da testosterona em caprinos

A testosterona que é produzida pelas células testiculares de Leidyg tem a sua concentração plasmática gradualmente elevada em consequência da estimulação gonadal e diferenciação dessas células, promovida pelo aumento das descargas pulsáteis de LH (PORTO *et al.*, 2009). No animal adulto, a liberação de LH comumente é seguida por uma elevação da concentração periférica de testosterona. Essa elevada concentração periférica de testosterona regula provavelmente através de opióides endógenos, a atividade do hipotálamo e hipófise anterior, modulando a secreção das gonadotrofinas e da própria testosterona (AMANN e SHANBACHER, 1983). Na maturidade sexual, a redução da concentração de LH e de testosterona é desencadeada pela própria concentração elevada deste esteróide, que, por efeito de retroalimentação em nível de hipotálamo, reduzem a secreção de GnRH e de gonadotrofinas pela hipófise e esta redução, conseqüentemente, causa menor estímulo às células de Leidyg, resultando em menor produção de testosterona (AHMAD; NOAKES; WILSON, 1996).

De acordo com Ahmad e Noakes (1995), a concentração média de testosterona em caprinos machos foi de 0,35 ng/mL na 12^a semana de idade e aumentou para 2,01 ng/mL na 20^a semana. Variações nas concentrações de testosterona estão associadas a mudanças do fotoperíodo e é responsável por diferenças estacionais na produção de espermatozoides e composição da secreção das glândulas acessórias e, conseqüentemente, pela qualidade do sêmen (BORQUE *et al.*, 1993).

Variações nas concentrações séricas de testosterona de caprinos foram observadas por Smith e Sherman (1994), em função da estação do ano, sendo consideravelmente mais elevada na estação de monta que ocorre no outono em climas temperados. Gomes; Butler e Johnson, (1971), ao pesquisarem os efeitos na concentração plasmática de testosterona, verificaram valores de 10,6 ng/mL em animais submetidos a temperatura ambiente elevada e 82,2 ng/mL em caprinos criados sob condições ambientais termoneutras.

Eloy e Rosa (1998) observaram que os níveis de testosterona estão envolvidos no desencadeamento da puberdade. Com a proximidade da puberdade, a concentração periférica de testosterona fica elevada, bem como a sua concentração nos líquidos que envolvem os túbulos seminíferos (MOURA; RODRIGUES e MARTINS FILHO, 2002). A concentração dentro dos testículos é 100 a 300 vezes maior que no plasma, sendo que essas altas

concentrações são necessárias para ocorrência da espermatogênese de maneira adequada (ELOY; ROSA, 1998).

2.3.4 - Hormônio bioidêntico

Segundo Peixoto (2012), o termo bioidêntico refere-se a uma substância tridimensional cuja estrutura molecular é exatamente idêntica à dos equivalentes produzidos pelo organismo, independentemente da fonte da qual se origina, assim pode ser natural ou sintética. Esses hormônios são compostos de certos esteróides em várias formas de dosagem, incluindo a dehidroepiandrosterona, pregnenolona, testosterona, progesterona, a estrona, estradiol e estriol (BOOTHBY; DOERING; KIPERSZTOK, 2004).

As preparações manipuladas de hormônios bioidênticos oferecem vantagens indiscutíveis quando comparadas com preparações hormonais industrializadas, como, por exemplo, concentração e composição individualizadas e uso de veículos e excipientes especiais, tal como o gel transdérmico (CIRIGLIANO, 2007).

A adoção de terapias de reposição hormonal tem sido recomendada para homens que apresentam baixa testosteronemia, com desenvolvimento de diversas preparações comerciais de testosterona (KIM et al., 2013), de modo que diversas vias de administração (oral, injetável, transdérmica, implantes) de testosterona estão disponíveis para uso clínico (ZITZMANN e NIESCHLAG, 2000). Apesar de a reposição hormonal ser uma realidade em humanos, poucos trabalhos são encontrados para uso veterinário, particularmente utilizando hormônios bioidênticos.

2.3.5 - Via de aplicação transdérmica

Na década de 50 foi introduzido um novo conceito em liberação de fármacos através da pele, apesar de um grande avanço da pesquisa científica sobre essa nova descoberta, apenas em 1979 foi aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) e disponibilizado comercialmente nos EUA, a primeira geração de medicamentos para aplicação na pele (PRAÇA, 2010). O desenvolvimento de sistemas terapêuticos transdérmicos de liberação de fármacos tem se intensificado nos últimos anos com o objetivo de superar problemas associados com as propriedades de barreira da pele, reduzindo a taxa de irritação e melhorando a liberação de fármacos de alto peso molecular, já que alguns fármacos foram desenvolvidos com sucesso, utilizando essa via, quer direcionados para uma ação local, quer para uma ação sistêmica (FLYNN, 1990).

A via de aplicação transdérmica, é aquela de administração por difusão da camada dérmica da pele para circulação sistêmica (ANVISA, 2011). A eficácia clínica de um fármaco aplicado por via tópica depende, não só das suas propriedades farmacológicas, mas também da sua disponibilidade no local de ação (LOFTSSON *et al.*, 1998).

O desenvolvimento de formulações transdérmicas é uma estratégia interessante para o transporte de diversas classes de fármacos, tanto hidrofílicos quanto lipofílicos, representando uma alternativa para superar aspectos relacionados às características farmacocinéticas e farmacodinâmicas de diversos medicamentos quando utilizados por outras vias (BADRAN *et al.*, 2009).

Apesar da natureza quase impermeável da pele, conferida especialmente pelo estrato córneo da epiderme (MOSER *et al.*, 2001), algumas substâncias são capazes de penetrá-la. Dessa forma, a pele torna-se uma potencial via de administração de fármacos, sendo o estrato córneo crucial no controle da absorção percutânea dos mesmos. O estrato córneo funciona como uma barreira protetora, prevenindo a perda transepidermal de água e mantendo um nível de hidratação adequada (MARKS, 2004).

A utilização da via transdérmica oferece vantagens em diversas circunstâncias quando comparada às outras vias de administração. Evita o metabolismo de primeira passagem hepática, comum para fármacos administrados pela via oral, que é responsável por diminuir a biodisponibilidade e degradar diversos fármacos. Além disso, alguns efeitos indesejáveis no estômago, como ocorrem com anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) administrados pela via oral, podem gerar efeitos secundários, como náuseas, dispepsia, diarreia, constipação, ulceração e sangramento na mucosa, o que não ocorre pela via transdérmica (BORTOLON *et al.*, 2008). Ademais, esta via oferece vantagem sobre a via intravenosa e intramuscular por ser indolor e não invasiva, aumentando a adesão do paciente à terapia (BADRAN *et al.*, 2009).

Nesse sentido, Zhao; Brown e Jones (2009) descreveram que fármacos de diversas classes têm sido incorporados em formas farmacêuticas para serem administrados pela via transcutânea, entre os quais a heparina, a lidocaína e muitos hormônios sexuais que têm sido incorporados em aerossóis, além da betametasona e do minoxidil, que são incorporados sob a forma de espumas.

A aplicação de testosterona por via transdérmica tem sido bastante utilizada nos últimos anos em homens com problemas de hipogonadismo, visando à reposição hormonal. Essa via de administração, neste caso, além de evitar o mecanismo de primeira passagem, imita o ritmo circadiano da secreção da testosterona, sendo que, a eficiência da absorção, dependerá do local de aplicação. Estudos demonstram que o uso do hormônio por via transdérmica

durante 14 dias em homens, proporcionou uma elevação nas concentrações séricas do mesmo, sugerindo que o uso dessa via pode ser uma forma eficaz de entrega da testosterona em homens com hipogonadismo (ZITZMANN e NIESCHLAG, 2000).

Além de serem desenvolvidos para uso humano, alguns trabalhos têm mostrado sua aplicação em âmbito veterinário. A importância específica da administração transdérmica na veterinária é o fato de poder proporcionar um meio eficaz para distribuição de drogas, diminuindo a frequência de aplicações, mantendo a dosagem necessária e, naturalmente, facilitando a medicação de espécies mais resistentes ao tratamento. A administração transdérmica, no futuro, pode oferecer um meio eficaz para permeação não apenas medicamentos e hormônios, mas também antígenos de proteínas para a geração de respostas de anticorpos (GUEST, 2006).

