



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP), FACULDADE DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, BOTUCATU

**EFEITO DA SEDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO XILAZIA COM DETOMIDINA E  
REVERSÃO COM IOIMBINA PARA REALIZAÇÃO DE EXAME  
ANDROLÓGICO EM EQUINOS**

CAMILA MOREIRA TRINQUE

Botucatu, São Paulo  
Junho/2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP), FACULDADE DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, BOTUCATU

**EFEITO DA SEDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO XILAZIA COM DETOMIDINA E  
REVERSÃO COM IOIMBINA PARA REALIZAÇÃO DE EXAME  
ANDROLÓGICO EM EQUINOS**

CAMILA MOREIRA TRINQUE

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. José Antônio Dell’Aqua  
Júnior

Botucatu, São Paulo

Junho de 2023

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

Trinque, Camila Moreira.

Efeito da sedação da associação xilazia com detomidina e reversão com ioimbina para realização de exame andrológico em equinos / Camila Moreira Trinque. - Botucatu, 2023

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

Orientador: José Antônio Dell'Aqua Júnior  
Capes: 50504002

1. Agonistas de Receptores Adrenérgicos alfa 2.
2. Antagonistas de Receptores Adrenérgicos alfa 2.
3. Andrologia veterinária. 4. Equino. 5. Ioimbina.

Palavras-chave: Alfa 2 - agonista; Alfa 2 - antagonista; Andrológico; Garanhões; Ioimbina.

Nome do Autor: Camila Moreira Trinque

Título: EFEITO DA SEDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO XILAZIA COM DETOMIDINA  
E REVERSÃO COM IOIMBINA PARA REALIZAÇÃO DE EXAME  
ANDROLÓGICO EM EQUINOS

### **COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. José Antônio Dell'Aqua Júnior Presidente e Orientador

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal FMVZ – UNESP, Botucatu

Dr. Eunice Oba

Membro

Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal FMVZ – UNESP, Botucatu

Dr. Márcio Teoro do Carmo

Membro

Médico Veterinário Autônomo

Data da defesa: 23 de Junho de 2023

“Avôhai é uma palavra mágica, Avôhai significa avô e pai”

Zé Ramalho.

### **Dedicatória**

Ao meu avô, Nelson Alves  
Moreira (in memoriam), o senhor  
sempre estará comigo.

## Agradecimentos

Primeiramente, a Deus por me conceder o dom da vida.

Aos meus pais, Ana Maria e Cássio Trinke, por todo amor, dedicação e amparo.

Aos valores passados e pelo ensinamento de amar e respeitar os animais. Os senhores tornaram isso possível. Amo vocês!

Meu irmão Pedro, por ser a minha melhor versão. Você me ensinou o que é o amor incondicional. Te pedi para Deus e ele enviou meu melhor amigo. Eu te amo, Pedro!!!

Aos meus avôs, meus grandes amores, Célia Lazari, por me ensinar a ter “coragem, coragem”, Dirce Trinke, Hélio Trinke, ao ensinamento de que “Deus vai te colocar onde pode te olhar”. Ser neta dos senhores é um privilégio.

Ao meu avô, Nelson Moreira, in memoriam, responsável por me fazer entender o significado da palavra “Avôhai”. O senhor, tem presença na minha vida, guardar suas lembranças, em especial seu cheiro e suas risadas, é conviver com o senhor todos os dias. Eu te amo “muuuuito” e não tem um dia que não sinta sua falta. Quantos palitos tem na sua mão?

Ao meu namorado, Lucas Canuto, obrigada por acreditar nos meus sonhos, fazendo deles os seus também. E dessa ser meu companheiro de batalha para construirmos, em conjunto, nossa vida e conseguirmos alcançar tudo que almejamos. Essa conquista é nossa. Te amo!

Á família Canuto, por todo carinho, acolhimento e torcida. Vocês são especiais. Ao meu orientador, Dr. José Antônio Dell’Aqua Júnior, pela amizade,

ensinamentos profissionais e pessoais. Obrigada por abrir as portas da pós-graduação e confiar em meu trabalho.

Aos professores Dr. Frederico Ozanam Papa e Dra. Eunice Oba, pela honra em poder acompanhá-los e serem exemplos a ser seguido.

Ao Dr. Márcio Teoro por sempre estar disposto em ajudar e dividir conhecimentos.

Á Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, Campus de Botucatu, pela oportunidade em estar convivendo com grandes profissionais.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal FMVZ – UNESP, Botucatu, Edvaldo, Felipe e Andreia pela ajuda e pelos bons momentos de convívio. Aos funcionários da pós-graduação e da biblioteca por serem sempre dispostos a ajudar.

Á CAPES, pela bolsa concedida durante todo projeto de pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Á Botupharma, pela doação de materiais para a execução do trabalho.

Á Dra. Camila de Paula Freitas Dell’Aqua, por me acolher em todos os momentos que precisei, em quesitos profissionais e pessoais, ser minha confidente e me auxiliar em minhas decisões. Obrigada por sua amizade.

Aos meus colegas de pós-graduação, em especial, Lucas Canuto, Thaís Cavalero, Raiza Rocha Pereira, Mariana Frasson, Luan Sitó, Beatriz Lippe, Giovana Camargo e Estevam, por dividirem comigo a jornada da pós-graduação, tornando-a mais divertida.

Á minha melhor amiga, Ana Beatriz Avanso, por todo apoio concedido desde o início da graduação, nossa amizade é para sempre.

A Universidade Estadual de Londrina, pela minha formação. Em especial aos professores Dr. Marcelo Marcondes Seneda, Dr. Fábio Mortti e Dra. Glaura Scantamburlo, por todo conhecimento compartilhado e pela amizade construída.

Agradeço, aos laboratórios da Universidade Estadual de Londrina, ReproA e ao de Toxicologia e Distúrbios Metabólicos da Reprodução, por me acolherem durante e a minha graduação e permitirem o convívio com excelentes profissionais, em especial Dra. Amanda Zangirolamo, graduando Andrey Ferro, Dra. Rafaela Erthal, Dra. Ana Paula Franco e Msc. Ivana Costa.

E por fim, a todos as pessoas que de alguma forma ajudaram na elaboração e desenvolvimento desse trabalho.

**LISTA DE ABREVIATURAS**

APC MEDIAN: potencial mitocondrial  
CASA: análise computadorizada de movimento espermático  
HPM: potencial de membrana mitocondrial  
HTMO: Hamilton Thorne Research  
MP: motilidade progressiva  
MT: motilidade total  
O<sub>2</sub>: concentração de ânion superóxido  
RAP: número de espermatozoides rápidos  
STABLE: estabilidade de membrana plasmática

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores desejáveis das características do ejaculado de garanhão utilizando vagina artificial. ....	37
Tabela 2.	Valores médios e erro padrão dos parâmetros macroscópios do ejaculado, volume com gel, volume sem gel, concentração/mL e concentração total. Em 15 ejaculados de 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, nos diferentes tratamentos: CONTROLE (solução fisiológica), GRUPO1 (xilazina + detomidina e após 15 minutos ioimbina) e GRUPO 2 (solução fisiológica e após 10 minutos ioimbina). ....	56
Tabela 3.	Valores médios e erro padrão dos parâmetros de cinética espermática, motilidade total, motilidade progressiva e número de espermatozoides rápidos avaliados pela análise computadorizada do movimento espermático (CASA) em 15 ejaculados de 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, nos diferentes tratamentos: CONTROLE (solução fisiológica), GRUPO1 (xilazina + detomidina e após 15 minutos ioimbina) e GRUPO 2 (solução fisiológica e após 10 minutos ioimbina).....	57
Tabela 4.	Médias $\pm$ erro padrão dos parâmetros espermáticos de estabilidade de membrana plasmática, potencial mitocondrial e geração de ânion superóxido avaliados por citometria de fluxo em 15 ejaculados de 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, nos diferentes tratamentos: CONTROLE (solução fisiológica), GRUPO1 (xilazina + detomidina e após 15 minutos ioimbina) e GRUPO 2 (solução fisiológica e após 10 minutos ioimbina).....	58

**LISTA DE FIGURAS**

- 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. (Fonte: CAVALERO, T.M.S, A. Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, p. 22. 2018.....20
- Figura2. 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 (Fonte: CAVALERO, T.M.S, A. Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, p.22. 2018.....21
- Figura 3. Reflexo de Flehmen, em garanhão, sob presença de égua em cio.....23
- Figura 4. Representação da ação dos fármacos, Xilazina+Detomidina nos receptores alfa-2-agonistas causando sedação. (Adaptado de: <https://botupharma.com/produto/reset/>)..... 30
- Figura 5. Ação da Ioimbina, alfa-2-antagonista na reversão dos efeitos de sedação. (Adaptado de: <https://botupharma.com/produto/reset/>).....33

Figura 6. Esquema do delineamento experimental, o animal era levado ao tronco, recebia o tratamento e tempo de espera. Grupo controle: 1° placebo (1mL, Solução Salina, IV), T1: 30 minutos, 2° placebo (1mL, solução salina, IV) e T2: 15 minutos. Grupo 1: 1° SEDACOMBO® (0,4mg/kg de xilazina e 0,008mg/kg de detomidina, IV), T1: 30 minutos, 2° RESET® (0,1mg/kg) e T2: 15 min. Grupo 2: 1° placebo (1mL, solução salina, IV), T1: 30 minutos, 2° RESET® (0,1mg/kg) e T2: 30 minutos. Após T2 os animais eram conduzidos para colheita de sêmen, o tempo de exposição do pênis era cronometrado, e o ejaculado obtido analisado de acordo com parâmetros macroscópicos e microscópicos....56

Figura 7. Mediana da avaliação do tempo que os 15 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, levaram para entrarem em ereção e efetuar a monta. Controle=1,4 minutos; GRUPO 1 =1,8 minutos e; GRUPO 2=1,6 minutos. Dados não paramétricos de acordo com o teste de Kolmogorov-Smirnov.....55

