

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),  
o texto completo desta dissertação será disponibilizado  
somente a partir de 20/09/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

**NOVOS PROTOCOLOS UTILIZANDO ASSOCIAÇÕES COM  
OCITOCINA NA INDUÇÃO FARMACOLÓGICA DA EJACULAÇÃO  
EM GARANHÕES**

Thaís Mendes Sanches Cavalero

BOTUCATU- SÃO PAULO  
Setembro/2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA ANIMAL

**NOVOS PROTOCOLOS UTILIZANDO ASSOCIAÇÕES COM  
OCITOCINA NA INDUÇÃO FARMACOLÓGICA DA EJACULAÇÃO  
EM GARANHÕES**

THAÍS MENDES SANCHES CAVALERO

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Frederico Ozanam Papa

BOTUCATU- SÃO PAULO

Setembro/2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cavalero, Thais Mendes Sanches.

Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões / Thais Mendes Sanches Cavalero. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Frederico Ozanam Papa

Capes: 50504037

1. Ejaculação - Distúrbios. 2. Imipramina. 3. Sêmen. 4. Xilazina. 5. Ocitocina. 6. Equino. 7. Sedativos.

Palavras-chave: detomidina; distúrbios ejaculatórios; imipramina; sêmen; xilazina.

Nome do autor (a): Thaís Mendes Sanches Cavaleiro

Título: NOVOS PROTOCOLOS UTILIZANDO ASSOCIAÇÕES COM OCITOCINA NA INDUÇÃO FARMACOLÓGICA DA EJACULAÇÃO EM GARANHÕES.

### **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Frederico Ozanam Papa

Presidente e Orientador

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP  
- Botucatu /SP

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabiana Ferreira de Souza

Membro

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária FMVZ - UNESP  
- Botucatu /SP

Prof. Dr. Gabriel Augusto Monteiro

Membro

Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Medicina Veterinária da UFMG, campus Pampulha - Belo Horizonte /MG

Data da Defesa: 20 de setembro de 2018.

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Tadeu e Wilma, minhas maiores fontes de orgulho, motivação e inspiração. Amo vocês.

“Enquanto houver vocês do outro lado, aqui do outro eu consigo me orientar.. “

O teatro mágico - O anjo mais velho

Ao meu querido avô, Joaquim Vieira Mendes (*in memoriam*), que sempre fez tanto por mim ao longo de sua vida. Sei que onde o senhor estiver, está olhando por nós com a sua serenidade, paciência e compressão. Sempre será lembrado como um grande exemplo de humildade, honestidade, caráter, inteligência, educação e fé. Saudade eterna.

“O valor de um homem não se dá pelas roupas ou bens que possuí, mas sim pelo caráter e beleza de seus ideais.”

Charles Chaplin

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por sempre guiar meus passos e por me agraciar com uma família tão abençoada.

Aos meus pais, meu porto seguro, por confiarem na minha capacidade, por todo o esforço e por me proporcionarem essa estrutura familiar sólida que me ofereceu todas as condições para que eu finalizasse mais uma etapa da minha vida.

A minha irmã, e aos meus primos, eternas crianças, Andréa, Vinícius e Douglas.

As minhas tias, e psicólogas particulares, Delza e Virgínia, por todo o cuidado e carinho, sempre me apoiando mesmo à distância.

Ao meu avô, Moacir Cavaleiro, por ter me levado para o sítio durante todas as minhas férias da escola, por ter me ensinado a andar a cavalo, por ter sido meu treinador nas provas dos três tambores, seis balizas e laço em dupla, por ter sido meu companheiro de cavalgadas, abertura de rodeios e provas, enfim, por ter sido tão presente na minha infância e adolescência, compartilhando comigo essa paixão pelos cavalos.

As minhas avós, Belmira e Lígia, pelo amor, carinho, preocupação e paciência. E também por todas as orações e torcidas em cada etapa da minha trajetória.

Ao meu orientador, Prof. Papa, por acreditar no meu potencial e me oferecer essa oportunidade, por me apoiar mesmo sabendo das dificuldades de desenvolver este trabalho e por me ensinar tudo o que sei sobre Andrologia Equina. Agradeço imensamente pela oportunidade de aprender e trabalhar naquilo que há alguns anos era apenas um sonho distante.

Aos meus amigos de longa data, da infância e da faculdade, por se fazerem presentes em minha vida e entenderem minha ausência.

Aos amigos que fiz em Botucatu, em especial a essa guria bagual, Rúbia, por ter me ajudado durante todas as etapas desse longo trabalho, pelas madrugadas na faculdade, pelas viagens para coleta de dados, pelo apoio, companheirismo e amizade durante esses três anos.

Aos amigos, Edjalma, meu ex colega de equipe e grande incentivador do desenvolvimento desse projeto, Laíza, pelo companheirismo em todos os

momentos, até mesmo nas madrugadas macerando comprimidos ou naquelas degustando vinhos e Priscilla, por todo o auxílio, incentivo, troca de ideias e companheirismo.

A equipe de pós-graduandos do CERAN, pela convivência diária, por toda a ajuda, troca de experiências, e também pelos momentos compartilhados durante os experimentos, organizando cursos e participando de eventos.

Aos que me acolheram em Botucatu durante meu período de estágio em 2013, e ainda hoje contribuem para meu crescimento profissional, Gabriel Monteiro e Yamê Fabres.

Ao Médico Veterinário Humberto, e a Central Equus de Reprodução Equina, por abrirem as portas da Central, confiarem em mim e permitirem a utilização dos ganhões para o desenvolvimento do meu trabalho. Agradeço também aos estagiários, residentes e funcionários da Central, pela proatividade e ajuda em tudo o que precisei.