3. JUSTIFICATIVA

As variações da libido e da produção quanti-qualitativa do sêmen dos caprinos colocam em evidência a necessidade de um maior controle sexual desta espécie, já que estes aspectos de avaliação andrológica são acompanhados de diferentes resultados de fertilidade, o que podem estar sendo influenciados pelos níveis de testosterona.

Aliado a isso, existe o fato de não haver informações suficientes sobre o uso da via transdérmica associada a aplicação de testosterona bioidêntica em animais inaptos à reprodução. Com intuito de prolongar a utilização do sêmen de animais com histórico de bom desempenho reprodutivo por mais algum tempo, preservando-o criopreservado, buscou-se verificar a eficiência da aplicação de hormônio bioidêntico, à testosterona, por via transdérmica sobre a produção quanti-qualitativa do sêmen de reprodutores caprinos. Determinando a relação custo benefício do tratamento de animais com alterações quanti-qualitativas espermáticas de caprinos criados no Nordeste do Brasil.

4. HIPÓTESE CIENTÍFICA

A aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica vai elevar a produção quanti-qualitativa seminal e a libido de caprinos.

5. OBJETIVOS

5.1 - Objetivo Geral

Avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica, por via transdérmica escrotal em caprinos a partir da administração do hormônio bioidêntico.

5.2 - Objetivos Específicos

- Determinar o nível séricos de testosterona, FSH e LH nos animais tratados com testosterona bioidêntica, antes e durante o período experimental;
- Mensurar a libido através da exposição da fêmea em estro aos animais tratados com testosterona bioidêntica, desde o cortejo até a ejaculação propriamente dita;
- Avaliar as características macro e microscópicas do sêmen, por análise visual e computadorizada do mesmo.

CAPÍTULO ÚNICO

Avaliação da libido, concentrações sérica de testosterona, FSH e LH e qualidade seminal em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica

Evaluation of libido, serum testosterone, FSH e LH and semen quality in goats treated with bioidentical testosterone transdermally

Avaliação da libido, concentrações séricas de testosterona, FSH e LH e qualidade seminal em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal em caprinos, sobre o comportamento sexual, a qualidade seminal e as concentrações séricas de testosterona, Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), para o tratamento de reprodutores inaptos a reprodução. Foram utilizados quatro machos caprinos (Saanen=3 e Anglo Nubiano=1), apresentando baixa libido e qualidade seminal, comprovados por exame andrológico. A aplicação da testosterona bioidêntica foi realizada semanalmente ao longo de dois meses, bem como mensuração da circunferência escrotal, avaliação do comportamento sexual através do teste de libido, colheitas e avaliação do sêmen fresco e conservado à 4°C por até 24h, e colheita de sangue para determinar a concentração sérica de testosterona, FSH e LH. Os níveis séricos de testosterona apresentaram diferença significativa em função do período de tratamento, entretanto, não foi observada diferença significativa para os valores de FSH e LH e de libido entre os diferentes períodos de tratamento. Os parâmetros seminais avaliados no sêmen fresco e resfriado, não foram influenciados significativamente ao longo do período experimental. Concluiu-se que a absorção da testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal foi eficiente em caprinos, para elevar as concentrações séricas deste hormônio e melhorar a libido, porém não foi suficiente para melhorar a qualidade seminal.

Palavras-chave: aplicação transdérmica, caprinos, testosterona bioidêntica.

Evaluation of libido, serum testosterone, FSH e LH and semen quality in goats treated with bioidentical testosterone transdermally

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect the scrotal transdermal application of bioidentical testosterone in goats on sexual behavior, semen quality and concentrations of testosterone, follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) for the treatment of reproductive temporarily unable to reproduction. Four male goats (Saanen=3 and Anglo Nubian =1), with low libido and semen quality (proven by breeding soundness examination) were used. The application of bioidentical testosterone was carried out weekly over two months, as well as measurement of scrotal circumference, assessment of sexual behavior by testing libido, crops and evaluation of fresh semen and stored at 4 ° C for up to 24 hours, and blood samples for determine the serum concentrations of testosterone, FSH and LH. Significant differences on serum testosterone was observed according the treatment period, however, no significant difference was found for serum FSH and LH, libido and seminal parameters assessed for fresh and cooled semen throughout the experimental period. It was concluded that the scrotal transdermal absorption of bioidentical testosterone was effective in goats, but no effects on libido and semen quality was observed.

Key words: transdermal application, goats, bioidentical testosterone.

**Avaliação da libido, concentração sérica de testosterona, FSH e LH e qualidade seminal
em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica**

**Evaluation of libido, serum testosterone, FSH e LH and semen quality in goats treated
with bioidentical testosterone transdermally**

**Autores: Talita Soares Câmara^I, José Maurício Maciel Cavalcante^{II}, Ana Gláudia
Vasconcelos Catunda^{III}, Priscila Palácio de Queiroz Farias^V, Leonardo Alves Rodrigues
Cabral^V, Maria Gorete Flores Salles^{IV}, José Ferreira Nunes^V**

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal em caprinos, sobre o comportamento sexual, a qualidade seminal e as concentrações de testosterona, Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e Hormônio Luteinizante (LH), para o tratamento de reprodutores temporariamente inaptos a reprodução. Foram utilizados quatro machos caprinos (Saanen=3 e Anglo Nubiano=1), apresentando baixa libido e qualidade seminal, comprovados por exame andrológico. A aplicação da testosterona bioidêntica foi realizada semanalmente ao longo de dois meses, bem como mensuração da circunferência escrotal, avaliação do comportamento sexual através do teste de libido, colheitas e avaliação do sêmen fresco e conservado à 4°C por até 24h, e colheita de sangue para determinar a concentração sérica de testosterona, FSH e LH. Os níveis séricos de testosterona apresentaram diferença significativa em função do período de tratamento, entretanto, não foi observada diferença significativa para os valores de FSH e LH e de libido entre os diferentes períodos de tratamento. Os parâmetros seminais avaliados no sêmen fresco e resfriado, não foram influenciados significativamente ao longo do período experimental. Concluiu-se que a absorção da testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal foi eficiente em caprinos, porém sem efeitos sobre a libido e qualidade seminal.

Palavras-chave: aplicação transdérmica, caprinos, testosterona bioidêntica.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect the scrotal transdermal application of bioidentical testosterone in goats on sexual behavior, semen quality and concentrations of testosterone, follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) for the treatment of reproductive temporarily unable to reproduction. Four male goats (Saanen=3 and Anglo Nubian =1), with low libido and semen quality (proven by breeding soundness examination) were used. The application of bioidentical testosterone was carried out weekly over two months, as well as measurement of scrotal circumference, assessment of sexual behavior by testing libido, crops and evaluation of fresh semen and stored at 4 ° C for up to 24 hours, and blood samples for determine the serum concentrations of testosterone, FSH and LH. Significant differences on serum testosterone was observed according the treatment period, however, no significant difference was found for serum FSH and LH, libido and seminal parameters assessed for fresh and cooled semen throughout the experimental period. It was concluded that the scrotal transdermal absorption of bioidentical testosterone was effective in goats, but no effects on libido and semen quality was observed.

Key words: transdermal application, goats, bioidentical testosterone.

INTRODUÇÃO

A criação de caprinos vem sendo estimulada entre os produtores rurais da região Nordeste do Brasil, pelo fato desses animais apresentarem melhor tolerância térmica e desempenho em ambientes adversos que outras espécies domésticas (SILANIKOVE, 2000). Entretanto, de modo geral, os rebanhos caprinos criados extensivamente, apresentam baixo desempenho reprodutivo, justificado pelas baixas taxas de fertilidade, oriundas de variações da libido e na qualidade seminal (NUNES, 1982).

A testosterona é essencial às funções reprodutivas dos machos, estimulando a espermatogênese, prolongando a vida epididimária de espermatozoides, mantendo as características sexuais secundárias, bem como a libido do macho, de modo que animais com baixa testosteronemia terão pouca expressão da libido (BEARDEN e FUQUAY, 1997).

A adoção de terapias de reposição hormonal tem sido recomendada para homens que apresentam baixa testosteronemia, com desenvolvimento de diversas preparações comerciais de testosterona (KIM *et al.*, 2013), de modo que diversas vias de administração de testosterona estão disponíveis para uso clínico (ZITZMANN e NIESCHLAG, 2000).