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
2.1. ANATOMIA APARELHO REPRODUTOR DE GARANHÕES .....	19
2.2. COMPORTAMENTO SEXUAL GARANHÕES .....	22
2.3. EREÇÃO .....	23
2.3.1. HEMODINÂMICA .....	24
2.3.2. NEUROFISIOLOGIA .....	24
2.3.3. VIA ÓXIDO NÍTRICO – GMPc .....	25
2.3.4. CONTRAÇÃO DA MUSCULATURA LISA .....	25
2.4. EJACULAÇÃO .....	26
2.5. EXAME ANDROLÓGICO .....	26
2.5.1. EXAME FÍSICO GERAL .....	27
2.5.2. EXAME DO SISTEMA REPRODUTOR EXTERNO .....	27
2.6. SEDAÇÃO ALFA 2-AGONISTA .....	28
2.6.1. CLORIDRATO DE XILAZINA .....	30
2.6.2. DETOMIDINA .....	31
2.7. EXAME DO SISTEMA REPRODUTOR INTERNO .....	32
2.8. IOIMBINA .....	33
2.9. ESPERMOGRAMA .....	34
<b>3. HIPÓTESE</b> .....	38
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	38
<b>5. REFERÊNCIAS</b> .....	39
ARTIGO .....	47
Resumo .....	47
<i>1. Introdução</i> .....	48
<i>2. Materiais e métodos</i> .....	50

2.1.	<i>Animais e local da pesquisa</i> .....	50
2.2.	<i>Delineamento experimental</i> .....	50
2.3.	<i>Avaliação comportamental</i> .....	52
2.4.	<i>Colheita e análise do sêmen</i> .....	52
2.5.	<i>Avaliação espermática</i> .....	53
2.5.1.	<i>Cinética espermática</i> .....	53
2.5.2.	<i>Citometria de fluxo</i> .....	53
2.6.	<i>Estatística</i> .....	54
2.7.	<i>Resultados</i> .....	54
3.	<i>Discussão</i> .....	58
4.	<i>Conclusão</i> .....	61
5.	<i>Referências</i> .....	62

TRINQUE, M. C. EFEITO DA SEDAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO XILAZIA COM DETOMIDINA E REVERSÃO COM IOIMBINA PARA REALIZAÇÃO DE EXAME ANDROLÓGICO EM EQUINOS. Botucatu – SP. 2023. 51p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

### RESUMO

O exame andrológico é responsável por predizer, momentaneamente, a condição reprodutiva do garanhão através de exames gerais e específicos do aparelho reprodutor e análise do ejaculado. Durante esse exame andrológico faz-se necessário a utilização de exames de inspeção, palpação, ultrassonografias, palpação transretal e em alguns casos endoscopia. No entanto, a avaliação transretal, nos garanhões por oferecer maiores riscos e dificuldades ao operador. Portanto, médicos veterinários utilizam de métodos de contenção física ou química para facilitar a realização deste procedimento. Sendo assim, os fármacos alfa-2 agonistas, são muito utilizados devido as ações sedativas, analgésicas e rápido início de ação. No entanto, a condução do animal, após o exame, só poderá ser feita posteriormente ao término dos efeitos sedativos. Nesse sentido, o uso de ioimbina pode ser feito, por ser uma substância alfa 2- antagonista. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da sedação utilizando xilazina+ detomidina e reversão com ioimbina sobre os parâmetros espermáticos em garanhões e avaliar o efeito, comportamental, da ioimbina nesses animais. Para isso, foram utilizados 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, os quais passaram por três grupos foram divididos em três grupos: CONTROLE (solução fisiológica/ solução fisiológica), GRUPO1 (SEDACOMBO®/RESET®) e GRUPO 2 (solução fisiológica/ RESET®). Os animais foram previamente estimulados com a presença de égua em cio, e conduzidos ao tronco de palpação onde foram contidos e submetidos a aplicação de 1mL de solução salina no grupo CONTROLE; 0,4mg de xilazina + 0,008mg de detomidina/kg no GRUPO 1 e solução salina no GRUPO 2. Após 30 minutos foram administrados 1 mL de solução salina para o grupo CONTROLE e 0,1 mg/kg de ioimbina, Reset®, nos grupos GRUPO 1 e GRUPO 2. A colheita de sêmen foi realizada 45 minutos após a aplicação dos fármacos e o ejaculado analisado. Foi avaliado volume; concentração espermática; cinética espermática; estabilidade de membrana, potencial de membrana mitocondrial e geração de ânion superóxido por citometria de fluxo. O GRUPO 2 apresentou maior volume seminal em relação ao CONTROLE (P<0.05), e com a retirada do gel apresentou maior valor em relação ao CONTROLE e

GRUPO 1 ( $P < 0,05$ ). O GRUPO 2 demonstrou menor concentração espermática por mL ( $P < 0,05$ ) quando comparado ao CONTROLE. A concentração total do ejaculado não diferiu entre os tratamentos. O GRUPO 1 apresentou maior estabilidade de membrana e células com alto potencial mitocondrial em relação ao GRUPO 2. Os demais parâmetros (cinética e geração de ânion superóxido) não apresentaram diferenças entre os grupos. Assim, pode-se concluir que a utilização do sedativo e seu reversor não altera a qualidade do sêmen, contudo o uso apenas do reversor pode afetar a qualidade.

**Palavras-chave:** andrológico, garanhões, alfa 2- agonista, alfa 2- antagonistas, ejaculação, ioimbina

TRINQUE, M. C. EFFECT OF THE SEDATION OF THE ASSOCIATION XILAZIA WITH DETOMIDINE AND REVERSATION WITH YOIMBINE TO PERFORM ANDROLOGICAL EXAMINATION IN EQUINES. Botucatu – SP. 2023. 51p. Dissertation (Masters) – São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu.

#### ABSTRACT

The andrological examination is responsible for predicting, momentarily, the reproductive condition of the stallion through general and specific examinations of the reproductive system and analysis of the ejaculate. During this andrological examination, inspection, palpation, ultrasound, transrectal palpation and, in some cases, endoscopy examinations are necessary. However, the transrectal evaluation, in stallions, offers greater risks and difficulties to the operator. Therefore, veterinarians use physical or chemical restraint methods to facilitate this procedure. Thus, alpha-2 agonist drugs are widely used due to their sedative, analgesic and rapid onset of action. However, driving the animal after the examination can only be done after the end of the sedative effects. In this sense, the use of yohimbine can be made, as it is an alpha 2- antagonist substance. Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of sedation using xylazine + detomidine and reversal with yohimbine on sperm parameters in stallions and to evaluate the behavioral effect of yohimbine in these animals. For this, 5 stallions, aged between 4 and 20 years, were used, which were divided into three groups: CONTROL (saline solution/saline solution), GROUP 1 (SEDACOMBO®/RESET®) and GROUP 2 (saline solution). physiological / RESET®). The animals were previously stimulated with the presence of a mare in heat, and taken to the palpation trunk where they were restrained and submitted to the application of 1mL of saline solution in the CONTROL group; 0.4mg of xylazine + 0.008mg of detomidine/kg in GROUP 1 and saline solution in GROUP 2. After 30 minutes, 1 mL of saline solution were administered to the CONTROL group and 0.1 mg/kg of yohimbine, Reset®, to the groups GROUP 1 and GROUP 2. Semen collection was performed 45 minutes after drug application and the ejaculate was analyzed. Volume was evaluated; sperm concentration; sperm kinetics; membrane stability, mitochondrial membrane potential and superoxide anion generation by flow cytometry. GROUP 2 showed a higher seminal volume in relation to the CONTROL (P<0.05), and with the removal of the gel it presented a higher value in relation to the CONTROL and GROUP 1 (P<0.05). GROUP 2 showed lower sperm concentration per

mL ( $P < 0.05$ ) when compared to CONTROL. Total ejaculate concentration did not differ between treatments. GROUP 1 showed greater membrane stability and cells with high mitochondrial potential compared to GROUP 2. The other parameters (kinetics and superoxide anion generation) did not differ between groups. Thus, it can be concluded that the use of the sedative and its reverser does not change the quality of the semen, however the use of the reverser alone can affect the quality.

Keywords: andrological, stallions, alpha 2- agonist, alpha 2- antagonists, ejaculation, yohimbine

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O exame andrológico é responsável por informar, momentaneamente, a condição reprodutiva do garanhão, através de exames dos sistemas que colaboram com a função reprodutiva normal. O animal será avaliado perante anamnese, exame físico geral e específico, averiguando a presença de patologias e distúrbios comportamentais como incapacidade de monta (impotência coeundi) e impacto negativo nos gametas (impotência generandi), as quais são características de subfertilidade ou infertilidade masculina (BARBOSA et al., 2005). A análise do ejaculado, perante aparência; volume; concentração; motilidade; morfologia também faz parte de uma das etapas do exame andrológico (JASKO, 1992).

A anatomia do sistema reprodutor, dos garanhões, é dividida em interna: glândulas sexuais acessórias e parte da uretra, externa: bolsa testicular, testículos, epidídimos, cordão espermático, pênis e prepúcio (SACK E HACKETT 2011). Contudo, durante o exame andrológico faz-se necessário a utilização de exames de inspeção, palpação, ultrassonográfico, palpação transretal e em alguns casos endoscopia (SANCLER-SILVA, 2022).

Portanto, por ser um exame que permite o acompanhamento da saúde reprodutiva do garanhão e potencialização do uso do mesmo como reprodutor, o exame andrológico deve ser incluído na rotina dos centros de reprodução (LOVE, 2007). No entanto, a avaliação transretal é uma das partes do exame andrológico da espécie equina conhecida por oferecer maiores riscos e dificuldades ao operador durante a realização dessa etapa (SANCLER-SILVA, 2022).

Os riscos oferecidos podem ser desencadeados pelas condições em que os cavalos se encontram, podendo afetar a capacidade de resposta dos animais frente a situações desafiadoras, levando a alterações comportamentais, fisiológicas e comprometimento do bem-estar (RIVERA, 2002). Dos comportamentos perigosos que o cavalo pode apresentar, podemos citar o coice, ataque, manotada e o ato de empinar (PEARSON et al., 2020).

Desse modo, há muitos anos médicos veterinários utilizam de métodos de contenção, em equinos, para facilitar a realização de procedimentos menos invasivos (LAGERWEIJ

et al., 1984). Dentre as maneiras de contenção, as mais populares são a física e química (PEARSON et al., 2020).

Na contenção física, destaca-se o uso de técnicas de contração, realizadas manualmente ou com ferramentas, aplicadas no lábio superior e/ou na orelha dos equinos (FLAKÖLL et al., 2017). Os mecanismos de ação, que provê a estabilização do animal, são divididos em três possíveis fatores: distração, dor ou diminuição da sensibilidade (LAGERWEIJ et al., 1984).