A Camila Dell’Aqua pelo auxílio, compreensão e pelos vários encaixes nos horários das análises de citometria de fluxo.

Aos meus colegas de residência, os quais considero amigos e guardo boas lembranças, Vivi, Lucas, Zero, Gabi e Rafaela.

Aos residentes e ex residentes de 2017 e 2018 por sempre estarem dispostos a me ajudar em tudo o que precisei durante o desenvolvimento deste experimento.

As funcionárias, Dona Raquel e Lurdinha, por serem compreensivas e não me expulsarem do CERAN às quintas-feiras durante a limpeza do laboratório, por todas as brincadeiras e conversas, pelo carinho e pela compreensão.

Aos funcionários Edilson, Edvaldo, Felipe e Evandro, pelo auxílio durante o desenvolvimento do experimento.

Ao Billy, por ser meu fiel companheiro em Botucatu, tornando minha casa mais “peluda”, meus dias mais barulhentos e minhas noites mais alegres.

A Universidade Federal de Uberlândia, instituição onde me graduei, por ter me aberto as portas e realizado meu sonho de ser Médica Veterinária. Agradeço também ao Prof. Robson Antunes, meu orientador de TCC e



iniciação científica, por ter me apresentado ao ambiente acadêmico e a pesquisa científica.

À UNESP, em especial ao Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária e a todos os professores por terem contribuído com o meu crescimento profissional e pessoal, pela troca de experiências e convivência diária.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro concedidos para a realização desse projeto de pesquisa.

“A educação é o que sobra depois que nos esquecemos do que aprendemos na escola.”

Albert Einstein

## Lista de Tabelas

## Capítulo 2

Table 01. Settings for stallion semen analyses .....	69
Table 02. Summary of pharmacological induced ex copula protocols and ejaculation rates of 12 sexually mature stallions in 2 trials of each stallion in each protocol.....	71
Table 03. Mean values and standard deviation of seminal characteristics of base line in copula and pharmacologically-induced ex copula ejaculates of 9 stallions. Values were calculated from the mean of 2 ejaculates from each stallion (except 3 stallions that had only 1 induced ejaculate).....	72

## Lista de Figuras

### Capítulo 1

FIGURA 1 - Corte transversal do corpo do pênis. a) artéria dorsal do pênis, b) veia dorsal do pênis, c) nervo dorsal do pênis, d) túnica albugínea, e) corpo cavernoso do pênis, f) trabéculas, g) uretra, h) músculo bulboesponjoso, i) músculo retrator do pênis, j) corpo esponjoso do pênis. (arquivo pessoal) ..... 22

FIGURA 2 - Corte lateral de pênis e prepúcio. a) plexo venoso dorsal, b) corpo cavernoso do pênis, c) uretra, d) corpo esponjoso do pênis, e) prega prepucial, f) orifício prepucial, g) processo uretral, h) fossa da glândula, i) sinus uretral, j) coroa da glândula, l) parede abdominal. (arquivo pessoal) ..... 22

FIGURA 3 - O aumento do fotoperíodo diminui a melatonina circulante, reduzindo o feed back negativo ao hipotálamo, que aumenta a produção e liberação de GnRH. Este hormônio atua na adenohipófise estimulando a liberação dos hormônios FSH e LH. O FSH atua nas células de Sertoli induzindo a síntese de inibina, ativina, fatores de crescimento, ABP's e estrógenos. Já o LH atua diretamente nas células de Leydig estimulando a esteroidogênese bem como fatores de crescimento. (arquivo pessoal)..... 25

FIGURA 4 - Inervação do sistema nervoso autônomo simpático (SNAS) liberando a Noradrenalina (NA) que interage com os receptores adrenérgicos alfa 1 e induzem a ativação da Proteína Gq que, por meio de sua subunidade alfa, estimula a hidrólise de PIP2, pela proteína Fosfolipase C, em IP3 e DAG. Os IP3 e DAG se difundem pelo citoplasma celular e induzem o influxo de cálcio do retículo endoplasmático (RE) para o citoplasma, que leva a contrações da musculatura lisa. (arquivo pessoal) ..... 32

FIGURA 5 - As principais causas de não ejaculação são por desconforto e dor durante ao efetuar a monta, obstruções em região de colículos seminais ou ducto deferente, azoospermia e ejaculação retrógrada. O diagnóstico diferencial entre causas obstrutivas e azoospermia é realizado pela dosagem da enzima fosfatase alcalina associada ultrassonografia transretal das

glândulas sexuais anexas. Já o diagnóstico de dor ou instabilidade durante a monta requer uma avaliação clínica minuciosa geralmente associada a exames complementares. A ejaculação retrógrada é diagnóstica por sondagem vesical para recuperação da urina e avaliação da presença de espermatozoides. (arquivo pessoal)..... 38

FIGURA 6 - Coleta de sêmen por meio de indução farmacológica da ejaculação. A) Utilização de copo coletor acoplado a mucosa plástica. B) Utilização de suspensório com mucosa plástica posicionada ao redor do prepúcio e amarrada ao flanco por dois cordões laterais e um cordão transpassado entre os membros pélvicos. (arquivo pessoal) ..... 42