Neste sentido, a indústria farmacêutica vem realizando pesquisas visando obter condutas terapêuticas eficientes, com resultados clínicos rápidos e seguros. A eficácia da liberação transdérmica de medicamentos tem chamado a atenção, por entregar o hormônio em sua forma íntegra pela pele, evitando o metabolismo de primeira passagem hepático e mimetizar o ritmo circadiano da secreção de testosterona, objetivo este não plenamente alcançado por outras vias de administração hormonal (ZITZMANN e NIESCHLAG, 2000).

Em humanos já se estuda o uso de hormônios com estrutura molecular idêntica à dos equivalentes produzidos pelo organismo, chamados de bioidênticos, que apresentam melhor afinidade a receptores hormonais e com menores efeitos adversos quando comparados a preparações hormonais sintéticas (SIYAM e YUKSEL, 2013).

Apesar de a reposição hormonal ser uma realidade em humanos, poucos trabalhos são encontrados para uso veterinário, particularmente utilizando hormônios bioidênticos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica em caprinos na libido, qualidade seminal e nas concentrações de testosterona, FSH e LH para o tratamento de reprodutores temporariamente inaptos a reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de julho a setembro de 2012, no município de Pacatuba-CE (3°53'49,9''S e 38°34'32,5''W). Foram utilizados quatro caprinos (Saanen=3 e Anglo Nubiano =1), com idade média de 4,5 anos, criados em confinamento e alimentados com concentrado (22% proteína bruta (PB) + 3% de bicarbonato de sódio), forragem verde com 70% de capim elefante (*Penisetum purpureum* **Schum**) + 30% de leucena (*Leucaena leucocephala*), e mineralização incorporada à ração e água *ad libitum*. Estes animais apresentavam problemas de qualidade seminal e libido comprovados por exame andrológico, mas com histórico prévio de bom desempenho reprodutivo.

Uma vez por semana, a circunferência escrotal (CE) dos animais era aferida com fita métrica própria, posteriormente realizava-se a avaliação da libido cronometrando-se o tempo de monta (TM), definido como o tempo desde a liberação do bode para monta até ejaculação (FREITAS e NUNES, 1992).

O sêmen foi colhido semanalmente com uso de vagina artificial (VA) ou eletroejaculador (para animais não condicionados ao uso da VA), perfazendo nove colheitas por animal, totalizando 36 ejaculados. Em seguida, cada ejaculado foi avaliado quanto ao volume (mL), concentração (em câmara Neubauer), motilidade massal (0-5), motilidade total (0-100%), motilidade progressiva (0-100%), segundo CBRA (1998).

A aplicação da testosterona bioidêntica, (Evidence – Farmácia com manipulação, Fortaleza/CE), foi realizada diariamente, pela manhã, no escroto (após tricotomia e limpeza do local), durante 60 dias, afim de cobrir o ciclo espermato gênico da espécie caprina (BEARDEN e FUQUAY, 1997), massageando a pele levemente até absorção total do produto. A apresentação do hormônio foi na forma de creme em bisnagas de 30g (10% de testosterona, 1% de Lipo 2, 1% de Trehalose e 30g de biolipídeo de ultra absorção).

As colheitas de sangue foram realizadas antes do início das aplicações de testosterona bioidêntica (P0), e semanalmente para acompanhar as concentrações séricas de testosterona, FSH e LH. As amostras foram colhidas por venopunção da jugular, em tubos *vacutainers* de 10 mL, sem anticoagulante e centrifugados 2014G/15minutos para obtenção do soro, que foi congelado a -20°C até análise. As concentrações séricas de FSH, LH e testosterona foram quantificadas pelo método de quimioluminescência, usando um sistema automatizado Abbott Architect i 2000sr (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA), com kits ARCHITECT FSH, LH e Testosterona Reagentes.

Para o resfriamento do sêmen foi utilizado o diluente específico para sêmen caprino, Água de Coco em Pó ACP-101[®] (ACP Biotecnologia, Fortaleza-CE), conforme recomendação do fabricante, acrescido de 2,5% de gema de ovo e 50 mg/100 mL de antibiótico (gentamicina, Gentatec[®] – Agro Veterinária). O sêmen foi então resfriado à 4°C por aproximadamente 90 min. ($-0,35^{\circ}\text{C}/\text{min.}$) e conservado por até 24h. Amostras de 100 μL foram analisadas nos tempos 0, 12 e 24 horas de conservação, utilizando o *software* SCA[®] (Sperm-Class Analyzer, Microptic S.L., versão 3.2.0) para os seguintes parâmetros: motilidade total (MOT, %), motilidade progressiva (PROG, %), velocidade curvilinear (VCL, $\mu\text{m}/\text{s}$), velocidade linear (VSL, $\mu\text{m}/\text{s}$), velocidade média do percurso (VAP, $\mu\text{m}/\text{s}$), linearidade (LIN, %) e retilinearidade (STR, %).

Para análise dos dados, as colheitas semanais foram agrupadas em três períodos de três colheitas consecutivas (P1 – 1^a à 3^a semana (julho), P2 – 4^a à 6^a semana (julho-agosto) P3 – 7^a à 9^a semana (agosto-setembro)). Os níveis hormonais, bem como os parâmetros PROG, VCL, LIN, STR foram normalizados por transformação radicial, enquanto os parâmetros MOT, VSL, VAP sofreram transformação para arcoseno. Foi utilizada ANOVA pelo procedimento GLM do programa estatístico SAS (versão 8.0) para testar o efeito dos períodos sobre a CE, tempo de monta e níveis séricos de testosterona, FSH e LH e em seguida comparadas pelo

teste *t* de Student a 5% de significância, bem como para avaliar o efeito de período de coleta e tempo de conservação, que foram comparadas pelo PDIFF a 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações séricas de testosterona dos animais entre os períodos do tratamento (P0, P1, P2 e P3) estão demonstrados na figura 1. Esses valores variaram significativamente ($P < 0,05$) em função do período de tratamento, com aumento destas concentrações desde P0 até P2, com queda significativa da testosteronemia no P3. A queda das concentrações séricas de testosterona observadas em P3, quando comparados com P2, pode ser consequência da aromatização da testosterona em estradiol (SCOTT *et al.*, 1997).

A concentração sérica de testosterona em P0 foi de $3,71 \pm 2,78$ ng/mL, compatível com a testosteronemia de caprinos em estação não reprodutiva obtidas por Polat *et al.* (2001) (2,29-2,32 ng/mL), Talebi *et al.* (2009) (2,5-3,0 ng/mL), Todini *et al.* (2007) (1,55-2,04 ng/mL), indicando que os animais experimentais apresentavam baixa testosteronemia similar a de caprinos em estação não-reprodutiva. Entretanto, logo após o início da aplicação de testosterona bioidêntica, as concentrações séricas deste hormônio aumentaram, atingindo máximo em P2, demonstrando a eficiência de absorção do hormônio bioidêntico por via transdérmica escrotal.

As concentrações séricas de testosterona encontradas em P1 ($6,64 \pm 1,36$ ng/mL), P2 ($13,22 \pm 1,51$ ng/mL) e P3 ($9,59 \pm 1,59$ ng/mL) são compatíveis aos encontrados em caprinos nas estações reprodutivas por Polat *et al.* (2001) (4,60-8,86 ng/mL), Talebi *et al.* (2009) (8,1-10,1 ng/mL) e, Todini *et al.* (2007) ($6,81-8,33 \pm 0,35$ ng/mL), mostrando que a aplicação de testosterona bioidêntica elevou as concentrações séricas de testosterona para valores compatíveis para machos em condições reprodutivas. Além disso, Salles (2010), avaliando reprodutores da raça Saanen em diferentes épocas do ano, observou diferenças significativas

na testosteronemia desses animais, encontrando menor concentração na transição época chuvosa-seca ($2,81 \pm 0,64$ ng/mL), e maior na época seca ($8,99 \pm 1,26$ ng/mL), valores compatíveis com os obtidos no estudo atual.