Estudo conduzido por Flaköll et al, 2017, avaliaram os dois métodos de compressão mais utilizados para a contenção física em cavalos, auricular e labial, concluindo que o primeiro é estressante, altera o comportamento e estimula o sistema nervoso simpático. Já a compressão feita no lábio, aumenta a atividade do sistema nervoso parassimpático, reduz os níveis de estresse e não tem efeito sobre o comportamento do animal, quando realizada por um período de até 5 minutos. Portanto, indicam que para períodos prolongados, a contenção química, através da anestesia, apresenta-se mais adequada.

Sendo assim, os fármacos alfa-2 agonistas, vem sendo muito utilizados na medicina veterinária equina por proporcionarem miorelaxamento (MURREL e HELLEBREKERS, 2005), ações sedativas, analgésicas e rápido início de ação (BETTSCHEART-WOLFENBERGER e LARENZA, 2007).

No entanto, a condução do animal, após o exame, só poderá ser feita posteriormente ao término dos efeitos sedativos (TAYLOR, 1985). Nesse sentido, o uso de ioimbina pode ser feito, por ser uma substância alfa 2- antagonista e conseguir reverter o efeito sedativo (KNYCH et al., 2010; KNYCH et al., 2011).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. ANATOMIA APARELHO REPRODUTOR DE GARANHÕES**

O aparelho reprodutor dos garanhões é composto por pênis, prepúcio, glândulas sexuais acessórias (duas vesículas seminais; próstata, ampolas e duas glândulas bulbouretrais), par de testículos e epidídimos. Tais estruturas são revestidas, externamente, pelo escroto e são ligados a cavidade abdominal através dos cordões espermáticos. Os quais, são formados por nervos, vasos linfáticos, ductos deferentes,

músculo cremaster interno, veias, artéria testicular e túnica vaginal (LITTLE e HOLYOAK, 1992; AMANN, 2011).

O pênis, nesses animais, é classificado como músculo-cavernoso, formado por musculatura isquiocavernosa na região dorsal, a qual da origem aos corpos cavernosos que são envoltos por tecido conjuntivo denominado túnica albugínea. Já a porção ventral é formada por corpo esponjoso, músculos bulboesponjoso e retrator do pênis (AMANN, 2011) (Figuras-1 e 2).

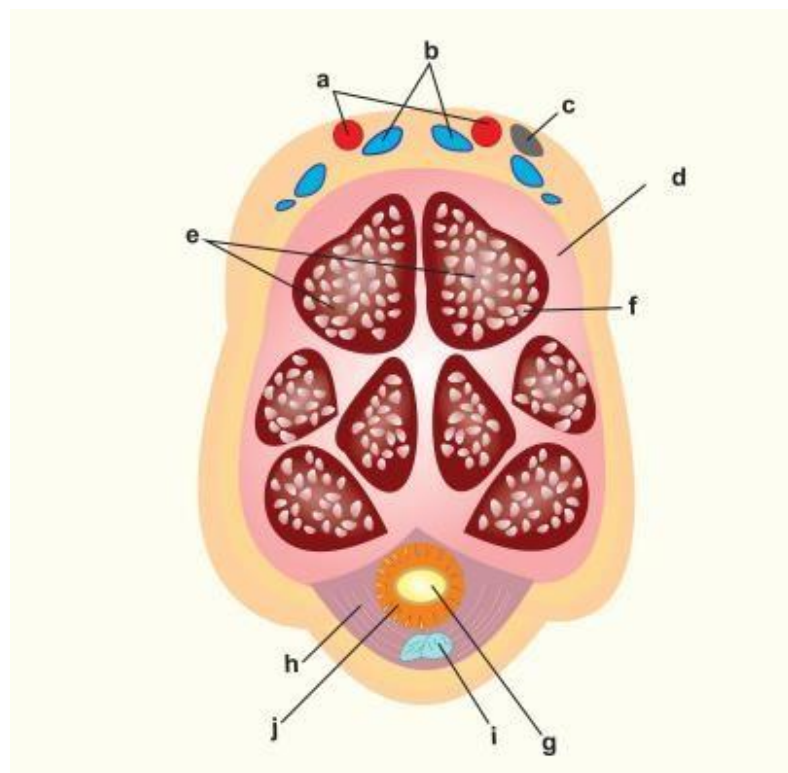


Figura 1- Corte transversal do corpo do pênis. a) artéria dorsal do pênis, b) veia dorsal do pênis, c) nervo dorsal do pênis, d) túnica albugínea, e) corpo cavernoso do pênis, f) trabéculas, g) uretra, h) músculo bulboesponjoso, i) músculo retrator do pênis, j) corpo esponjoso do pênis. (Fonte: CAVALERO, T.M.S, A. Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, p. 22. 2018.

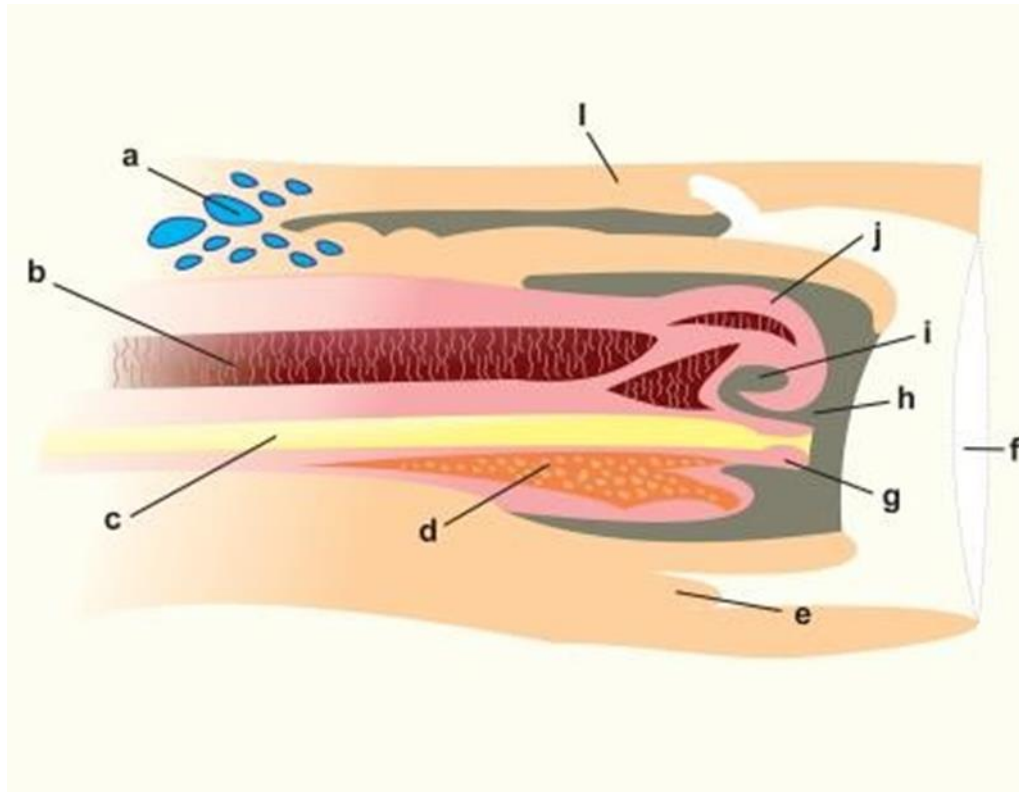


Figura 2- Corte lateral de pênis e prepúcio. a) plexo venoso dorsal, b) corpo cavernoso do pênis, c) uretra, d) corpo esponjoso do pênis, e) prega prepucial, f) orifício prepucial, g) processo uretral, h) fossa da glândula, i) sinus uretral, j) coroa da glândula, l) parede abdominal (Fonte: CAVALERO, T.M.S, A. Novos protocolos utilizando associações com ocitocina na indução farmacológica da ejaculação em garanhões. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, p. 22. 2018.

O escroto, é composto por dois sacos escrotais, separados pelo septo escrotal, e formados por uma protuberância da pele constituída por tecido epitelial, túnica dartos, fáscia escrotal e lâmina parietal da túnica vaginal. Neles, além dos testículos, estão os epidídimos e cordão espermático. Uma das principais funções do escroto é a termorregulação, realizada através da dissipação de calor pelas glândulas sudoríparas presentes na camada externa e por mecanismos de contração/relaxamento da túnica dartos e músculo cremáster (AMANN, 2011).

Categorizados por serem as gônadas masculinas, os testículos, são responsáveis pela produção de testosterona e espermatozoides (AMANN, 1981). Estão localizadas longitudinalmente, no eixo horizontal, com a parte caudal levemente mais baixa quando comparada a cranial, onde está fixado o cordão espermático (LOVE, 1992). São estruturas

ovoides e levemente comprimidas, lateralmente, por todo eixo horizontal (AMANN, 1981). Tendo consistência, fisiológica, fibroelástica e volume variável conforme a raça (AMANN, 2011).

Os epidídimos, anatomicamente, apresentam-se como ductos enovelados e subdividido em três partes, cabeça, corpo e cauda, na qual estão armazenadas a maior parte das células espermáticas. Dessa maneira, essa estrutura como um todo, é conhecida por realizar o armazenamento espermático, pois são capazes de proporcionarem a manutenção dessas células e a maturação das mesmas por longos períodos (SULIVAN et al., 2005).

Por fim, internamente, as estruturas anatômicas reprodutivas encontradas são as vesículas, próstata, glândulas bulbouretrais, e ampolas, constituindo as glândulas sexuais acessórias (SANCLER-SILVA, 2022). A importância dessas estruturas anatômicas está correlacionada com o volume final do ejaculado, pois a maior parte do plasma seminal é proveniente delas (BLANCHARD E VARNER, 1992). Sendo, a fração pré-seminal advinda das glândulas bulbouretrais e próstata, já a fração de gel é oriunda das vesículas seminais (SANCLER- SILVA, 2022).

## **2.2. COMPORTAMENTO SEXUAL GARANHÕES**

A atividade sexual, nos equinos, é controlada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal com envolvimento de mensageiros e estruturas anatômicos (ROSER, 2008). Os hormônios gonadais, andrógenos, controlam o desenvolvimento e expressão normal do comportamento sexual, embora variáveis como idade, condicionamento, experiência e presença das gônadas também influenciam diretamente na expressão desse comportamento (MCDONNELL, 1992).

Quando diante de égua em estro, os garanhões tendem a apresentar comportamentos como cheirar, lambe, vocalização, morder e reflexo de Flehmen. Esse reflexo, visualmente, apresenta-se pela curvatura do lábio superior para cima, cabeça estendida e pescoço voltado para cima (MCDONNELL, 1992).