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 .....	19
Introdução e Justificativa .....	19
Revisão de Literatura .....	21
1. Anatomia funcional do aparelho reprodutor de garanhões.....	21
2. Neuroendocrinologia da reprodução .....	24
3. Mecanismos neurofisiológicos de ereção e ejaculação .....	27
3.1. Comportamento sexual normal de garanhões .....	27
3.2. Ereção e Ejaculação .....	28
4. Sistema autônomo simpático e receptores alfa adrenérgicos.....	30
5. Principais distúrbios que impedem a ejaculação .....	33
5.1. Distúrbios que impedem a cópula .....	33
5.2. Distúrbios ejaculatórios .....	34
6. Principais métodos de coleta de sêmen de garanhões .....	38
7. Indução farmacológica da ejaculação .....	41
7.1. Fármacos utilizados na indução farmacológica da ejaculação.....	42
7.1.1. Cloridrato de Imipramina .....	42
7.1.2. Agonistas alfa adrenérgicos .....	44
7.1.3. Ocitocina .....	46
7.1.4. Prostaglandina F 2 alfa .....	47
8. Protocolos de indução farmacológica da ejaculação .....	48
Referências.....	51
Objetivos.....	61
CAPÍTULO 2 .....	62
ARTIGO 1: Efeito da adição de ocitocina em protocolos de indução farmacológica da ejaculação em garanhões .....	63
Resumo .....	64
1. Introdução .....	65
2. Materiais e Métodos.....	67
Animais e Local de Pesquisa .....	67
Delineamento Experimental .....	67
Protocolos Experimentais .....	67

Coleta e processamento do sêmen .....	67
Análise da cinética espermática .....	67
Avaliação morfofuncional espermática por citometria de fluxo .....	68
Análise Estatística .....	69
Análise da Morfologia Espermática .....	69
Análise e processamento da urina .....	70
Avaliação dos efeitos colaterais .....	70
3. Resultados .....	70
3.1. Taxa de Ejaculação .....	70
3.2. Características Seminais .....	71
3.3. Avaliação por citometria de fluxo .....	72
3.4. Efeitos adversos.....	73
4. Discussão .....	73
5. Conclusão .....	78
Referências .....	79

CAVALERO, T.M.S. NOVOS PROTOCOLOS UTILIZANDO ASSOCIAÇÕES COM OCITOCINA NA INDUÇÃO FARMACOLÓGICA DA EJACULAÇÃO EM GARANHÕES. Botucatu – SP. 2018. 82p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

A indução farmacológica da ejaculação é uma alternativa utilizada para aumentar a função ejaculatória de garanhões incapazes de ejacular pelos métodos tradicionais de coleta de sêmen. No entanto, os protocolos desenvolvidos até o presente momento apresentam baixas taxas de sucesso na indução da ejaculação, alta variabilidade de doses, vias de administração e efeitos adversos. A ocitocina é um hormônio que participa ativamente no desencadeamento da ejaculação, no entanto, não existem estudos avaliando sua atuação em protocolos de indução farmacológica da ejaculação. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivos: 1) Comparar a eficiência de diferentes protocolos na indução da ejaculação; 2) Avaliar a eficiência da ocitocina quando adicionada aos protocolos; 3) Comparar os parâmetros seminais de ejaculados coletados em vagina artificial e por indução farmacológica da ejaculação. Foram avaliados os protocolos X - Xilazina (0,66/mg/kg/i.v); XO - xilazina (0,66/mg/kg/i.v) + ocitocina (20UI/i.v); IX - Imipramina (3/mg/kg/v.o) + xilazina (0,66/mg/kg/i.v); IXO - Imipramina (3/mg/kg/v.o) + xilazina (0,66/mg/kg/i.v) + ocitocina (20UI/i.v); D- detomidina (0,02/mg/kg/i.v); DO - detomidina (0,02/mg/kg/i.v) + ocitocina (20 UI/i.v); ID-Imipramina (3mg/kg/v.o) + detomidina (0,02mg/kg/i.v); IDO-Imipramina (3mg/kg/v.o) + detomidina (0,02mg/kg/i.v) + ocitocina (20 UI/i.v); IO- Imipramina (3mg/kg/v.o) + ocitocina (20 UI/i.v). Nenhum dos 4 garanhões jovens ejacularam e 9 dos 12 (75%) garanhões adultos responderam a, pelo menos, 1 protocolo. Nenhum dos garanhões que responderam aos tratamentos com xilazina respondeu aos tratamentos com detomidina. Dois garanhões responderam ao X e XO (16,6%) em todas as tentativas, 4 garanhões responderam ao IX e IXO (33,33%) em 75% das tentativas. Um garanhão respondeu ao DO (8,33%) em todas as

tentativas, enquanto 5 ganhões responderam ao IDO (41,6%) em 70% dos tentativas. A ereção ocorreu em 5 ganhões (31,25%), enquanto a masturbação ocorreu em apenas 2 ganhões (16,6%). Ereção e masturbação não foram observados nos protocolos sem a administração de imipramina (X, XO, D e DO). Os ejaculados obtidos em DO e IDO tiveram menor volume total, menor volume de gel livre e maior concentração ( $P < 0,05$ ), com um número total de espermatozoides, cinética e morfologia espermática semelhantes ( $P > 0,05$ ) aos protocolos com xilazina (X, XO, IX e IXO) e ejaculados coletados por meio de vagina artificial. As características do sêmen sugerem diminuição dos fluidos das glândulas acessórias nos protocolos DO e IDO, provavelmente devido a não pré-estimulação sexual e também pelo uso de ocitocina, que aumenta contrações em cauda do epidídimo. Assim, a ocitocina parece desempenhar um papel na indução da ejaculação quando associada à detomidina, mas nenhuma quando associada à xilazina.