No que se refere às concentrações séricas de FSH e LH, não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os diferentes períodos de tratamento, apresentando respectivamente, valores médios de $0,15 \pm 0,06$ e $0,05 \pm 0,03$ mUI/mL. Estes valores foram inferiores aos observados por Barkawi *et al.* (2006), com médias de $1,3 \pm 0,09$ e $1,5 \pm 0,11$, para FSH e LH, respectivamente, que pode ser devido à diferença na técnica usada para determinação hormonal (ROJANASAKUL *et al.*, 1994).

O FSH age nas células de Sertoli, produzindo as proteínas ligadoras de andrógeno (*Androgen Bind Protein* – ABP), para carrear a testosterona nos túbulos seminíferos, produzida pelas células de Leydig, sob ação do LH (BEARDEN e FUQUAY, 1997). A testosterona, quando em altas concentrações, atua na regulação dos hormônios hipotalâmicos (GnRH) e gonadotróficos por *feedback* negativo, inibindo a liberação de FSH e LH (BEARDEN e FUQUAY, 1997). É possível que a testosteronemia observada durante aplicação do hormônio bioidêntico não tenha alterado significativamente as concentrações de FSH e LH, pelo fato das concentrações séricas de testosterona do presente estudo, encontrarem-se dentro dos limites normais para caprinos. A ausência de atuação no eixo Hipotalâmico Hipofisário Gonadal, pode ser explicada pela ação da célula de Sertoli no controle da barreira hematotesticular, bloqueando a passagem de qualquer substância exógena, impedindo a ação da testosterona bioidêntica no testículo.

Embora a absorção de testosterona bioidêntica por via transdérmica tenha sido eficaz, não foi observada diferença estatística na circunferência escrotal (CE), tempo de monta (TM), bem como volume, motilidade massal (MM), motilidade total (MT), motilidade progressiva (MP) e concentração espermática (Tabela 1).

A CE obtida no período de estudo apresentou-se dentro dos padrões considerados normais para espécie caprina (NUNES, 2001), com média de $30,46 \pm 0,71$ cm, semelhante ao observado por Salles (2010) ($31,5 \pm 0,3$ cm). Entretanto, o fato da CE não ter sido alterada durante período experimental, indica que a aplicação transdérmica de testosterona bioidêntica não exerceu efeito sob esta variável. Segundo Makae *et al.* (2012), machos Boer tratados com esteroides apresentaram redução significativa ($P < 0,05$) da CE quando comparados ao grupo controle, atribuindo esta degeneração nas medidas escrotais ao *feedback* negativo induzido pelo tratamento com hormônio exógeno, indicando efeito a longo prazo do tratamento, sobre o desenvolvimento das gônadas, efeito este não observado no presente estudo possivelmente devido ao curto período de tratamento (nove semanas) em comparação às 16 semanas adotadas por Makae *et al.* (2012).

O tempo de monta (TM) foi outra variável que não apresentou diferença significativa entre os períodos avaliados, demonstrando que o aumento na testosteronemia pela aplicação do hormônio bioidêntico não resultou em melhorias na libido desses animais. A média para TM foi de $72,53 \pm 16,22$ segundos, superiores aos observados por Salles (2010) ($X = 38,2 \pm 8,4$ s), obtidos na mesma época de realização do presente estudo (transição chuvosa-seca), demonstrando a baixa libido dos animais deste experimento, mas compatíveis com os obtidos por Barkawi *et al.* (2006), para bodes da raça Zaraibi durante estação de menor atividade reprodutiva ($87,4 \pm 2,8$ s), demonstrando que além de não ter ocorrido alterações na libido dos animais experimentais, estes continuaram baixos apesar da administração da testosterona.

Embora a testosterona esteja relacionada com a libido (BEARDEN e FUQUAY, 1997), outros fatores podem influenciar sua expressão, como a genética, fatores ambientais, sociais, nutrição, etc (HAFEZ e HAFEZ, 1981). Salles (2010) observou em caprinos Saanen criados no Nordeste do Brasil (em condições semelhantes a do presente experimento), apresentaram menor libido no período seco, com elevada temperatura ambiental e maior temperatura da

superfície escrotal, ainda que neste período tenha sido registrada alta concentração sérica de testosterona nestes animais, sugerindo possível efeito do estresse térmico sobre a libido, apesar do aumento de testosterona.

Os parâmetros MM, MT, MP e concentração espermática ficaram abaixo do recomendado pelo CBRA (1998) e, junto com o volume e concentração espermática, não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) durante período de tratamento (Tabela 1), isto sugere que a aplicação do hormônio não alterou a qualidade seminal, corroborando com Makae *et al.*, (2012), que também não encontraram diferenças significativas para os parâmetros seminais em caprinos Boer tratados com testosterona intramuscular (IM), embora estes tenham permanecido dentro dos padrões normais para caprinos.

Em humanos, a administração de alta dosagem de testosterona a longo prazo pode ter efeito deletério na qualidade seminal em virtude do *feedback* negativo no eixo Hipotalâmico-hipofisário, inibindo a secreção de GnRH, FSH e LH, o que resulta no decréscimo da síntese de testosterona intratesticular, comprometendo a espermatogênese, com decréscimo na concentração espermática e prejuízo na motilidade espermática e morfologia (KIM *et al.*, 2013). Entretanto, baixa dose de testosterona exógena bem como o curto tempo de tratamento tem sido atribuído por Makae *et al.*, (2012) para ausência de efeito da administração de anabolizantes em caprinos e possivelmente explicar a não observação de efeitos da administração de testosterona bioidêntica na qualidade seminal de ejaculados caprinos do presente estudo.

Mesmo não tendo sido verificado efeito da testosterona sobre o sêmen fresco, no presente estudo, o resfriamento seminal poderia revelar possíveis efeitos deletérios sobre os espermatozoides de ejaculados que os tornam sensíveis aos danos em baixas temperaturas. Entretanto não foi observada variação significativa ($P>0,05$) para os parâmetros analisados em sistema CASA em função do período de aplicação da testosterona bioidêntica e do tempo

de conservação do sêmen a 4°C por até 24 horas (Tabela 2), indicando que o tratamento com a testosterona bioidêntica não afetou a qualidade espermática na conservação do sêmen à 4°C.

CONCLUSÕES

A eficácia de aplicação da testosterona por via transdérmica escrotal em caprinos foi evidenciada sem, contudo interferir nos parâmetros que determinam o comportamento e a eficiência reprodutiva dos bodes tratados.

Uma complementação deste estudo utilizando concentrações variadas de testosterona bioidêntica em diferentes fases de desenvolvimento fisiológico de caprinos e em diferentes tempos de aplicação; utilizando reprodutores de outras raças, que incluam a avaliação da fertilidade *in vivo* em programas de inseminação artificial são necessários.

COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética para o Uso de Animais da UECE (CEUA-UECE), com registro 12237587-4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARKAWI, A.H. et al. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. **Small Ruminant Research**, v. 66, p.209-213, 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448805003652>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.09.007
- BEARDEN, H.J. et al. **Applied animal reproduction**. New Jersey: Prentice Hall, 1997.351p.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**, Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p.
- 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**, Belo Horizonte, v.16, p.95-104, 1992.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. Barueri: Manole, 2004, p.513.

- KIM E.D. et al. The treatment of hypogonadism in men of reproductive age. **Fertility and Sterility**. v. 99, p.718-24, 2013. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028212024302>>. Acesso: 28 out. 2013. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.10.052.
- MAKAE, T. et al. The effect of exogenous anabolic steroids on growth performance, testicular and seminal characteristics of yearling Boer goat bucks. **Small Ruminant Research**, v.105, p.290-294, 2012. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448812000909>>. Acesso: 28out.2013. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.03.005
- NUNES, J.F. **Fisiologia sexual do macho caprino. (Circular Técnica, n.5)**. Sobral: EMBRAPA – CNPQ, 1982. 41p.
- NUNES, J. F. et al. **Produção e reprodução de caprinos e ovinos**. Fortaleza:LCR, 2001.160p.
- POLAT, H. et al. Annual Change of the Testosterone Hormone in Male White Goats. **Agricultural Sciences in China**. v. 10, n.2, p.310-316, 2011. Disponível em: < http://ac.els-cdn.com/S1671292711600096/1-s2.0-S1671292711600096-main.pdf?_tid=5b887236-4323-11e3-99ab-00000aabb0f01&acdnat=1383330669_a53a918a021c3204f2d79a52d76a204e>.
- Acesso: 25out.2013. doi:10.1016/S1671-2927(11)60009-6.
- ROJANASAKUL, A., et al. Chemiluminescence immunoassay versus radioimmunoassay for the measurement of reproductive hormones. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, v.45, p.141–146. 1994. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/002072929490121X>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/0020-7292(94)90121-X.
- SALLES, M. G. F. **Parâmetros fisiológicos e reprodutivos de machos caprinos Saanen criados em clima tropical**. 2010. 168 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.
- SCOTT, C.J., et al. Hypothalamic sites of action for testosterone, dihydrotestosterone and

estrogen in the regulation of luteinizing hormone secretion in male sheep. **Endocrinology**, v.138, p.3686-3694, 1997. Disponível em: <<http://endo.endojournals.org/content/138/9/3686.full>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1210/en.138.9.3686.