Acredita-se que esse reflexo seja responsável pela condução de sinais químicos tanto para o sistema olfativo quanto para o órgão vomeronasal (KEVERNE, 2004), essa transferência é decorrente de produtos químicos voláteis presentes nas fezes e urina, de animais, com informações sobre sexo, idade e estado reprodutivo dos mesmos (MARNEWECK et al., 2017).

Esse comportamento pré-copula dos garanhões levam a ereção peniana e as tentativas de monta, a qual no início pode ocorrer sem a ereção e recebe o nome de montagem “teste”. Além disso, a cobertura pode ocorrer na posição lateral, ao invés de traseira, no caso de garanhões inespicientes (MCDONNELL, 1992).

O ato de masturbação, antigamente correlacionado com animais domésticos confinados ou de zoológicos, também é um comportamento sexual característico dos equídeos (MCDONNELL, 1992).



Figura 3- Reflexo de Flehmen, em garanhão, sob presença de égua em cio.

### **2.3. EREÇÃO**

A ereção peniana é um processo, fisiológico, onde há envolvimento de agentes vasoativos, fatores endócrinos e dependência do sistema nervoso central e periférico (TRAISH, 2000). Além disso, a anatomia do pênis contribui diretamente para o processo de ereção através dos corpos cavernosos, os quais são compostos por estruturas septadas, irrigadas que permitem a chegada e dispersão sanguínea (AMANN, 2011).

Resumidamente, o processo de ereção é modulado por fatores neuro-hormonais (CIRINO et al, 2006), envolvendo três fases: relaxamento do músculo liso do corpo cavernoso, aumento do fluxo sanguíneo arterial peniano e diminuição do influxo venoso (LUE, 2012).

### **2.3.1. HEMODINÂMICA**

A circulação sanguínea, do pênis que desencadeia a ereção baseia-se, anatomicamente, na subdivisão da artéria pudenda interna em três ramos: 1) artéria do corpo esponjoso, 2) artéria do corpo cavernoso e 3) artéria dorsal do pênis, as quais, respectivamente, inervam o corpo esponjoso, corpos cavernosos e glândula. Já o influxo venoso, é subdividido em superficial e profundo, drenando, respectivamente, o sangue para a veia safena magna e veia pudenda interna, enquanto a veia dorsal profunda drena o sangue proveniente dos corpos cavernosos, esponjoso e da glândula (LUE, 2012).

Dessa maneira, a hemodinâmica para a ereção consiste no aumento do fluxo sanguíneo para o interior dos corpos cavernosos, desencadeado pelo relaxamento do músculo liso das arteríolas que irrigam os espaços sinusoidais (GARAFFA et al, 2010). Devido ao progressivo influxo de sangue para os corpos cavernoso, os espaços sinusoidais aumentam causando o “mecanismo oclusivo venoso”, o qual consiste na compressão do plexo venoso, contra a túnica albugínea, impedindo o efluxo de sangue através das veias e aumentando a pressão intracavernosa (DEAN e LUE, 2005).

No entanto, a pressão durante a ereção, é diferente nas estruturas devido as diferenças anatômicas, sendo maior nos corpos cavernosos, por serem recoberto pela túnica albugínea, quando comparada a do corpo esponjosos e glândula (DEAN e LUE, 2005).

### **2.3.2. NEUROFISIOLOGIA**

Nos equinos, as fibras nervosas pré-ganglionares lombossacrais, da medula espinhal, se juntam ao plexo mesentérico caudal e inervam o parêntere reprodutor masculino (MCDONNELL, 1992). Sendo que os mecanismos, centrais, que modulam a ereção peniana são divididos em supraespinhais e espinhais (ANDERSSON, 2001).

A inervação do pênis é feita por via simpática responsável pela ejaculação e detumescência, parassimpática que desencadeia a ereção e somática subdividida em sensorial e motora. Os nervos simpáticos e parassimpáticos se fundem e formam os

nervos cavernosos, presentes nos corpos cavernosos e no corpo esponjoso, responsáveis pela modulação neurovascular durante a ereção e detumescência. Enquanto o sistema somático é encarregado de percepções provenientes na genitália e pela contração dos músculos isquiocavernoso e bulboesponjo, feita por fibras motoras (DEAN e LUE, 2005).

Portanto por ser um reflexo espinal, a ereção, pode ter início por vias aferentes do pênis, estímulos visuais e olfativos (CIRINO et al, 2006). Tais estímulos, liberam neurotransmissores provenientes dos nervos cavernosos desencadeando relaxamento do músculo liso e das arteríolas, aumentando o fluxo sanguíneo, armazenamento do mesmo e diminuição do influxo sanguíneo (DEAN e LUE, 2005).

### **2.3.3. VIA ÓXIDO NÍTRICO – GMPc**

Tem-se conhecimento que o óxido nítrico é o fator mais importante para o relaxamento dos vasos penianos e do corpo cavernoso (ANDERSSON, 2001) e o primeiro mensageiro da via de sinalização: óxido nítrico (NO) / monofosfato de guanosina cíclico (GMPc)/ proteína cinase (PKG) (FRANCIS et al., 2010).

Após o estímulo sexual, é induzido a liberação de NO através da via parassimpática, nos corpos cavernosos e no corpo esponjoso do pênis, porém no último em menor quantidade. Posteriormente, há ativação da enzima guanilato ciclase e produção de GMPc, a qual interage com a PKG resultando em fosforilação de substratos originando sequestro e extrusão de cálcio. A queda nos níveis intracelular de cálcio proporciona o relaxamento muscular (TRAISH et al., 2000), diminuição da resistência vascular e aumento do influxo sanguíneo peniano (ANDERSON, 2001).

### **2.3.4. CONTRAÇÃO DA MUSCULATURA LISA**

A contração da musculatura lisa peniana, para a ereção, é um processo posterior ao acúmulo de sangue no pênis regulada pela concentração de cálcio livre no citoplasma (DEAN e LUE, 2005), o qual irá ligar-se as proteínas ligantes de cálcio, calmodulinas, e fosforilação da cabeça da miosina, pela ativação da miosina quinase (TRAISH et al., 2000).

O aumento de cálcio intracelular pode ser realizado pela estimulação de receptores pós-sinápticos alfa 1 e alfa 2 (TRAISH et al., 2000). No primeiro, a norepinefrina irá agir nos receptores das células musculares lisas aumentando o trifosfato de inositol e o

diacilglicerol, desencadeando a liberação de cálcio intracelular. Já a estimulação dos receptores alfa 2 adrenérgicos irá aumentar o cálcio intracelular através da inibição da adenilato ciclase, consequentemente diminuição do AMPc e diminuição da função da proteína quinase A (PKA) (DEAN e LUE, 2005).

#### **2.4. EJACULAÇÃO**

A ejaculação é feita através de mecanismos neurofisiológicos e pode ser dividida em duas etapas distintas emissão e expulsão, respectivamente, liberação dos espermatozoides do ducto deferente para uretra pélvica (CLEMENT e GIULIANO, 2016) e eliminação do ejaculado pelo processo uretral (TISHNER et al., 1974).

Durante o primeiro processo, as células espermáticas são misturadas com os líquidos provenientes das glândulas sexuais acessórias, o qual é denominado de plasma seminal (CLEMENT e GIULIANO, 2016; PAPA et., al 2020). Essa etapa é feita pelo estímulo do contato do pênis com o interior da vagina, desencadeando a contração da cauda do epidídimo, ducto deferente, glândulas sexuais acessórias e esfíncter vesical, sendo esse último para impedir o contato do sêmen com urina (MCDONNELL, 1986; MCDONNELL, 1992).

Já a segunda etapa, é realizada através de contrações nas musculaturas pélvica, perianal e peniana, especificamente, isquiocavernosa, bulboesponiosa e uretral, resultando em sete jatos de sêmen (TISCHNER et al., 1974). Durante a expulsão, pode-se observar o movimento de erguer a cauda, conhecido como ondular, o qual é realizado a cada jato do ejaculado (MCDONNELL, 1986). Ao decorrer da ejaculação, a pressão, volume e concentração do primeiro ao último jato são variáveis, obedecendo uma ordem decrescente (KOSINIAK, 1975).

#### **2.5. EXAME ANDROLÓGICO**

A finalidade do exame andrológico é indicar se o animal é apto em quesitos comportamentais e físicos para o fornecimento de células espermáticas viáveis (BRINSKO et al., 2011).

A espécie equina é considerada a de menor fertilidade, quando comparada as espécies domésticas, isso é atribuído a seleção dos animais não serem feitas perante a características reprodutivas e nem pela presença de problemas relacionados ao manejo

reprodutivo. Tendo um impacto negativo na reprodução dessa espécie, uma vez que a seleção dos garanhões, os quais são responsáveis pela produção de um número grande de produtos, não elimina animais com problemas de fertilidade (GINTHER, 1992).

Portanto, a avaliação da capacidade reprodutiva dos machos é um fator importante para a reprodução da espécie equina. Para isso, o animal passa por avaliações físicas, comportamentais e dos parâmetros espermáticos. Além disso, há outros exames que podem ser utilizados, ultrassonografia do sistema reprodutor interno e externo, endoscopia, testes bioquímicos, testes endócrinos e testes genéticos para obtenção de um laudo mais detalhado (BALL, 2008).

Mesmo com o avanço nos exames disponíveis, não há um único teste que feito sozinho seja capaz de fornecer a fertilidade do garanhão. Dessa maneira, é importante que o exame andrológico seja feito completo e sequencial (BALL, 2008), preferencialmente com a associação dos testes citados anteriormente a fim de prever, com maior acurácia, a fertilidade do animal (VARNER, 2008)

Para iniciar o exame andrológico deve-se coletar informações para a anamnese a fim de identificar o animal como nome, idade, raça, manchas e marcações. Posteriormente, é necessário ter conhecimento sobre histórico do animal, vida reprodutiva, ambiente em que esta, linhagem genética, doenças anteriores, vacinas aplicadas, manejo reprodutivo anterior e atual. Em casos de animais atletas é importante saber sobre o desempenho atlético dos mesmos (BRINSKO et al., 2001).

### **2.5.1. EXAME FÍSICO GERAL**

Embora o objetivo do exame seja com intuítos reprodutivos, outras partes sistêmicas não devem ser negligenciadas, especialmente aquelas que podem interferir na reprodução. Portanto, o sistema locomotor, respiratório, cardiovascular, digestivo, nervoso, urinário, oftalmológico e musculoesquelético, devem ser examinados (BALL, 2008; LOVE, 2007).