**Palavras-chave:** distúrbios ejaculatórios, sêmen, imipramina, detomidina, xilazina.



CAVALERO, T.M.S. NEW PROTOCOLS USING OXYTOCIN FOR PHARMACOLOGICALLY-INDUCED EJACULATION IN STALLION. Botucatu – SP. 2018. 82p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

### ABSTRACT

The pharmacological induction of ejaculation has been an alternative used to increase ejaculatory function of stallions incapable of ejaculating by the traditional methods of semen collection. However, the protocols developed to date are available in high rate of dose variation, routes of administration, adverse effects and ejaculation rates. In general, pharmacological protocols have shown low success rates in inducing ejaculation. Thus, the aims of the study were: 1) Compare the efficiency of different protocols to induce ex copula ejaculation when detomidine and oxytocin was added to the protocols; 2) Compare seminal parameters between in copula and ex copula ejaculates; We evaluated the nine protocols to ex copula ejaculation: X - xylazine (0.66mg/kg/i.v); XO - xylazine + oxytocin (20UI/i.v); IX - imipramine (3mg/kg/v.o) + xylazine (0.66mg/kg/i.v); IXO - imipramine (3mg/kg/v.o) + xylazine (0.66 mg/kg/i.v) + oxytocin (20UI); D - detomidine (0.02mg/kg/i.v); DO - detomidine (0.02mg/kg/i.v) + oxytocin (20UI/i.v); ID - imipramine (3mg/kg/v.o) + detomidine (0.02mg/kg/i.v); IDO- imipramine (3mg/kg/v.o) + detomidine (0.02mg/kg/i.v) + oxytocin (20 UI/i.v); IO- imipramine (3mg/kg/v.o) + oxytocin (20 UI/i.v). Four young stallions (2-3 y old) and 12 sexually mature stallions (6 to 26 y old) were each submitted to 2 treatment trials conducted at 3-day intervals. Induced ejaculates were collected into a plastic bag and compared with in copula ejaculates. None of the 4 young stallions ejaculated and 9 of the 12 mature stallions responded. Stallions that responded to xylazine did not respond to detomidine treatments. Two stallions responded to X and XO while 4 mature stallions responded to IX and IXO. One stallion respond to DO while 5 stallions responded to IDO. Erection occurred in 5 stallions and no erection and masturbation were observed in protocols without imipramine. The induced ejaculates obtained in DO and IDO had significantly ( $P<0.05$ ) lower total volume, lower free-gel volume and higher concentration, with similar ( $P>0.05$ ) total number of spermatozoa, sperm kinetics and

morphology compared to in copula ejaculates and xylazine protocols. The semen characteristics suggests decreased accessory glands fluids in protocols DO and IDO, probably resulting from the use of oxytocin, which increase the epididymal tail contraction. Thus, oxytocin appears to play a role to induce ejaculation when associated with detomidine, but not when associated with xylazine.

**Key-words:** imipramine, detomidine, xylazine, semen, ejaculatory disorders.

"O sucesso não é resultado de um fator único. Ele tem a ver com o alinhamento entre quem você é e onde você escolhe estar."

Eric Barker

## **CAPÍTULO 1**

## INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Na medicina veterinária, as biotecnologias relacionadas a reprodução, como a coleta de sêmen e a inseminação artificial, são amplamente utilizadas por facilitarem o manejo reprodutivo e proporcionarem um melhor aproveitamento do garanhão. A técnica de inseminação artificial permite o uso de animais de alto valor genético em todo o território mundial, por meio do envio de sêmen criopreservado, sendo oficialmente aprovada por diversas associações de criadores de cavalos.

O método mais utilizado em garanhões para a coleta de sêmen é por meio de vagina artificial. No entanto, como esta técnica mimetiza a monta natural, diversas alterações físicas, reprodutivas e/ou comportamentais podem impedir ou dificultar este procedimento (MONTEIRO et al., 2011; AMANN, 2011).

Diversos fatores podem levar a incapacidade no ato da cobertura (impotência *coeundi*). São descritos diversos relatos de equinos machos apresentando afecções físicas associadas a impotência *coeundi*, tais como: fraturas ósseas, lesões em coluna vertebral, pododermatite asséptica difusa, fimose, parafimose e neoplasias proliferativas em pênis e prepúcio, como o carcinoma de células escamosas (EURIDES et al., 1997; FEARY et al., 2005; McKINNON et al., 2011; MENZIES-GOW, 2012; CHARCUR et al., 2014).

Desse modo, a colheita de sêmen de garanhões pelo método de indução farmacológica apresenta - se como uma ferramenta auxiliar importante para a preservação do material genético de garanhões impossibilitados de efetuar a monta (CARD et al., 1997; ROWLEY et al., 1999; McDONNEL, 2001).

A indução farmacológica da ejaculação tem por objetivo mimetizar os eventos neurofisiológicos que desencadeiam o processo de ejaculação (McDONNEL, 2001), embora estes mecanismos ainda não estão totalmente elucidados.

Estudos anteriormente desenvolvidos utilizando xilazina e associações de imipramina e xilazina apresentaram alta variabilidade de resultados, com resultados variando entre 27% e 68% de sucesso (McDONNELL; ODIAN, 1993; McDONNELL; TURNER, 1994; JONHSON et al., 1998; DUTRA, 2000).

O cloridrato de detomidina foi utilizado para induzir a ejaculação em jumentos, alcançando 20% de sucesso (MRACKOVA et al., 2013). Do mesmo modo, um relato de caso obteve sucesso na indução da ejaculação em um garanhão após a administração de detomidina (ROWLEY et al., 1999), no entanto, não existem pesquisas científicas comprovando a eficácia do uso do cloridrato de detomidina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões.