SILANIKOVE, N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. **Small Ruminant Research**, v.35, p.181-193, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448899000966>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/S0921-4488(99)00096-6.

SIYAM T, YUKSEL N. Beliefs about bioidentical hormone therapy: a cross-sectional survey of pharmacists. **Maturitas**. v.74, p.196-202, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378512212003763> >. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/j.maturitas.2012.11.007.

TALEBI J. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran. **Small Ruminant Research**, v.85, p.18-22, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092144880900114X>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/j.smallrumres.2009.06.017.

TODINI, L. et al. Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. **Theriogenology**, v.67, p. 627–631, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0600522X>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.023.

ZITZMANN M, NIESCHLAG E. Hormone substitution in male hypogonadism. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v.161, p. 73-88, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720799002270>>. Acesso em: 28 out. 2013. doi: 10.1016/S0303-7207(99)00227-0.

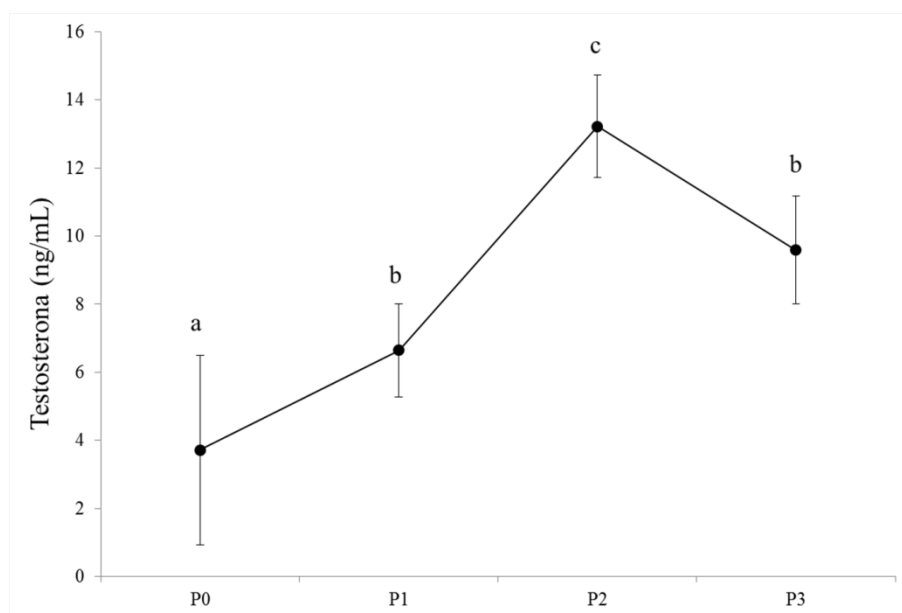


Figura 1: Níveis séricos de testosterona em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal ao longo do período de tratamento (P0, P1, P2 e P3).

P0 - pré-coleta, P1 - 1^a a 3^a semana, P2 - 4^a a 6^a semana, P3 - 7^a a 9^a semanas de experimento.

Letras distintas entre períodos diferem significativamente ($P < 0,05$).

Tabela 1: Médias $\pm$ erro padrão da CE, TM, VOL MM, MT, MP e CONC, em função do efeito do período de tratamento, em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica.

	CE	TM	VOL	MM	MT	MP	CONC
	(cm)	(s)	(mL)	(%)	(%)	(%)	(sptz/mL)
P1	30,23 $\pm$ 0,40	71,42 $\pm$ 14,68	0,86 $\pm$ 0,15	2,20 $\pm$ 0,90	60,0 $\pm$ 17,60	54,10 $\pm$ 16,83	3,85 $\pm$ 1,14
P2	30,45 $\pm$ 0,78	69,40 $\pm$ 16,89	1,35 $\pm$ 0,26	1,75 $\pm$ 0,70	68,33 $\pm$ 8,33	70,0 $\pm$ 8,16	1,94 $\pm$ 0,69
P3	30,72 $\pm$ 0,94	76,78 $\pm$ 17,11	1,50 $\pm$ 0,31	1,43 $\pm$ 0,58	48,12 $\pm$ 12,17	54,28 $\pm$ 14,45	1,10 $\pm$ 0,30

CE- circunferência escrotal, TM- tempo de monta, Vol- volume, MM – motilidade massal, MT – motilidade total, MP – motilidade progressiva, CONC – concentração espermática. P1 - 1^a a 3^a semana, P2 - 4^a a 6^a semana, P3 - 7^a a 9^a semanas de experimento.

Tabela 2: Médias $\pm$ erro padrão dos parâmetros cinéticos seminais (MOT, PROG, VCL, VSL, VAP, LIN, STR) avaliados pelo CASA em função dos efeitos do período de coleta (P1, P2 e P3) e do tempo de conservação do sêmen a 4°C (0h, 12h e 24h), de caprinos tratados com testosterona bioidêntica.

	MOT	PROG	VCL	VAP	VSL	LIN	STR
	(%)	(%)	($\mu\text{m/s}$)	($\mu\text{m/s}$)	($\mu\text{m/s}$)	(%)	(%)
P1	0h	40,6 $\pm$ 16,0	13,4 $\pm$ 5,5	64,5 $\pm$ 17,6	50,6 $\pm$ 14,8	34,9 $\pm$ 11,0	42,5 $\pm$ 10,1
	12h	30,6 $\pm$ 14,2	13,4 $\pm$ 7,1	63,3 $\pm$ 20,5	53,7 $\pm$ 19,2	39,1 $\pm$ 14,4	41,7 $\pm$ 13,1
	24h	17,8 $\pm$ 16,3	7,9 $\pm$ 6,9	46,8 $\pm$ 28,6	42,1 $\pm$ 26,2	32,8 $\pm$ 20,0	30,6 $\pm$ 17,8
P2	0h	28,4 $\pm$ 10,1	7,4 $\pm$ 2,4	50,2 $\pm$ 10,7	40,0 $\pm$ 9,6	29,2 $\pm$ 7,3	48,8 $\pm$ 9,3
	12h	21,0 $\pm$ 9,3	8,2 $\pm$ 4,3	48,8 $\pm$ 14,8	40,2 $\pm$ 13,3	30,4 $\pm$ 10,2	34,2 $\pm$ 10,4
	24h	17,9 $\pm$ 8,7	5,7 $\pm$ 3,0	44,2 $\pm$ 16,5	38,5 $\pm$ 15,2	31,8 $\pm$ 12,4	29,5 $\pm$ 10,8
P3	0h	35,5 $\pm$ 13,2	23,9 $\pm$ 10,2	80,7 $\pm$ 20,0	56,7 $\pm$ 16,5	47,56 $\pm$ 15,15	43,9 $\pm$ 8,9
	12h	29,5 $\pm$ 11,3	19,2 $\pm$ 7,8	79,0 $\pm$ 21,0	54,1 $\pm$ 15,6	45,23 $\pm$ 13,80	37,3 $\pm$ 10,4
	24h	23,7 $\pm$ 10,4	16,9 $\pm$ 7,4	73,8 $\pm$ 25,5	53,2 $\pm$ 17,5	45,97 $\pm$ 15,03	36,2 $\pm$ 11,9

MOT-motilidade total, PROG - espermatozoides progressivos, VCL - velocidade curvilínea, VAP - velocidade média do percurso, VSL - velocidade linear, LIN - linearidade, STR - retilinearidade. P1 - 1ª a 3ª semana, P2 - 4ª a 6ª semana, P3 - 7ª a 9ª semanas de experimento.