### **2.5.2. EXAME DO SISTEMA REPRODUTOR EXTERNO**

Como já mencionado anteriormente o sistema reprodutor externo, dos machos, é formado por pênis, prepúcio, par de testículos, epidídimos, cordão espermático e escroto (LITTLE & HOLYOAK, 1992; AMANN, 2011).

A primeira avaliação do pênis, prepúcio e processo uretral deve ser feita na primeira lavagem do pênis para a coleta de sêmen. O exame deve ser realizado cuidadosamente para verificar a presença de lesões (habronemose ou neoplasias: carcinoma de células escamosas) e cicatrizes (traumas ou infecções por herpesvírus III). A fossa da glândula e processo uretral também devem ser examinados (BALL, 2008).

Para esse exame é preferível que o animal esteja em ereção, para essa finalidade pode-se utilizar égua em cio ou fármacos que proporcionam a exposição peniana. No entanto, há algumas drogas as quais dificultam posteriormente o processo de monta e podem levar ao priapismo (LOVE, 2007).

O escroto e testículos, podem ser avaliados antes ou após a colheita de sêmen, observando a pele escrotal, número, tamanho, orientação e consistência de ambos os testículos. Os quais, fisiologicamente nos garanhões, estão posicionados horizontalmente e localizados dentro do escroto, são simétricos em tamanho e consistência, moveis e com a cauda do epidídimo voltada para o polo caudal do animal (BALL, 2008).

A biometria testicular deve ser realizada (altura, largura e comprimento) e o exame de imagem pode ser realizado com ultrassom de modo B, podendo auxiliar na biometria e ecogeneidade do parênquima testicular (BALL, 2008). Embora não muito difundido, entre os andrologistas de equinos, a ultrassonografia Doppler pode ser empregada nesse momento a fim de obter informações sobre o fluxo sanguíneo testicular (ORTEGA-FERRUSOLA et al., 2014).

Já os epidídimos devem ser examinados por toda sua anatomia (cabeça, corpo e cauda) e o cordão espermático desde sua origem no polo craniodorsal do testículo até entrar no anel inguinal externo (BALL, 2008).

## **2.6. SEDAÇÃO ALFA 2-AGONISTA**

A avaliação por via transretal faz parte do exame andrológico, no entanto a espécie equina é conhecida por não ter boa aceitação durante a execução dessa etapa sendo de risco ao operador (SANCLER-SILVA, 2022) devido a alterações comportamentais dos animais (PEARSON et al., 2020).

Sendo assim, uma alternativa para tornar os animais mais receptivos é realizar essa etapa após os animais terem ejaculado, no entanto, posteriormente a ejaculação a avaliação das glândulas sexuais torna-se mais difícil uma vez que os tamanhos e conteúdo dessas são alterados (CHENIER, 2009). Portanto, vem sendo empregada a utilização de

contenção química (PEARSON et al., 2020) sendo os fármacos alfa-2 agonistas uma alternativa (BETTSCHEIDT-WOLFENBERGER e LARENZA, 2007).

Por ter ação depressora do sistema nervoso central, essa classe farmacológica torna-se muito utilizada na rotina dos médicos veterinários de equinos a fim de obter a contenção dos animais para realização de pequenas cirurgias e procedimentos de diagnósticos. Dentre os fármacos, alfa 2-agonistas, empregados para essas finalidades estão a xilazina utilizada previamente ao exame retal e a detomidina, para exames exploratórios não cirúrgicos (TAYLOR, 1985).

Os receptores adrenérgicos são divididos em dois grupos, alfa e beta, os quais dividem-se em subtipos, respectivamente, alfa-1; alfa2 e beta-1; beta-2. A localização deles também é divergente, os receptores alfas estão presentes na fenda pós-sináptica (alfa-1 e 2) e pré-sináptica (alfa-2). Já o grupo beta, são pós-sinápticos, sendo beta-2 são responsáveis pela vasodilatação, broncodilatação e relaxamento uterino, enquanto beta-1 age na automaticidade e contratilidade cardíaca (VALVERDE, 2010). Além dessas diferenças, os receptores alfa 2-adrenérgicos divergem entre si em três subtipos, alfa-2A; alfa2-B e alfa-2C, perante a localização (BUERKLE e YAKH, 1998).

No entanto, esses receptores são classificados na categoria transmembrana, formados por uma única cadeia de polipeptídios com sete regiões e estão acoplados a proteínas de ligação reguladoras de nucleotídeo de guanina (proteína G) (BYLUND, 2013). Todos os subtipos apresentam em comum ação inibitória da adenilato ciclase, e conseqüentemente queda nos níveis de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), resultando na hiperpolarização dos neurônios noradrenérgicos (PICHOT et al., 2011).

Os efeitos de sedação e analgesia, proporcionados por essa classe farmacológica, acontecem através da ligação e ativação dos alfa-2 agonistas aos seus receptores específicos, as proteínas G presentes nas membranas. As quais irão agir na membrana neuronal causando a liberação de potássio, bloqueio dos canais de cálcio e hiperpolarização celular, tornando-as insensíveis e entrada excitatória, tendo como consequência o bloqueio da via de transmissão (PADDLEFORD e HARVEY, 1999).

Portanto, a ativação dos receptores alfa-2 pré-sinápticos levam a inibição da liberação de noroepinefrina na fenda sináptica, assim como a regulação da ação da mesma nas células efectoras, tendo como consequência diminuição do débito cardíaco, diminuição da frequência cardíaca e queda na resistência vascular (VALVERDE, 2010).

Sendo assim, o mecanismo de ação, pelo qual os fármacos alfa 2- agonistas promovem sedação é através de feedback negativo, o qual ocorre por modificações intracelulares devido a interação dessa classe farmacológica com os receptores alfa- 2 adrenérgicos (GIOVANNITTI et al., 2015) (Figura 4).

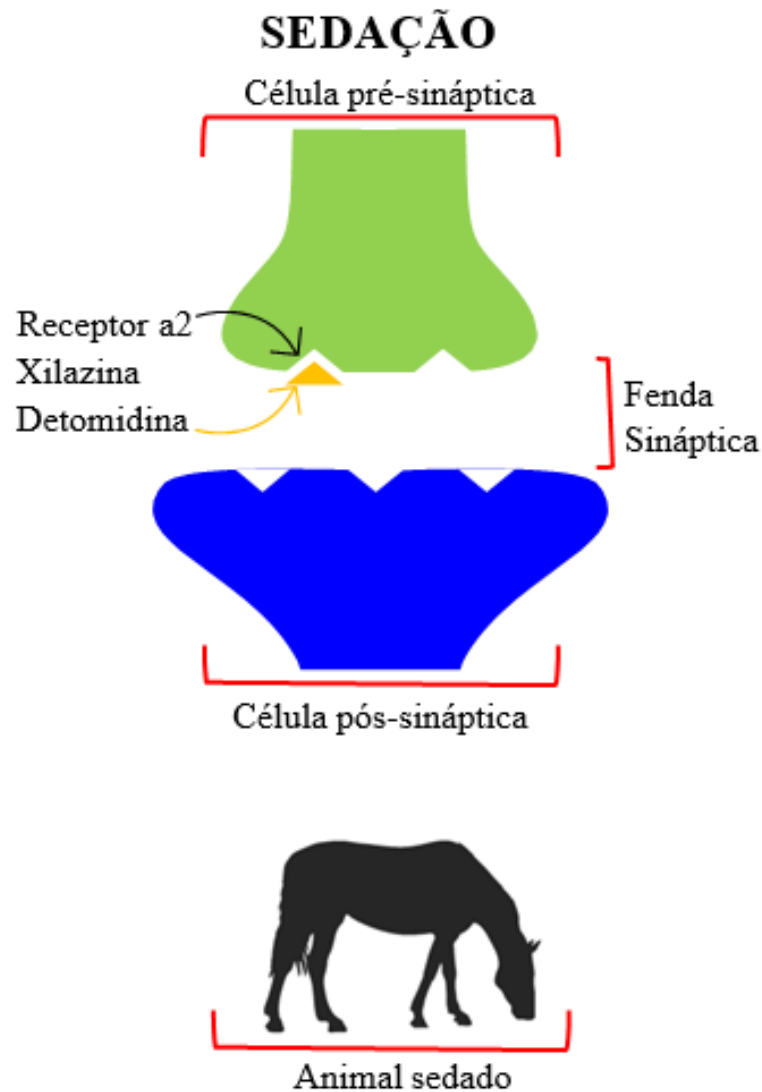


Figura 4- Representação da ação dos fármacos, Xilazina+Detomidina nos receptores alfa-2-agonistas causando sedação. (Adaptado de: <https://botupharma.com/produto/reset/>)

### 2.6.1. CLORIDRATO DE XILAZINA

A xilazina, pertencente ao grupo alfa 2- agonistas, é uma droga que proporciona alterações fisiológicas e comportamentais, com vias de administração intramuscular e intravenosa (VALVERDE, 2010). É um tranquilizante muito utilizado para sedar,

previamente a procedimentos cirúrgicos em animais de grande porte. Particularmente, na espécie equina, foi o primeiro fármaco alfa 2- agonista a ser utilizado e ainda é empregado por proporcionar um efeito calmante em animais ariscos (SPYRIDAKI et al., 2004).

Além disso, a aplicação desse fármaco acarreta efeitos anestésicos e relaxamento muscular, com duração e intensidade variando de acordo com a dose administrada (CUVELLIEZ et al., 1995). Apresentando, após administração intravenosa, efeito máximo entre 4 e 8 minutos e quando aplicada intramuscular a sedação torna-se evidente em 10 minutos enquanto o efeito máximo é atingido em 15 minutos (GARCIA-VILLAR et al., 1981).

A absorção, metabolização e excreção da xilazina acontecem rapidamente, sendo que muitos compostos distintos estão envolvidos no processo de metabolização originando, sulfatos orgânicos e dióxido de carbono como produtos finais (HOLLAND et al., 2020). Já a metabolização e excreção acontecem, respectivamente, por via hepática e renal (GARCIA-VILLAR et al., 1981).

Os efeitos colaterais, a curto prazo, consistem em bradicardia, diminuição do débito cardíaco, hipertensão e diminuição do fluxo sanguíneo intestinal. Enquanto os que podem ser de efeito prolongado são hipotensão e falha na motilidade intestinal (EDWARDS, 2012).

### **2.6.2. DETOMIDINA**

Muito utilizada na medicina veterinária, clínica e cirúrgica, de equinos a detomidina é um fármaco agonista dos receptores alfa-2 adrenérgicos, com alta afinidade pelo sistema nervoso central e de rápida absorção, devido ao seu caráter lipofílico (STANLEY et al., 1992).