O hormônio ocitocina, assim como outros hormônios que participam do controle parácrino e autócrino da função testicular, participa ativamente no desencadeamento da ejaculação pela indução de contrações rítmicas em epidídimos e túbulos seminíferos (VIGNOZZI et al., 2008), entretanto, não existem relatos de sua utilização na indução farmacológica da ejaculação.

Devido a alta variabilidade de resultados, as baixas taxas de sucesso na indução da ejaculação pelos protocolos desenvolvidos até o presente momento e a ineficiência da técnica de eletroejaculação na espécie equina, garanhões incapazes de ejacular pelo método de coleta tradicional são retirados dos programas de reprodução, acarretando em grandes prejuízos tanto econômicos quanto genéticos para a equideocultura mundial.

A utilização de protocolos farmacológicos eficientes na indução da ejaculação seria uma alternativa importante para impedir o descarte de garanhões diagnosticados com enfermidades relacionadas a incapacidade de efetuar a monta, alterações na libido, déficit de ereção, traumas psicológicos ou distúrbios ejaculatórios, garantindo conseqüentemente a preservação do material genético desses animais.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-HADY, A. A. A., ABDELBASSET, K. M., & SOLIMAN, A. S. Comparative experimental study on two designed intravenous anaesthetic combinations in dogs. **EXCLI journal**, n. 16, p. 770, 2017.

ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Principais distúrbios reprodutivos observados em garanhões no Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 6, p. 204-209, 2009.

AMANN, R. P. Functional anatomy of the adult male. In: Mckinnon, A.O.; Voss J.L (eds): **Equine Reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 645-663, 1993.

AMANN, R. Functional Anatomy of the Adult Male. In: McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. Iowa: Wiley - Blackwell. Cap. 95. p. 867-879, 2011.

ANDERSSON, K.E. Neurophysiology/pharmacology of erection. **International Journal of impotence research**, v. 13, n. 3, p. 8, 2001.

ARAFA, M., EL TABIE, O. Medical treatment of retrograde ejaculation in diabetic patients: a hope for spontaneous pregnancy. **The journal of sexual medicine**, v. 5, n. 1, p. 194-198, 2008.

BALL, B. A. Diagnostic methods for evaluation of stallion subfertility: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 11, p. 650-665, 2008.

BACCARIN, R. Y. A. SILVA, L. C. L., BELLI, C. B., FERNANDES, W. R. ZOPPA, A. L. A survey on equine neoplasias over a 15-year period in a veterinary hospital. **Brazilian Journal of Veterinary Animal Science**, v. 48, p. 439-445, 2011.

BLANCHARD, T.L., VARNER, D.D. Stallion management. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, p. 205-218, 1992.

BRINSKO, S.P. "Retrograde ejaculation in a stallion." **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 4, p. 551-553, 2001.

CARD, C.E., MANNING, S.T. Pregnancies from imipramine and xylazine-induced ex copula ejaculation in a disabled horse. **Can. Vet, J**, v. 38, p. 171-174, 1997.

- CARY, J.A., MADILL, S., FARNSWORTH, K., HAYNA, J.T., DUOOS, L., FAHNING, M.L. A comparison of electroejaculation and epididymal sperm collection techniques in stallions. **Can Vet J.** v. 45, p. 35-41, 2004.
- CASTELO, T. S., SILVA, A. R. Eletroejaculação em mamíferos silvestres: principais fatores que afetam sua eficiência. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, n. 4, p. 208-213, 2015.
- CHACUR, M.G.M., FACHINI, B.A., YAMASAKI, L., BASSO, K., SANCHES, O.C., PESSOA, M. V. Carcinoma das células escamosas no prepúcio com invasão vertebral em equino. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1383-1388, 2014.
- CHAMBERS, J.P., LIVINGSTON, A., WATERMAN, A.E. Analgesic effects of detomidine in thoroughbred horses with chronic tendon injury. **Research in Veterinary Science.** v. 54, p. 52-56, 1993.
- CHUZEL, F., CLARK, A.M., AVALLET, O., SAEZ, J.M. Transcriptional regulation of lutropin/human choriogonadotropin receptor and three enzymes of steroidogenesis by growth factors in cultured pig Leydig cells. **European Journal of Biochemistry.** n. 239, p. 8–16, 1996.
- COLLINS, C. W., SONGSASEN, N., MONFORT, S. L., BUSH, M., WOLFE, B., JAMES, S. B., ... & PUKAZHENTHI, B. S. Seminal traits in the Przewalski's horse (*Equus ferus przewalskii*) following electroejaculation. In **Animal Reproduction Science** (Vol. 94, No. 1-4, pp. 46-49). Elsevier, 2006.
- CORBIN, J.D., SHARRON, H.F, WEBB, J.D. "Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction." **Urology**, v. 60, n.2, p. 4-11, 2002.
- CORONA, G., JANNINI, E.A., VIGNOZZI, L., RASTRELLI, G., MAGGI, M. The hormonal control of ejaculation. **Nature Reviews Urology**, v. 9, n. 9, p. 508-519, 2012.
- CLEMENT, P., GIULIANO, F. Physiology and Pharmacology of Ejaculation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 64, p. 121 - 129, 2016.
- CULLEM, L.K. Xylazine and medetomidina in small animals: these drugs should be used carefully. **Australian Veterinary Journal.** v.77, n. 11, p. 722-723,1999.
- DIAS, M. C., ARAUJO, M.S., KIEVITSBOSCH, T.,PRESTES, N. C. Penectomia em equino com carcinoma de células escamosas. **Enciclopédia Biosfera**,

**Centro Científico Conhecer**, v. 9, n. 17, p. 2018-2027, 2013.

DEAH, R.C., LUE, T.F. Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction. **The Urologic clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 379, 2005.