6. CONCLUSÃO

O método de aplicação da testosterona bioidêntica por via transdérmica foi eficiente para aumentar os níveis séricos de testosterona, tornando a libido aceitável, porém este aumento não foi suficiente para alterar a qualidade seminal dos caprinos, não havendo todavia alteração na qualidade seminal, no período de aplicação e nas condições de realização do experimento.

7. PERSPECTIVAS

Mais estudos precisam ser conduzidos utilizando-se outras concentrações de testosterona, realizadas em diferentes fases do desenvolvimento fisiológico, períodos de aplicação, e adoção de um grupo controle, constituído por animais de fertilidade comprovada utilizando reprodutores de outras raças, que incluam a avaliação da fertilidade “in vivo” em programas de inseminação artificial.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, N.; NOAKES, D. E. Seasonal variations in testis size, libido and plasma testosterone concentrations in British goats. *Animal Science*, v.61, p.553-559, 1995.

AHMAD, N.; NOAKES, D.E. Seasonal variations in the semen quality of young British goats. *British Veterinary Journal*, v.2, p.225-236, 1996.

AHMAD, N.; NOAKES, D.E.; WILSON, C.A. Secretory profiles of LH and testosterone in pubescent male goat kids. *Small Ruminants Research*, v.21, p 51-56, 1996.

ALEU, J. R. Variaciones estacionales de la congelabilidad del semen caprino. In: VI Jornadas Internacionales de reproducción animal y inseminación artificial, 1992, Salamanca. Libro deponencias y mesas redondas. p.235-246.

AMANN, R. P.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. *Journal of Andrology*, v.25, n.3, p.317-325, 2004.

AMANN, R.P.; SCHANBACHER, B.D. Physiology of male reproduction, *Journal of Animal Science*, Champaign, v.57 (Suppl.2), p.380-403, 1983.

ANDRIOLLI, A., GOUVEIA, A.M.G., MOURA-SOBRINHO, P.A., PINHEIRO, R.R.; SALLES, H.O. 2002. Transferência de Embriões em cabras naturalmente infectadas pelo Lentivirus caprino. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.24, p.215-220.

ANVISA. Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas. Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos, 1ª Ed/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, 2011.

ARAÚJO FILHO, J.A.; CARVALHO, F.C.; PIMENTEL, J.C.M. Estágio atual e perspectivas da ovinocultura. In: SEMANA DA CAPRINOCULTURA E DA OVINOCULTURA TROPICAL BRASILEIRA, 1. 1994, Sobral. **Anais** Sobral: Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos, p.77-100, 1994.

BADRAN, M. M.; KUNTSCHE, J.; FAHR, A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller®) in vitro: Dependency on needle size and applied formulation. *European Journal Pharmaceutical Science*. 2009; 36(4-5), 511-23.

BARBOSA, R. T.; ALENCAR, M. N.; BARBOSA, P. F. Comportamento sexual de touros das raças Canchim e Nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.15, p.151-157, 1991.

BARBOSA, O. R.; TUTIDA, L.; HUBLER, M. R. N. O; AKIMOTO, L. S.; MORAES, G. V. Influência das estações do ano nas concentrações séricas de 3,5,3'triiodotironina (T3), tiroxina (T4) e testosterona (Tes) de carneiros. *Acta Scientiarum*, v.21, n.3, p.599-605, 1999.

BARIL, G.; CHEMINEAU, P.; COGNIE, Y.; GUÉRIN, Y.; LEBOEUF, B.; ORGEUR, P.; VALLET, J.C. Manuel de formation pour l'insemination artificielle chez les ovins et les caprins. INRA. Nouzilly, 231p, 1993.

BARKAWI, A.H.; ELSAYED, E.H.; ASHOUR, G.; SHEHATA, E. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, v. 66, p.209-213, 2006.

BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J. W. *Applied animal reproduction*. New Jersey: Prentice Hall, 1997.351p.

BEARDEN, H. J.; FUQUAY, J. W. Spermatogenesis and Maturation of Spermatozoa. In: BEARDEN, H. J.; FUQUAY, J. W. *Applied animal reproduction*. New Jersey: Prentice-Hall, 1992. p.67-77.

BECKER-SILVA, S.C.; MARQUES JR., A.P.; ANDRADE, P.V.D. Sexual development in Saanen bucks from birth to 12 months old. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GOATS, 7., 2000, France. Proceedings... France: 2000. p.427-429.

BICUDO, S. D. **Estudo da estacionalidade reprodutiva em carneiros Ideal**: níveis séricos de testosterona, androstenediona, triiodotironina, tiroxina; biometria testicular; avaliação das características do sêmen e de parâmetros indicativos de adaptação ao clima. 1999. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1999.

BIELLI, A. et al. Does nutrition influence yearly variations of testicular morphology and function in uruguayan Corriedale rams. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 13., 1996, Sydney. **Proceedings**... Sydney: ISAR, 1996. v. 3, p. 11-14.

BLOCKEY, M. A. B., WILKINS, J. F. Field application of the ram service capacity test. In: Lindsay DR, Pearce DT (Ed.). *Reproduction in sheep*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1984. p.53-58.

BLOOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and proposal for a new classification of the Bull spermogram. *Nordic Veterinary Medicine*, v.25, p.383-391, 1973.

BONGSO, T.A.; JAINUDEEN, M.R.; ZAHRAH, A.S. Relationship of scrotal circumference to age, body weight and onset of spermatogenesis in goats. *Theriogenology*, v. 18, n. 5, p.513-524, 1982.

BOOTHBY, L. A.; DOERING, P. L.; KIPERSZTOK, S. Bioidentical hormone therapy: a review. *The Journal of The North American Menopause Society*. Menopause: May/June 2004 - Volume 11 - Issue 3 - pp 356-367.

BORQUE, C.; VÁSQUEZ, I.; SAGÜEZ, A. Influence of photoperiod in biochemical tracers of semen. In: ANN MEET OF THE EAAP, v.2, p.273, 1993.

BORTOLON, F. F.; SATO, M. E.; ANDREZZA, R. C. S.; BRESOLIN, T. M. B. Effect of enhancers on the in vitro percutaneous absorption of piroxicam from compounding formulations. *Revista Brasileira de Farmacologia*. 2008; 44(3):433-49.

CATUNDA, A. G. V. et al. Caracterização dos ejaculados de caprinos mestiços criados em ambiente tropical. *Revista portuguesa de ciências veterinárias*. (2011), v.110, (577-580) p. 59-67.

CAVALCANTE, T.V. Concentrações plasmáticas de testosterona e fertilidade de machos caprinos das raças Bôer e Alpina durante estações reprodutivas e não reprodutivas. Jaboticabal, 2003 Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP-Jaboticabal.

CIRIGLIANO, M.D., F.A.C.P. Bioidentical Hormone Therapy: A Review of the Evidence. *JOURNAL OF WOMEN'S HEALTH* Volume 16, Number 5, 2007.

CHEMINEAU, P., DAVEAU, A.; COGNÍÉ Y.; AUMONT, G.; CHESNEAU, D. Seasonal ovulatory activity exist in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a template photoperiod. *BMC Physiology*, v. 27, p.4-12, 2004.

CHEMINEAU P., 1986. Sexual behaviour and gonadal activity during the year in the tropical Creole meat goat. II. Male mating behaviour, testis diameter, ejaculates characteristics and fertility. *Reproduction Nutrition Development*, 26: 453-460.

CHENOWETH, P. J. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review *Theriogenology*, v.16, p.155-177, 1981.

CHENOWETH, P.J. Sexual behavior of the bull: A review. *Journal of Dairy Science*, v.66, p.173-179, 1983.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**, 2ª Ed., Belo Horizonte, 1998.

CORTEEL, J. M.; BARLER, G. Production de sperme chez le bouc: variation saisonnière de la quantité et de la qualité du sperme récolté selon l'âge des animaux. In: JOURNÉES DE LA RECHERCHE OVINE ET CAPRINE, 1., 1975, Paris. Journées de la Recherche ovine et caprine; espèce caprine: reproduction, sélection. Journées de la recherche ovine et caprine. Paris, 1975. v.1. p.4-17.

CORTEEL, J. M. **Collection, processing and artificial insemination of goat semen**. Nouzilly – France: INRA, 1981, 28p.