As formas de administração são intravenosas, intramuscular, subcutânea e por via oral na forma de gel (KAUKINEN et al., 2010), quando utilizada por via intravenosa foi capaz de proporcionar sedação por cerca de 15 a 60 minutos (JÖCHLE, 1989) e atingir pico de concentração e meia-vida, respectivamente, em 2 e 30 minutos (MAMA, 2009).

Embora pertencentes a mesma classe farmacológica, a detomidina apresenta efeitos sedativos e analgésicos mais potentes quando comparada a xilazina (EDWARDS, 2012), já sendo descrita com potência de 50 vezes a mais quando comparada a essa droga (CHUI et al., 1992). Além disso, foi demonstrado, que exclusivamente por via de administração

intravenosa, ou como reforço para a via intramuscular, a detomidina apresentou maior tempo de recuperação (animal em pé) quando comparada, através da mesma metodologia, a xilazina (HUBBELL e MUIR 2004).

As desvantagens da utilização desse fármaco são basicamente as mesmas descritas para xilazina (EDWARDS, 2012), com acréscimo de efeitos cardiopulmonares prejudicialmente potentes (GRIMSRUD et al., 2009).

## **2.7. EXAME DO SISTEMA REPRODUTOR INTERNO**

A genitália interna do garanhão, no sentido caudal para dorsal, inclui as glândulas bulbouretrais, uretra pélvica, próstata, glândulas vesiculares e ampolas (PAPA et., al 2020). Sua avaliação, perante tamanho, consistência e posição anatômica, pode ser feita com acesso transretal para palpação e ultrassonografia, a qual também possibilita a observação da ecogenicidade dos tecidos. Já a endoscopia pode ser realizada com acesso pela uretra e tem papel importante no diagnóstico de vesiculite (WEBER E WOODS, 1993; SANCLER-SILVA, 2022).

Mesmo sendo a única ferramenta disponível para o médico veterinário avaliar internamente as estruturas reprodutivas do garanhão, a ultrassonografia transretal não é uma prática popular. No entanto, através desse exame de imagem torna-se possível a detecção das enfermidades vesiculite seminal e obstrução de ampola (SANCLER-SILVA, 2022).

Embora o exame interno seja mais indicado posteriormente a colheita, pelos animais demonstrarem-se mais receptivos, após a ejaculação avaliação das glândulas é mais difícil pois o diâmetro e conteúdo dessas são alterados (CHENIER, 2009). Além disso, outro fator que pode interferir no tamanho das glândulas é a estimulação sexual previamente ao exame (POZOR e MCDONNELL, 2002; WEBER E WOODS, 1993).

No entanto, após os exames o animal não deverá ser movido até que os efeitos da sedação diminuam (TAYLOR, 1985). Portanto, para reverter os efeitos desses fármacos, o uso de ioimbina pode ser feito, uma vez que essa droga se demonstra capaz de reverter os efeitos sedativos, da xilazina e detomidina, por ser uma substância alfa 2- antagonista (KNYCH et al., 2010; KNYCH et al., 2011). Os antagonistas, são substâncias que não ativam os receptores após a ligação nos mesmos, podendo bloquear ou a inibir a ativação decorrente de um agonista (BYLUND, 2013) (Figura- 5).

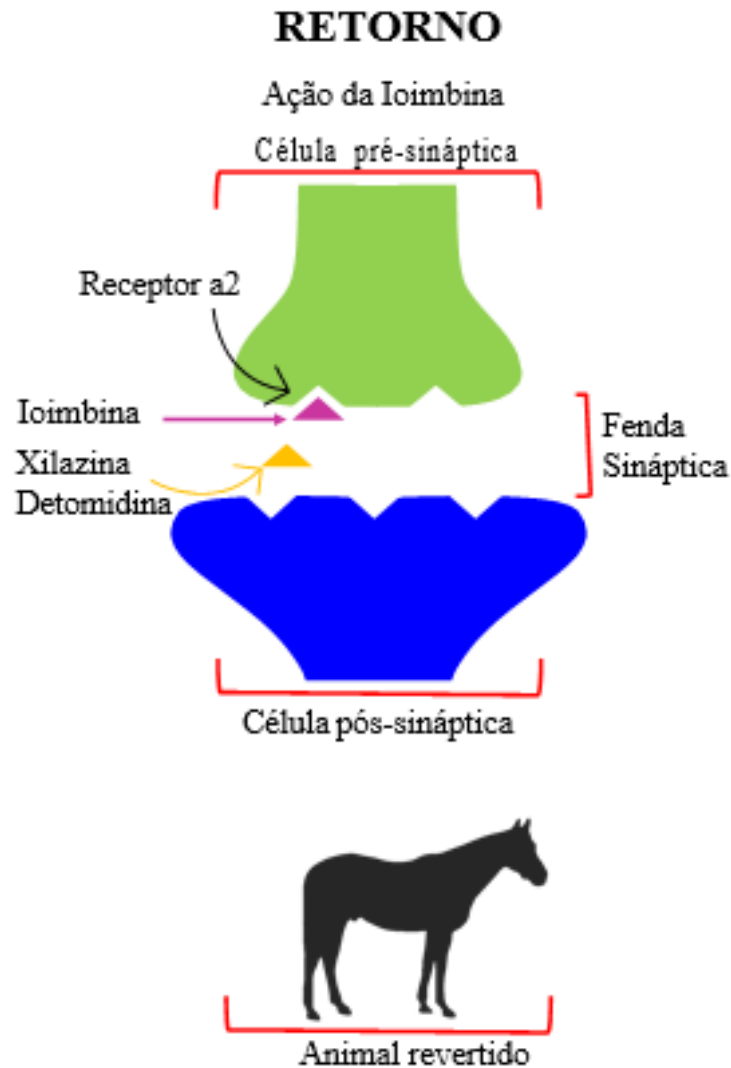


Figura 5 – Ação da Ioimbina, alfa-2-antagonista na reversão dos efeitos de sedação. (Adaptado de: <https://botupharma.com/produto/reset/>)

## 2.8. IOIMBINA

A classe farmacológica alfa 2-agonista pode ser antagonizada pelos antagonistas alfa 2- adrenérgicos, os quais, na medicina equina, são a ioimbina, tolazolina e anpamezol (RINGER, 2012). Ao serem administrados, os antagonistas suspendem o efeito dos agonistas podendo causar efeitos cardiovasculares e comportamentais (agitação, tremor muscular, reação exagerada, excitação leve) (KOLLIAS-BAKER, et al., 1993).

Encontrada em uma variedade de fontes botânicas, sendo o principal alcaloide extraído da casa da árvore *Pausinystalia yohimbe* (TAM et al., 2001), a ioimbina é um

potente antagonista seletivo de adrenoreceptores alfa- 2, com baixa seletividade pelos alfa-1 (GOLDBERG & ROBERTSON, 1983).

Em estudos conduzidos em humanos, a ioimbina demonstrou-se ser uma droga segura, na fase de dose prevista, para tratamento de disfunção erétil (TAM et al., 2001). Além disso, seu uso clínico pode ser empregado como afrodisíaco, estimulante e agente para perda de peso (BOURGEOIS e EGGLESTON, 2023). Já em superdosagem, as consequências descritas são elevação da pressão arterial, ansiogênica e aumento da frequência urinária, podendo ser letal em uma dose muito alta (BYLUND e LAVICKY, 2016).

No aspecto reprodutivo, em ratos, há relatos da diminuição dos intervalos de tempos de penetração, monta e ejaculação (SMITH et al., 1987a), melhora no desempenho de montas, em ratos submetidos previamente a anestesia local na glândula do pênis, estímulo a cópula em machos inexperientes, aumento do número de rato ejaculando no primeiro encontro com a fêmea (CLARK et al., 1984), na espécie canina há relatos do estímulo sexual ser mais rápido e o volume do ejaculado maior após o uso de ioimbina (YONEZAWA et al., 2005)

## **2.9. ESPERMOGRAMA**

A análise seminal consiste na avaliação do potencial reprodutivo do animal e é feita, normalmente, como parte do exame andrológico. Para essa avaliação, o ejaculado obtido deve ser manuseado cautelosamente a fim de evitar danos aos espermatozoides e o exame deverá ser feito de forma rápida e precisa avaliando as características seminais, volume, concentração, motilidade e morfologia. (JASKO, 1992).

Após a colheita de sêmen, o mesmo deverá ser filtrado para retirar sujidades e a fração gelatinosa, proveniente das glândulas sexuais acessórias (ALVARENGA et al., 2016), as quais contribuem com cerca de 95% do volume do ejaculado (BLANCHARD E VARNER, 1992). Posteriormente, o exame deve prosseguir com a mensuração do volume (JASKO, 1992).

A concentração espermática é feita em seguida, com intuito de obter o número de espermatozoides totais do ejaculado. Podendo ser feita a contagem das células através do hematocitômetro, espectrofotômetro e NucleoCouter (BRINSKO et al., 2011). Portanto, a divisão dos métodos de concentração é feita por maneira direta ou indireta, sendo

hematocitrometro, método padrão, e a única maneira de contagem direta, enquanto para a outra categoria as células espermáticas se tornam visíveis após a fluorescência do DNA, luminosidade, tamanho e densidade (LOVE, 2012).

A diluição, convencionalmente, utilizada para o calcula da concentração espermática, utilizando o método padrão em equinos, obedece a proporção de 1:20, respectivamente, uma parte de sêmen diluída em 20. Dessa maneira, os dois lados do hematocitômetro são contados para obtenção da média, respeitando a proporção limite, da diferença entre os lados de >10% (LOVE, 2012). A acurácia do resultado é importante para avaliar a capacidade reprodutiva do animal e maximizar o potencial reprodutivo do mesmo (RIGBY et al., 2001).

A avaliação da cinética, ou das motilidades espermáticas, pode ser feita de forma subjetiva, através de microscopia óptica, com uma gota de sêmen entre lâmina e lamínula, estimando por meio visual da examinadora porcentagem de células móveis. Esse método também permite a avaliação do vigor do movimento espermático na amostra. Ainda que subjetiva, é uma etapa fundamental no exame andrológico (ARRUDA et al., 2011).