DeLEO, D., MAGNI, G. Sexual side effects of antidepressant drugs. **Psychosomatics**, v. 24, n. 12, p. 1076-1078, 1983.

DUTRA, F. O. **Indução da ejaculação em equinos através da utilização da imipramina e de sua associação com xilazina**. 2000. 39 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

EURIDES, D., MAZZANTI, A., GONCALVES, G.F., BELETTI, M.E., FIORAVANTE, M.C.S., SILVA, L. A.F., TRONCOSO-NETO, N.S., HARDT, G.G. Surgical correction of equine acquired phimosis. **Veterinária Notícias**, v. 3, p. 43-49, 1997.

ESTRADA, A., SAMPER, J. C., LILLICH, J. D., RATHI, R. R., BRAULT, L. S., ALBRECHT, B. B., ... & SENNE, E. M. Azoospermia associated with bilateral segmental aplasia of the ductus deferens in a stallion. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, p. 1740-1743, 2003.

FARR, C.H., ELLIS, L.C. In-vitro contractility of rat seminiferous tubules in response to prostaglandins, cyclic GMP, testosterone and 2,4'-dibromoacetophenone. **Journal of Reprod and Fertil**, v. 58, p. 37– 42, 1980.

FEARY, D. J., MOFFETT P. D., BRUEMMER, J. E., SOUTHWOOD, L., MCCUE, P., NISWENDER, K. D., DICKINSON, C., TRAUB-DARGATZ, J. Chemical ejaculation and cryopreservation of semen from a breeding stallion with paraphimosis secondary to priapism and haemorrhagic colitis. Case Report. **Equine vet. Educ**, v. 17, p. 299-304, 2005.

FILIPPI, S., LUCONI, M., GRANCHI, S., VIGNOZZI, L., BETTUZZI, S., TOZZI P., LEDDA, F., FORTI, G., MAGGI M. Estrogens, but not androgens, regulate expression and functional activity of oxytocin receptor in rabbit epididymis. **Endocrinology**, v. 143, p. 4271–80, 2002a.

FILIPPI, S., VANNELLI, G.B., GRANCHI, S., LUCONI, M., CRESCIOLI, C., MANCINA, R. Identification, localization and functional activity of oxytocin



- receptors in epididymis. **Mol Cell Endocrinol**, v.193, p. 89–100, 2002b.
- GARCIA-VILLAR, R., TOUTAIN, P.L., ALVINERIE, M., RUCKEBUSCH, Y. The pharmacokinetics of xylazine hydrochloride: an interspecific study. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 4, n. 2, p. 87-92, 1983.
- GERSTENBERG, T.C, LEVIN, R. J, WAGNER, G. Erection and ejaculation in man. Assessment of the electromyographic activity of the bulbo- cavernosus and ischiocavernosus muscles. **Br J Urol**, v. 65:p. 395– 402, 1990.
- GOLDBERG, H.L., NATHAN, L. A double-blind study of tofranil pamoate vs. tofranil hydrochloride. **Psychosomatics**, v. 13, n. 2, p. 131-134, 1972.
- GOULD, P.L. Salt selection for basic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 33, n. 1-3, p. 201-217, 1986.
- JOHNSTON, P. F., DELUCA, J. L. Chemical ejaculation of stallions after administration of oral imipramine followed by intravenous xylazine. **Proc. AAEP**, v. 43, p. 59–62, 1998.
- KASTER, S.B.R. A2-agonists in sheep: a review. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 33, n. 1, p. 79-96, 2006.
- KELLY, M.E., NEEDLE, M.A. Imipramine for aspermia after lymphadenectomy. **Urology**, v. 13, n. 4, p. 414-415, 1979.
- KREIDER, J.L., OGG, W. L., TURNER, J. W. Influence of prostaglandin F2 $\alpha$  on sperm production and seminal characteristics of the stallion. **Prostaglandins**, v. 22, n. 6, p. 903-913, 1981.
- KNYCH, H.K., STANLEY, S.D., McKEMIE, D.S., ARTHUR, R.M., KASS, P. H. Pharmacokinetic and pharmacodynamics of xylazine administered to exercised thoroughbred horses. **Drug testing and analysis**, v. 9, n. 5, p. 713-720, 2017.
- KOSINIAK K. Characteristics of the successive jets of ejaculated semen of stallions. **Journal of reproduction and fertility. Suppl**, n. 23, p. 59-61, 1975.
- LOVE, C.C. Semen collection techniques. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, n. 1, p. 111-128, 1992.
- MALPAUX, B., MIGAUD, M., TRICOIRE, H., CHEMINEAU, P. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. **Journal of Biology Rhythms**, n. 16, p. 336–347, 2001.