DADOUNE, J; DEMOULIN, A. Structure and functions of testis. In: THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M. C.; HUNTER, R. H. F. *Reproduction in mammals and man*. Paris: Ellipses, 1993. Cap. 13, p. 227-255.

DARBEIDA, H.; BRUDIEUX, R. Seasonal variations in plasma testosterone and dihydrotestosterone levels and in metabolic clearance rate of testosterone in rams in Algeria. *Journal of Reproduction and Fertility*. v.59, n.1, p.229-235, 1980.

DE LA VEGA, A.C.; MORALES, P.; ZIMERMAN, M.; WILD, O. Variación anual de La circunferencia escrotal em caprinos Criollos Serranos. *Archivos de Zootecnia*, v.55, n. 209, p 113-116, 2006.

DELGADILLO, J.A.; LEBOEUF, B.; CHEMINEAU, P. Abolition of seasonal variations in semen quality and maintenance of sperm fertilizing ability by photoperiodic cycles in goat bucks. *Small Ruminant Research*, v.9, p.47-59, 1992.

ELOY, A.M.X.; PINHEIRO, R.R.; PONTES, M.S. Flutuação diária dos níveis de testosterona em caprinos Moxotó. *Archives of Veterinary Science*, v.12, (supl.), Resumo 196, 2007.

ELOY, A.M.X.; ROSA, J.S., Perfis plasmáticos de testosterona durante a puberdade de machos caprinos da raça moxotó. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.33, n.10, p.1645-52, 1998.

ELWISHY, A. B.; ELSAWAF, S. A. Develoment of sexual activity in male Damascus goat. *Indian Journal Animal Sciene*, v.41, p. 350-356, 1971.

FLYNN, G. L. Topical drug absorption and topical pharmaceutical systems. In: BANKER, G. S., RHODES, C. T., eds. *Modern pharmaceutics*. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 263-325.

FONSECA, V. O.; PINEDA, N. R.; PROENÇA, R. V. Libido, capacidade de serviço e potencial reprodutivo de touros da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) em estação de monta curta, utilizando a proporção touro:vaca 1:50 e 1:80. In: CONGRESSO BRASILEIRO DAS RAÇAS ZEBUÍNAS, 2, 1996, Uberaba. **Anais...** Uberaba, 1996. p.21-22.

FONSECA, J. F.; TORRES, C.A.A.; SANTOS, A.D.F. et al. Hypoosmotic swelling test in goat spermatozoa. *Revista Brasileira de Reprodução Animal.*, v. 25, n.3, p. 436-438, 2001.

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

FORD, J.J.; SCHANBACHER, B.D. Luteinizing hormone secretion and female lordosis behavior in male pigs. *Endocrinology*, v.100, n.4, p.1033-1038, 1977.

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*, Belo Horizonte, v.16, p.95-104, 1992.

FUENTES, V.O.; FUENTES, P.; GRACIA, A. The effect of naloxone on plasma concentrations of testosterone in male goats. *Small Ruminant Research.*, v.27, p.173-6, 1998.

GARCIA, A. R. O uso das sondas fluorescentes na avaliação morfofuncional de espermatozoides bovinos. In: CONGRESSO NORTE/NORDESTE DE REPRODUÇÃO ANIMAL. 3. Belém. **Anais...** Pará: CBRA. 2006. CR-ROM.

GOMES, W.R.; BUTLER, W.R.; JOHNSON, A.D. Effect of elevated ambient temperature on testis a blood levels and in vitro biosynthesis of testosterone in the rams. *Journal Animal Science*, v.33, n.4, p.804-807, 1971.

GUEST, E. Transdermal drug delivery: A new frontier in the administration of therapeutic drugs to veterinary species. *The Veterinary Journal* 2006 (172): 200-201.

GUYTON, A.C. Funções reprodutivas e hormonais nos homens. In: **Tratado de fisiologia médica**. 8.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.780-791, 1992.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7 ed., Barueri-SP: Manole, p.513, 2004.

HENRY, M.; NEVES, J.P. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 2.ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1998. 49p.

HIBBERT, L.M.; RODRIGUES, H.D.; NOBLE, R.C. Effects of age and season on sperm abnormalities in Nubian goats. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v.15, n. 2, p.173, 1986.

IBGE (ed.). Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - PNAD de 2012. Rio de Janeiro, Ministério do Planejamento e Orçamento, 2012. 106p.

KARAGIANNIDIS, A.; VARSAKELI, S.; KARATZAS, G., 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*, 53: 1285-1293.

KAYA, A; AKSON, M.; TEKELI, T. Influence of ejaculation frequency on sperm characteristics, ionic composition and enzymatic of seminal plasma in ram. *Small Ruminant Research*, v.44, p.153-8, 2002.

KHAMMAR, F.; AMIRAT, Z.; DARBEIDA, H. et al. Annual reproductive cycles in the endocrine activity of testis and ovary in some Algerian breed of sheep and goats. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 13., 1996, Sydney. **Proceedings...** Sydney: ISAR, 1996. v. 2, p. 1-22.

KIM E.D. et al. The treatment of hypogonadism in men of reproductive age. *Fertility and Sterility*, v. 99, p.718-24, 2013.

JEYENDRAN, R. S.; VAN DER VER, H. H.; ZANEVELD, L. J.D. The hypoosmotic swelling test: an update. *Archives of Andrology*, v. 29, p. 105-116, 1992.

LLEÓ, C.A. Análisis integrado de morfología y movilidad espermática humana con el uso del "Sperm Class Analyzer". Valencia, 2003. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade de Valencia, Espanha, 2003.

LOFTSSON, T.; MÁSSON, M.; SIGURDSSON, H. H.; MAGNÚSSON, P.; GOFFIC, F. Cyclodextrins as coenhancers in dermal and transdermal drug delivery. *Pharmazie*, Berlin, v.53, p. 137-139, 1998b.

LUZ, S.L.N.; NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D. Parâmetros utilizados na avaliação do sêmen congelado ovino para inseminação laparoscópica. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.37, n.2, 2000.

MACHADO, R., FREITAS, A.R., SIMPLÍCIO, A.A., 2000. Flutuações sazonais efeitos de raça no sêmen caprino. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 27, Viçosa, Brasil, p.176.

MAKAE, T., GREYLING, J. P. C., SCHWALBACH, L. M. J., RAITO, M. B. The effect of exogenous anabolic steroids on growth performance, testicular and seminal characteristics of yearling Boer goat bucks. *Small Ruminant Research*, v.105, p.290-294, 2012.

MARKS, R. The stratum corneum barrier: the final frontier. *The journal of Nutrition*, v. 134, p. 2017S-2021S, 2004.

MARTINS, M. R.; VEIGA, F. **Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 38, n. 1, jan./mar., 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v38n1/v38n1a04.pdf>>. Acesso em: 02 jun. 2012.

MATOS, D. L.; ARAÚJO, A. A.; ROBERTO, I. G.; TONIOLLI, R.; Análise computadorizada de espermatozoides: revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.32, n.4, p.225-232, 2008.

MATSUOKA, T.; IMAI, H.; ASAKUMA, S. Changes of fructose concentrations in seminal plasma and glucose and testosterone concentrations in blood plasma in rams

over the course of a year. *Journal of Reproduction and Development*, v.52, n.6, p.805-810, 2006.

McDONALD, L.E.; PINEDA, M.H. *Veterinary endocrinology and reproduction*. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989.

MIES FILHO, A. **Reprodução dos Animais**. Porto Alegre, Sulina. 6 ed. v. 1, 314 p, 1987.

MORTIMER, S. T. **CASA – Practical Aspects**. p.515-524, 2000.

MOSER, R.; KRIWET, K.; NAIK, A.; KALIA, Y.N; GUY, R.H. Passive skin penetration enhancement and its quantification *in vitro*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.52, p. 103-112, 2001.

MOURA, A. A. A.; RODRIGUES, G. C.; MARTINS FILHO, R.; Desenvolvimento ponderal e testicular, concentrações periféricas de testosterona e características de abate em touros da raça Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.2, p.934-943, 2002.

NUNES, J. F. A inseminação artificial em caprinos no nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 12, p.85-91, 1988.

NUNES, J.F. Utilização da água de coco como diluidor do sêmen de animais domésticos e do homem. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 109-112, 1998a.

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

NUNES, J. F. Fisiologia sexual do macho caprino. 1982. 41p. Sobral: EMBRAPA-CNPC (Circular Técnica, 5).