A forma de avaliar a cinética, de maneira objetiva e mais fidedigna é por meio de um sistema de análises computadorizada da motilidade espermática (Computer Assisted Sperm Analyses - CASA), onde os espermatozoides móveis são observados e é mensurado o movimento de cada um, gerando resultados numéricos mais confiáveis (AMANN e KATZ, 2004). No entanto, os resultados obtidos por esse método estão correlacionados com as configurações dos aparelhos e dos campos analisados, podendo ser divergentes (GACEM et al., 2020).

A avaliação da integridade de membrana plasmática pode ser realizada utilizando diversas técnicas, desde forma simples como é o caso da coloração com eosina e nigrosina. A eosina é um corante que não é capaz de penetrar em células com membrana intacta, porém em células lesadas, elas ficam coradas na cor rosa. Já a nigrosina atua promovendo um contraste mais escuro de fundo da lâmina, permitindo a visualização dos espermatozoides que não foram corados (BRITO, 2007).

Ainda sobre a maneira de avaliar a membrana plasmática do espermatozoide, há o teste hiposmótico. No qual, a membrana espermática se expande, ao entrar em contato com meio aquoso, devido a um aumento de volume celular, causando o enrolamento da cauda, caracterizado como um processo fisiológico. No entanto, se a membrana estiver danificada, essa reação não ocorrerá (RAMU e JEYENDRAN, 2012).

Além dos métodos citados anteriormente, outra maneira de fazer a avaliação da membrana celular espermática é por meio da associação de sondas fluorescentes com citometria de fluxo permitindo examinar, de maneira rápida, um grande número de células (MAIA et al., 2019).

Sabe-se que a morfologia espermática tem papel importante perante o potencial de fertilidade do animal, tornando-se uma parte essencial do exame andrológico. A análise pode ser feita por: contraste de interferência diferencial; contraste de fase; coloração Dip-Quick; coloração eosina nigrosina e amostras fixadas em formol salina (HERNÁNDEZ-AVILÉS et al., 2023).

Para análise morfológica os defeitos espermáticos, anteriormente, foram divididos em primários os quais eram provenientes de alterações no epitélio seminífero e os secundários ocasionados por alterações fisiológicas dos epidídimos até o momento da ejaculação (BLOM, 1950). Posteriormente outro método surgiu, o qual separa as alterações em defeitos maiores e menores, respectivamente, com prejuízo a fertilidade e de menor importância (BLOM, 1972), os quais deverão obedecer ao limite imposto para a espécie equina pelo Colégio Brasileiro de Reprodução, na contagem de 200 células, sendo 10% defeitos maiores e 20% menores (CBRA, 1998).

Atualmente, os defeitos espermáticos podem ser segregados em compensatórios e não compensatórios. Nessa avaliação, os defeitos compensatórios são aqueles em que um maior número de células espermáticas, com maior número de células competentes, consegue atingir a fertilidade, diferentemente dos não compensatórios (SAACKE, 2008).

Além disso, o CBRA descreve quais são as características desejáveis em ejaculado equino obtido através da utilização da vagina artificial (Tabela 1) (CBRA, 2013).

TABELA 1- Valores desejáveis das características do ejaculado de garanhão utilizando vagina artificial.

Características	Valores
Volume (livre de gel)	40-60 mL
Cor	Branca acinzentada
Odor	“sui generis”
Movimento em massa	Ausente
Motilidade espermática	$\geq 60\%$
Vigor	$\geq 3$
Concentração espermática	$\sim 100-200 \times 10^6/\text{mL}$
Nº total de espermatozoides	$\sim 5 \times 10^9$
Espermatozoides normais	$\geq 70\%$

### **3. HIPÓTESE**

A utilização de xilazina, associada com detomidina (Sedacomb®), e a reversão da sedação com ioimbina (Reset®) não alteram a qualidade espermática.

### **4. OBJETIVOS**

Avaliar o efeito da sedação utilizando xilazina, detomidina e reversão com ioimbina sobre os parâmetros espermáticos em garanhões.

Avaliar o efeito, comportamental, da ioimbina em garanhões.

## 5. REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; NETO, C.R. Advances in Stallion Semen Cryopreservation. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.32, p.521-530, 2016.
- AMANN, R. P.; KATZ, D. F. Reflections on CASA after 25 years. **Journal of Andrology**, v.25, p.317-325, 2004.
- AMANN, R.P. A review of anatomy and physiology of the stallion. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.1, p. 81-105, 1981.
- AMANN, R.P. 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.
- ARRUDA, R.P.; CELEGHINI, E. C. C.; ALONSO, M. A.; CARVALHO, H. F.; OLIVEIRA, L. Z.; NASCIMENTO, J. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, p.145-151, 2011.
- BALL BA. Diagnostic methods for evaluation of stallion subfertility: a review. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.28, n.11, p.650-655, 2008.
- BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Circular Técnica**, n.41, São Carlos, São Paulo, 2005.
- BETTSCHART-WOLFENBERGER, R.; LARENZA, M.P. Balanced Anesthesia in the Equine. **Equine Practice**. 2007.
- BLANCHARD, T.L., VARNER, D.D. Stallion management. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 8, p. 205-218, 1992.
- BLOM, E. Interpretation of spermatic citology in bulls. **Fertil Steril**, v.1, p.223-238, 1950.
- BLOM, E. The ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the bull spermiogram. In: **Symposium Internationale de Zootechnie**, 7, 1972, Milano, Italy. Proceedings. Milano: SIZ, 1972.
- BOURGEOIS, K.; EGGLESTON. Yohimbine. **Reference Module in Biomedical Sciences**. P.2023.
- BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L.; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.C. HINRICHS, K.; HARTMAN, D.L. CHAPTER 13-Examination of the Stallion for Breeding Soundness. **Manual of Equine Reproduction**, 3ed. p. 176-206. 2011.

BRITO, L. F. C. Evaluation of stallion sperm morphology. **Clin Techn Equine Pract**, v.6, p.249-264, 2007.

BUERKLE, H.; YAKSH, T.L. Pharmacological evidence for different alpha2- adrenergic receptor sites mediating analgesia and sedation in the rat. **British Journal of Anaesthesia**, v.81, p.208-218, 1998.

BYLUND, D.B. Adrenergic Receptores. **Encyclopedia of Biological Chemistry**, p. 57-60, 2013.

BYLUND, D.B.; LAVICKY, M. YOHIMBINE. **Reference Module in Biomedical Science**, p. 1-5, 2016.

CIRINO, G.; FUSCO, F.; IMBIMBO, C.; MIRONE, V. Oharmacology of erectile dysfunction in man. **Pharmacology & Therapeutics**, v.111, p. 400-423, 2006.

CLARK, J.T.; SMITH, E.R.; DAVIDSON, J.M. Enhancement of Sexcual Motivation in Male Rats by Yohimbine. **SCIENCE**, v.225, p. 847-849, 1984.

CLEMENT, P.; GIULIANO, F. Physiology and Pharmacology of Ejaculation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 64, p. 121 - 129, 2016.

Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA). **Manual para exame andrológicoe avaliação do sêmen animal**. 2.ed. Belo Horizonte: CBRA, 1998. 49p

CUVELLIEZ, S.; ROSSEEL, G.; BLAIS, D.; SALMON, Y.; TRONCY, E.; LARIVIERE, N. Intravenous anesthesia in the horse: Comparasion of xylazine- ketamine and xylazine-tiletamine-zolazepam combinations. **Canadian Veterinary Journal**, v.36, p.613-618, 1995.

CHENIER, T.S. Anatomy and physical examination of the stallion, In: **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**, J. SAMPER, W.B.2nd Ed. Saunders, Philadelphia, PA.2009.

CHUI, Y.C.; MUTLIB, A.; ESAW, B.; ZARATE, R.; YOUNG, L.M. Detection of detomidine and its metabolites in equine plasma and urine by LC/MS/MS. **In: Proceedings of the 9th International Conference of Racing Analysts and Veterinarians**, p. 85-92, 1992.

DEAN, R.C.; LUE, T.F. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. In: WEIN, A.J.; KAVOUSSI, L.R.; CAMPBELL, M.F.; et al. **Campbell-Walsh Urology**. 10<sup>a</sup> ed, v.1. Philadelphia: Elsevier, 2012. p.688-720.

EDWARDS, G.B. Gastroenterology 1. Colic. **Equine Medicine, Surgery and Reproduction**. 2ed. p.21-47. 2012.

FLAKÖLL, B.; ALI, A.B.; SAAB, C.Y. Twitching in veterinary procedures: How does this technique subdue horses? **Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research**, v.18, p.23–28, 2017.

FRANCIS, S.H.; BUSCH, J.L.; CORBIN, J.D. cGMP-Dependent Protein Kinases and cGMP Phosphodiesterases in Nitric Oxide and cGMP Action. **Pharmacological**. v.62. p.525-563. 2010.

GACEM, S.; BOMPART, D.; VALVERDE, A.; CATALÁN, J.; MIRÓ, J.; SOLER, C. Optimal frame rate when there were stallion sperm motility evaluations and determinations for kinematic variables using CASA-Mot analysis in different counting chambers. **Animal Reproduction Science**, v.223, 2020.

GARAFFA, G.; MINHAS, S.; RALPH, D. Male Sexual Function. In: MUNDY, A.R.; FITZPATRICK, J.M.; NEAL, D.E.; et al. **The Scientific Basis of Urology**. 3<sup>a</sup> ed. Londres: Informa Healthcare, 2010. p.300-315.

GARCIA-VILLA, R.; TOUTAIN, P.L.; ALVINERIE, M.; RUCKEBUSCH, Y. The pharmacokinetics of xylazine hydrochloride: an interspecific study. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.4, p.87-92, 1981.

GINTHER, O. J. Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects. 2th ed. **Equiservices Publishing, Cross Plains**. 642p. 1992.

GRIMSRUD, K.N.; MAMA, K.R.; THOMASY, S.M.; STANLEY, S.D. Pharmacokinetics of detomidine and its metabolites following intravenous and intramuscular administration in horses. **Equine veterinary journal**, v.41, p.361-365, 2009.

HERNÁNDEZ-AVILÉS, C.; RAMÍREZ-AGÁMEZ, L.; PEARSON, M.; BECKHAM, A.M.N.; VARNER, D.; LOVE, C.C. A matter of agreement: The effect of the technique and evaluator on the análisis of morphologic defects in stallion sperm. **Theriogenology**, v.202, p. 74-83, 2023.

HOLLAND, D.C.; MUNNS, R.K.; ROYBAL, J.E.; HURLBUT, J.A.; LONG, A.R. Simultaneous Determination of Xylazine and Its Major Metabolite, 2,6-Dimethylaniline, in Bovine and Swine Kidney by Liquid Chromatography. **Journal of AOAC INTERNATIONAL**, v.76, p. 720-724, 2020.