- McDONNELL, S.M. Reproductive behavior of the stallion. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 2, n. 3, p. 535-555, 1986.
- McDONNELL, S.M, GARCIA, M.C, KENNEY, R.M. Imipramine-induced erection, masturbation, and ejaculation in male horses. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, v. 27, p.187-191, 1987.
- McDONNELL, S.M. Masturbation in equids. **Proceedings, American Association of Equine Practitioners**, p. 35:567, 1990.
- MCDONNELL, S. M.; LOVE, C. C. Manual stimulation collection of semen from stallions: training time, sexual behavior and semen. **Theriogenology**, v. 33, n. 6, p. 1201-1210, 1990.
- McDONNELL, S.M., LOVE, C.C. Xylazine-induced ex copula ejaculation in stallions. **Theriogenology**, v. 36, p. 73–76, 1991.
- McDONNELL, S.M. Ejaculation: physiology and dysfunction. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, n. 1, p. 57-70, 1992.
- McDONNELL, S.M. Normal and abnormal sexual behavior. **Vet Clin North Am Equine Pract**, n. 8, p. 71-89, 1992.
- McDONNELL, S.M., TURNER, R.M. O. Post-thaw motility and longevity of motility of imipramine-induced ejaculates of pony stallions. **Theriogenology**, v. 42, p. 475–481, 1994.
- McDONNELL, S.M., ODIAN, M.J. Imipramine and xylazine-induced ex copula ejaculation in stallions. **Theriogenology**, v. 41, p. 1005–1010, 1994.
- McDONNELL, S.M. Libido, erection, and ejaculatory dysfunction in stallions. **Compendium on continuing education for the practicing veterinarian**, 1999.
- MCDONNELL, S.M. "Reproductive behavior of stallions and mares: comparison of free-running and domestic in-hand breeding." **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 211-219, 2000.
- McDONNELL, S.M. Oral imipramine and intravenous xylazine for pharmacologically-induced ex copula ejaculation in stallions. **Animal Reproduction Science**, v. 68 p. 153–159, 2001.
- MCDONNELL, S.M. Techniques for Extending the Breeding Career of Aging

and Disabled Stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice*, v.4, p. 269-76, 2005.

MENZIES-GOW, N. Endocrinological aspects of the pathophysiology of equine laminitis. ***Equine Veterinary Journal***, v. **44**, p. 735–737, 2012.

MIROSLAVA MRACKOVA, D. V. M; BLAHOVA, Z; MARKETA SEDLINSKA, D. V. M. The Reliability of two different protocols for pharmacologically induced ejaculation in donkeys (*Equus asinus*). ***Journal of Equine Veterinary Science***, v. 33, p. 1121–1123, 2013.

MITTAPELLY, N., RACHUMALLU, R., PANDEY, G., SHARMA, S., ARYA, A., BHATTA, R. S., & MISHRA, P. R. Investigation of salt formation between memantine and pamoic acid: Its exploitation in nanocrystalline form as long acting injection. ***European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics***, v. 101, p. 62-71, 2016.

McGRATH, J.C. The variety of vascular  $\alpha$ -adrenoceptors. ***Trends in Pharmacological Sciences***, n. 4, p. 14-18, 1983.

MONTEIRO, G.A., PAPA, F.O., ZAHN, F.S., DELLAQUA, J.A., MELO, C.M., MAZIERO, R.R.D.,GUASTI, P.N. Cryopreservation and fertility of ejaculated and epididymal stallion sperm. ***Animal reproduction science***, v. 127, n. 3, p. 197-201, 2011.

OLIVEIRA, S. N.; ARAUJO, E. A. B.; CHAVES-SILVA, L. F. M.; ANDRADE Jr, L. R. P.; DALANEZI, F. M.; PINTO, B. M.; CARNEIRO, J. A. M.; DELLAQUA Jr., J. A.; ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Eficiência de uma nova técnica de coleta de sêmen para diagnóstico e controle de piospermia em garanhões: Relato de caso. In: XVI Conferência Anual da ABRAVEQ. Águas de Lindóia. XVI. p. 284-284. 2015.

OLIVEIRA,S.N.D. (2016). Efeito da colheita fracionada sobre a cinética e viabilidade espermáticas do sêmen refrigerado e congelado de garanhões. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Campus de Botucatu, Botucatu, São Paulo.

PUPPO, V., PUPPO, G. Comprehensive review of the anatomy and physiology of male ejaculation: Premature ejaculation is not a disease. ***Clinical Anatomy***,

v, 29, p. 111-119, 2016.

REBORDÃO, M. R. Endometrial prostaglandin synthases, ovarian steroids, and oxytocin receptors in mares with oxytocin-induced luteal maintenance.

**Theriogenology**, v. 87, p. 193-204, 2017.

ROSER, J.F. Endocrine and paracrine control of sperm production in stallions.

**Animal reproduction science**, v. 68, n. 3, p. 139-151, 2001.

ROSER, J.F. Regulation of testicular function in the stallion: an intricate network of endocrine, paracrine and autocrine systems, **Animal reproduction science**, v. 107, n. 3, p. 179-196, 2008.

ROWLEY, D.D., LOCK, T.F., SHIPLEY, C.F. Fertility of detomidine HCl induced ex copula ejaculated stallion semen. **Proc. AAEP**, v. 45, p. 221–223, 1999.

SAAL, C., BECKER, A. Pharmaceutical salts: a summary on doses of salt formers from the Orange Book. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 4, p. 614-623, 2013.

SALLEE, F.R., POLLOCK, B.G. Clinical pharmacokinetics of imipramine and desipramine. **Clinical pharmacokinetics**, v. 18, n. 5, p. 346-364, 1990.

SANTOS, R. M., VASCONCELOS, J. L. M., SOUZA, A. H., MENEGHETTI, M., & FERREIRA, J. N. Efeito da aplicação de prostaglandina (PGF<sub>2a</sub>) no pós-parto imediato sobre a incidência de retenção de placenta em vacas de leite.

**Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, p. 29-34, 2002.

SERRETTI, A., CHIESA, A. (2011). Sexual side effects of pharmacological treatment of psychiatric diseases. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 89(1), 142-147.

STAHLBAUM, CATHI, C., KATHERINE, A., HOUP. The role of the flehmen response in the behavioral repertoire of the stallion. **Physiology & behavior**, v. 45, n. 6, p. 1207-1214, 1989.

SHARP, D.C., CLEAVER, B.D. Melatonin. In: MCKINNON, A.O., VOSS, J.L. (Eds.), **Equine Reproduction**. Lea & Febinger, Philadelphia, p. 100–108, 1993.