NUNES, J. F. et al. **Produção e reprodução de caprinos e ovinos**. Fortaleza: LCR, 2001.160p.

PEIXOTO, J. C. B. Hormônios Bioidênticos: a revolução terapêutica: idealização, preconceitos e realidade. *Hormônios Bioidênticos*, 2012.(tradução). Disponível em: <<http://www.bioidenticos.com/a-hormonios-bioidenticos-a-revolucao-terapeutica-idealizacao-preconceitos-e-realidade.html>>. Acesso em: 01 junho de 2012, 16:10.

PELLETIER, J.; CHEMINEAU, P.; DELGADILLO, J.A. Seasonality of sexual activity and its photoperiodic control in the adult ram and he-goat. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 11., 1988, Dublin. ProceedingsÖ Dublin, 1988. v.5. p. 211-219.

PENˆA, A. Supervivencia y Fertilidad del semen canino sometido a congelaci3n y descongelaci3n, 1997. 329 f. Tesis – Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, Espana.

PEˆNA, C.D.O.; QUEIROZ, S.A.; FRIES, L.A. Comparaçˆo entre crit3rios de seleçˆo de precocidade sexual e a associaçˆo destes com caracter3sticas de crescimento em bovinos Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, n.30, v.1, p.93-100, 2001.

PEREIRA, V.M.C.; ALENCAR, M.M.; BARBOSA, R.T. Estimativas de parˆmetros gen3ticos e de ganhos direto e indireto ˆ seleçˆo para caracter3sticas reprodutivas e de crescimento em um rebanho da raça Canchim. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.4, p.1029-1036, 2007.

PEREZ, B.; MATEOS, E. Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Verata and Malagueˆa breeds. *Small Ruminant Research*, v. 2, p.163-168, 1996.

PRAÇA, F.S.G. **Liberaçˆo e permeaçˆo de produtos transd3rmicos: um estudo metodol3gico de aparatos e de condiçˆes experimentais.** 2010. 44p. Tese. Ribeirˆo Preto, 2010.

POLAT, H. et al. Annual Change of the Testosterone Hormone in Male White Goats. *Agricultural Sciences in China*. v. 10, n.2, p.310-316, 2011.

PORTO, M.O.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; SALES, M.F.L.; COUTO, V.R.M. Fontes de energia em suplementos m3ltiplos para bezerros Nelore em creepfeeding: desempenho produtivo, consumo e digestibilidade dos nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.7, p. 1329-1339, 2009.

RIIS, P.M. Dynamic biochemistry of animal production. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, v. A-3, 1983, 501p.

ROCA, J.; MARTˆNEZ, E.; V3SQUEZ, J. M.; COY, P. Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Animal Reproduction Science*, v. 29, p.255-262, 1992.

ROJANASAKUL, A., UDOMSUBPAYAKUL, U., CHINSOMBOON, S. Chemiluminescence immunoassay versus radioimmunoassay for the measurement of reproductive hormones. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, v.45, p.141–146. 1994.

ROSELLI, C. E.; STORMSHAK, F.; STELLFLUG, J. N. Relationship of serum testosterone concentrations to mate preferences in rams. *Biology of Reproduction* v. 67, n. 1, p. 263-268, 2002.

SALLES, M. G. F. **Parâmetros fisiológicos e reprodutivos de machos caprinos Saanen criados em clima tropical**. 2010. 168 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.

SALVIANO, M. S.; SOUZA, J. A. T. Avaliação andrológica e tecnologia do sêmen caprino. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.32, n.3, p.159-167, 2008.

SAMPAIO, J.A.R. **Efeito macho interespécie: indução de estro em cabras pela presença de um macho ovino**. 2008. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.

SANTOS, A.D.F.; TORRES, C.A.A.; JEFERSON, F.F.; BORGES, A.M.; GUIMARÃES, J.D.; COSTA, E.P.; ROVAY, H. Uso de testes complementares para avaliação do congelamento do sêmen de bodes submetidos ao manejo de fotoperíodo artificial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.5, p.1934-1942, 2006.

SANTOS, E. A. et al. Características seminais, perímetro escrotal e comportamento sexual de bodes Saanen explorados em região litorânea do Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25, n.2, p.218-219, 2001.

SAUMANDE, J.; ROUGER, Y. Variations saisonnières des taux d'androgènes dans le plasma de sang périphérique chez le bouc. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Académie des Sciences*, v. 274, p. 89-92, 1984.

SCOTT, C.J., et al. Hypothalamic sites of action for testosterone, dihydrotestosterone and estrogen in the regulation of luteinizing hormone secretion in male sheep. *Endocrinology*, v.138, p.3686-3694, 1997.

SILANIKOVE, N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Ruminant Research*, Amsterdam, v.35, p.181-193, 2000.

SILVA, A.E.D.F.; UNANIAN, M.M.; CORDEIRO, C.M.T.; FREITAS, A.R. Relação da Circunferência Escrotal e Parâmetros da Qualidade do Sêmen em Touros da Raça Nelore, PO. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1157-1165, 2002.

SILVA, E.M.N.; SOUZA, B.B.; SILVA, G.A.; CEZAR, M.F.; SOUZA, W.H.; BENÍCIO, T.M.A.; FREITAS, M.M.S. Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, p.516-521, 2006.

SILVA, A.E.D.F., NUNES, J.F. Comportamento sexual do macho caprino da raça Moxotó às variações estacionais no Nordeste do Brasil. 1988, Sobral, CE, EMBRAPA-CNPC, 17P. (EMBRAPA- CNPC, Circular Técnica, 9), 1988.

SIYAM T, YUKSEL N. Beliefs about bioidentical hormone therapy: a cross-sectional survey of pharmacists. *Maturitas*. v.74, p.196-202, 2013.

SMITH, M.C.; SHERMAN, D.M. **Goat medicine**. Philadelphia, United States of America: Lea & Fediger, p. 620, 1994.

SOUZA, M.I.L.; URIBE-VELÁSQUEZ, L.F.; BICUDO, S.D.; RAMOS, A.A. Determinação dos ritmos circadianos e circanuais nas concentrações plasmáticas de testosterona e androstenediona em machos ovinos. *Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia*. Unipar, Umuarama, v.9, n.2, p. 123-127, 2006.

STELMASIAK, T. The hypothalamo-pituitary-gonadal axis and sexual behaviour in the ram. In: SYMPOSIUM ON BEHAVIOUR IN RELATION TO REPRODUCTION, MANAGEMENT AND WEANING OF FARM ANIMALS, 1979, Sydney. **Proceedings...**Sydney, 1979. p. 19-21.

TALEBI J. et al. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran. *Small Ruminant Research*, v.85, p.18-22, 2009.

TODINI, L.; MALFATTI, A.; TERZANO, G.M. Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, v.67, p.627–631, 2007.

TULI, R.K.; HOLTZ, W. The effect of season on seminal characters in Boer goat bucks in the Northern temperate zone. In: Recent advances in goat production – International Conference on Goats, 5, 1992, New Delhi: n. 1195 (Abstract).

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted sêmen analyzers in andrology research and veteribary practice. *Theriogenology*, v.57, n.1, p.149-179, 2002.

VIEIRA, J. G. H.; NAKAMURA, O. H.; FERRER, C. M.; TACHIBANA, T. T. Importância da Metodologia na Dosagem de Testosterona Sérica: Comparação entre um Imunoensaio Direto e um Método Fundamentado em Cromatografia Líquida de Alta Performance e Espectrometria de Massa em Tandem (Hplc/Ms-Ms). *Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabólica*, 2008;52/6. São Paulo, 2008.

VILAR FILHO, A.C.; BIRGEL, E.H.; BARNABE, A. Características testiculares e seminais de caprinos criados na região semi-árida do estado da Paraíba. I. Características testiculares. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.17, n.1-2, p.17-22, 1993.

ZHAO, Y.; BROWN, M.B.; JONES, S.A. Engineering novel topical foams using hydrofluroalkane emulsions stabilized with pluronic surfactants. *European Journal of Pharmaceutical Science*, v.37, n.3-4, p.370-371, 2009.

ZITZMANN M, NIESCHLAG E. Hormone substitution in male hypogonadism. *Molecular and Cellular Endocrinology*. v.161, p. 73-88, 2000.