SHARPE, R.M., COOGAN, D.G., COOPER, I., Factors determining whether the direct effects of an LHRH agonist on Leydig cell function in vivo are stimulatory or inhibitory. **Mol. Cell. Endocrinol.** n. 32, p. 57–71, 1983.

SISSON, S.. Aparelho Urogenital do Equino. In: GETTY, Robert. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5.ed. Iowa: Guanabara Koogan. Cap. 20. p. 491-514, 1986.

SPINOSA, H.P.S., GORNIK, S.L. Tranquilizantes, Antidepressivos, Agonistas de  $\alpha$ - Adrenoceptores e Relaxante muscular de Ação Central. In: SPINOSA, H.P.S., GORNIK, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p, 166, 2014.

SUDOH, K., INAGAKI, O., HONDA, K. Responsiveness of smooth muscle in the lower urinary tract of rabbits to various agonists. **Gen Pharmacol**, v. 25, p. 629–31, 1997.

THACKARE, H., NICHOLSON, H.D., WHITTINGTON, K. Oxytocin—its role in male reproduction and new potential therapeutic uses. **Human Reproduction Update**, n. 12, p. 437–448, 2006.

TRAISH, A., KIM, N.N., MORELAND, R.B., GOLDSTEIN, I. Role of alpha adrenergic receptors in erectile function. **International journal of impotence research**, v. 12, n.1, p. 48, 2000.

TISCHNER, M., KOSINIAK, K., BIELANSKI, W. Analysis of the pattern of ejaculation in stallions. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 41, n. 2, p. 329-335, 1974.

TURNER, R.O., LOVE, C.C., MCDONNELL, S.M., SWEENEY, R.W., TWITCHELL, E.D., HABECKER, P.L., KENNEY, R.M. Use of imipramine hydrochloride for treatment of urospermia in a stallion with a dysfunctional bladder. **Journal-American Veterinary Medical Association**, v. 20, n. 7, p. 1602-1606, 1995.

TURNER, R.M.O., MCDONNELL, S.M. Alkaline phosphatase in stallion semen: characterization and clinical applications. **Theriogenology**, v. 60, n. 1, p. 1-10, 2003.

WAGNER, A.E., MUIR, W.W., HINCHCLIFF, K.W. Cardiovascular effects of xylazine and detomidine in horses. **American Journal Veterinary Research**, v. 52, n. 5, p. 651-657, 1991.

VIGNOZZI, L., FILIPPI, S., MORELLI, A., LUCONI, M., JANNINI, E., FORTI, G., MAGGI, M. Continuing Medical Education: Regulation of Epididymal

Contractility During Semen Emission, the First Part of the Ejaculatory Process: A Role for Estrogen (CME). **The journal of sexual medicine**, v. 5, n. 9, p. 2010-2016, 2008.

VILLANI, M., CAIROLI, F., KINDAHL, H., GALEATI, G., FAUSTINI, M., CARLUCCIO, A., VERONESI, M. C. Effects of Mating on Plasma Concentrations of Testosterone, Cortisol, Oestrone Sulphate and 15-Ketodihydro-PGF<sub>2</sub> $\alpha$  in Stallions. **Reproduction in domestic animals**, 41(6), 544-548, 2006.

VERONESI, M.C., TOSI, U., VILLANI, M., GOVONI, N., FAUSTINI, M., KINDAHL, H., MADEJ, A., CARLUCCIO, A. Oxytocin, vasopressin, prostaglandin F<sub>2a</sub>, luteinizing hormone, testosterone, estrone sulfate, and

cortisol plasma concentrations after sexual stimulation in stallions. **Theriogenology**, v. 73, p. 460–467, 2010.

WATSON, E.D.; NIKOLAKOPOULOS, E.; GILBERT, C.; GOODE, J. Oxytocin in the semen and gonads of the stallion. **Theriogenology**, v. 51, p. 855-65, 1999.

YAMAMOTO, M., HASHIMOTO, J., TAKABA, H., MIYAKE, K. Response of the isolated human seminiferous tubule to prostaglandins F<sub>1</sub> alpha, F<sub>2</sub> alpha, E<sub>1</sub> and E<sub>2</sub>. **Journal of Urology**, v. 137, p. 345–8, 1987.

YAMASHITA, K., TSUBAKISHITA, S., FUTAOK, S., UEDA, I., HAMAGUSHI, H., SENO, T., KATOH, S., IZUMISAWA, Y., KOTANI, T., MUIR, W.W. Cardiovascular effects of medetomidine, detomidine and xylazine in horses. **Journal Veterinary Medical Science**, v. 62, n. 10, p. 1025-1032, 2000.

YANG, C.C., JIANG, X. Clinical autonomic neurophysiology and the male sexual response: an overview. **The journal of sexual medicine**, v. 6, n. 3, p. 221-228, 2009.

ZHANG, X.H., FILIPPI, S., VIGNOZZI, L., MORELLI, A., MANCINA, R., LUCONI, M., MAGGI, M. Identification, localization and functional in vitro and in vivo activity of oxytocin receptor in the rat penis. **Journal of endocrinology**, v. 184, n. 3, p. 567-576, 2005.

ZHONG, H., MINNEMAN, K.P. Alpha1-adrenoceptor subtypes. **European journal of pharmacology**, v. 375, n. 3, p. 261-76, 1999.

ZIRKIN, B.R., AWONIYI, C., GRISWOLD, M.D., RUSSELL, L.D., SHARPE, R.  
Is FSH required for adult spermatogenesis? **Journal of Andrology**, n. 15, v.  
273–276, 1994.