HUBBELL, J.A.E.; MUIR, W.W. Use of the alpha-2 agonists xylazine and detomidine in the perianaesthetic period in the horse. **Equine veterinary education**, v.16, p.326- 332, 2004.

HURGEN, J.P. Evaluation of the Stallion for Breeding Soundness. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.8, p.149-165, 1992.

- JASKO, D.J. Evaluation of Stallion Semen. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.8, p.129-148, 1992.
- JÖCHLE, W. Field trial evaluation of detomidine as a sedative and analgesic in horse with colic. **Equine Veterinary Journal**, v.21, p.117-120, 1989.
- KAUKINEN, H.; ASPEGRÉN, J.; HYYPPÄ, S.; TAMM, L.; SALONEN, S. Bioavailability of detomidine administered sublingually to horses as an oromucosal gel. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.34, p.76-81, 2011.
- KEVERNE, E.B. Importance of olfactory and vomeronasal systems for male sexual function. **Physiology & Behavior**, v.83, p.177-187, 2004.
- KNYCH, H.K.D.; STEFFEY, E.P.; DEUEL, J.L.; SHEPARD, R.A.; STANLEY, S.D. Pharmacokinetics of yohimbine following intravenous administration to horses. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic**, v.34, p.58-68, 2011.
- KNYCH, H.K.D.; STEFFEY, E.P.; STANLEY, S.D. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of three intravenous doses of yohimbine in the horse. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.34, p.359-366, 2010.
- KOLLIAS-BAKER, C.A.; COURT, M.H.; WILLIAMS, L.L. Influence of yohimbine and tolazine on the cardiovascular, respiratory, and sedative effects of xylazine in the horse. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.16, p. 350-358, 1993.
- KOSINIAK K. Characteristics of the successive jets of ejaculated semen of stallions. **Journal of reproduction and fertility. Suppl**, n. 23, p. 59-61, 1975.
- LAGERWEIJ, E.; NELIS, P.C.; WIEGANT, V.M.; REE, J.M.; VAN; REE, J.M. VAN. The Twitch in Horses : A Variant of Acupuncture. **Science**, v.225, p.1172-1174, 1984.
- LITTLE, T.V.; HOLYOAK, G.R. Reproductive Anatomy and Physiology of the Stallion. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.8, p. 1-29, 1992.
- LOVE, C. C. Reproductive examination of the stallion: evaluation of potential breeding soundness. In: YOUNGQUIST, R. S.; THARELFALL, W. R. Current therapy in large animal. **Theriogenology**. 2nd. ed. Saint Louis: Elsevier-Saunders, 2007, p. 10-14.
- LOVE, C.C. Measurement of Concentration and Viability in Stallion Sperm. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, p.464-466, 2012.
- LOVE, C.C. Reproductive examination of the stallion: evaluation of potential breeding soundness. In: **Current therapy in large animal theriogenology**. WB Saunders, p.10-14. 2007.

LOVE, C.C. Ultrasonographic Evaluation of the Testis, Epididymis, And Spermatic Cord os the Stallion. **Veterinary Clinics of North America: Equine Pratic**, V.8, 1992.

LUE, T.F. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction. In: WEIN, A.J.; KAVOUSSI, L.R.; CAMPBELL, M.F.; et al. **Campbell-Walsh Urology**. 10<sup>a</sup> ed, v.1. Philadelphia: Elsevier, 2012. p.688-720.

MAIA, S.M.; LUCENA, C.A.O.; MOURA, C.E.B. Assesment of the plasma membraneof goat spermatozoa using fluorescente probes and flow cytometry. **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**. 2019.

MAMA, K.R.; GRIMSRUD, K.; SNELL, T.; STANLEY, S. Plasma concentrations, behavioural and physiological effects following intravenous and intramuscular detomidine in horses. **Equine Veterinary Journal**. v.41. p.772-777. 2009.

MARNEWECK, C.; JÜRGENS, A.; SHRADER, A.M. The role of middens in white rhino olfactory communication. **Animal Behaviour**. v.140. p.7-18. 2018.

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. Normal and abnormal sexual behavior. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, n. 8, p. 71-89, 1992.

MOREL, D. Equine artificial insemination. Production of spermatozoa. **CAB International, New York**. Cap. 4, p.78. –149, 1999.

MURRELL, J. C.; HELLEBREKERS, L. J. Medetomidine and dexmedetomidine: a review of cardiovascular effects and antinociceptive properties in the dog. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**. v. 32, n. 3, p. 117-127, 2005.

ORTEGA-FERRUSOLA, C.; GRACIA-CALVO, L.A.; EZQUERRA, J.; PENA, F.J.Use os Colour ans Spectral Doppler Ultrasonography in Stallion Andrology. **Reproduction in Domestic Animals**. v.49. p. 88-96. 2014.

PADDLEFORD, R.R.; HARVEY, R.C. Alpha2 Agonistas and Antagonists. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.29.p.737-745.1999.

PAPA, F.O. **Reprodução de garanhões**. 1<sup>o</sup>ed. São Paulo. MedVet.2020

PEARSON, G.; REARDON, R.; KEEN, J.; WARAN, N. Difficult horses – prevalence, approaches to management of and understanding of how They develop bye quine veterinarians. **Equine Veterinary Education**. V.33. 2020.

- PICHOT, C.; GHIGNONE, M.; QUINTIN, L. Dexmedetomidine and Clonidine: From Second- to First-line Sedative Agents in the Critical Care Setting?. **Journal of Intensive Care Medicine**. v.27.2011.
- RAMU, S.; JEYENDRAN, R.S. The Hypo-osmotic Swelling Test for Evaluation of Sperm Membrane Integrity. **Spermatogenesis**. v.927. p.21-25. 2012.
- RIGBY, S.L.; VARNER, D.D.; THOMPSON, J.A.; LOVE, C.C.; BRINSKO, S.P.; BLANCHARD, T.L. Measurement of sperm concentration in stallion ejaculates using photometric or direct sperm enumeration techniques. **Proceedings of the Annual Convention of the AAEP**. v.47. p.236-238. 2001.
- RINGER, S.K. Chemical restraint for standing surgery. p.253-262.2012.
- RIVERA, E.; BENJAMIN, S.; NIELSEN, B.; SHELLE, J.; ZANELLA, A.J. Behavior and physiological responses of horses to initial training: the comparison between pastured versus stalled horses. **Applied Animal Behaviour Science**. v.78. p.235-252. 2002.
- ROSER, J.F. Endocrine and paracrine control of sperm production in stallions. **Animal reproduction science**, v. 68, n. 3, p. 139-151, 2001.
- SACK W.O.; HACKETT, M.S. Rooney's Guide to the Dissection of the Horse, Veterinary T York, 2001.
- SAACKE, R, G. Sperm morphology: Its relevance to compensable and uncompensable traits in semen. **Theriogenology**, v.70, p.473-478, 2008
- SANCLER-SILVA, Y.F.R. Avaliação andrológica no garanhão: ênfase no exame interno do sistema genital. **Anais da VI Reunião Anual da Associação Brasileira de Andrologia Animal**. 2022.
- SARRIS, A.B.; NAKAMURA, M.C.; STAICHAK, R.L.; FERNANDES, G.R.; PUPULIM, A.L.; SOBREIRO, B.P. Physiology of penile erection: a brief review. **Visão acadêmica**. V.18. 2017.
- SEDDIGHI, E.; KNYCH, H.K.; COX, S.K.; SUN, X.; MOORHEAD, K.A.; DOHERTY, T.J.D. Evaluation of the sedative effects and pharmacokinetics of detomidine gel administered intravaginal to horses. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 46, p.772-779, 2019.
- SEVERO, N. C. Influência da qualidade do sêmen bovino congelado sobre a fertilidade. **A Hora Veterinária**, Ano 28, nº 167, p.36 – 39, janeiro/fevereiro/ 2009.
- SPYRIDAKI, M.H.; LYRIS, E.; GEORGOULAKIS, I.; KOURETAS, D.; KONSTANTINIDOU, M.; GEORGAKOPOULOS, G.G. Determination of xylazine and its metabolites by GC-MS in equine urine for doping analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.35, p.107-116, 2004

SQUIRES, E.L.; PICKETT, B.W.; GRAHAM, J.K.; VANDERWALL, D.K.; McCUE, P. M.; BRUEMMER, J. E. Cooled and frozen stallion semen. **Colorado State university: College of veterinary medicine and biomedical Sciences**, p.11- 21, 1999.

STANLEY, S.D.; YANG, J-M.; WOOD, T.W.; SALONEN, J.S.; WATT, D.; TAI, H-H. ; TOBIN, T. Detomidine clearance in the horse as determined by ELISA. **In: Proceedings of the 9th International Conference of Racing Analysts and Veterinarians**, p.193-197, 1992.

SULIVAN, R.; SAEZ, F.; GIROUAR, J.; FRENETTE, G. Role of exosomes in sperm maturation during the transit along the male reproductive tract. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v.35, p. 1-10, 2005.

TAM, S.W.; WORCEL, M.; WYLLIE, M. Yohimbine: a clinical review. **Pharmacology & Therapeutics**, v.91, p.215-243, 2001.

TAYLOR, P.M. Chemical restraint of the standing horse. **Equine Veterinary Journal**, v.17, p.269-273, 1985.

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.

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.

VALVERDE, A. Alpha-2 Agonists as Pain Therapy in Horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.26. p.515-532. 2010.

VARNER, D. D. Developments in stallion semen evaluation. **Theriogenology**, v. 70, p. 448-462, 2008.

WEBER, J.A.; WOODS, G.L. Transrectal ultrasonography for the evaluation of stallion accessory sex glands. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.8, p.183-190, 1993.

YONEZAWA, A.; YOSHIZUMI, M.; EBIKO, M.; AMANO, T.; KIMURA, Y.; SAKURADA, S. Long-lasting effects of yohimbine on the ejaculatory function in male dogs. **Biomedical Research**, v.26, p. 201-206, 2005.

# CAPÍTULO 1

## 1 ARTIGO

2 Artigo redigido segundo as normas da Theriogenology, ISSN: 0093-691X, ranqueada  
3 como A2 pelo QUALIS-CAPES de 2017

4 <https://www.journals.elsevier.com/theriogenology>

5 **Efeito da sedação da associação xilazina com detomidina e**  
6 **reversão com ioimbina para realização de exame andrológico em**  
7 **equinos**

8 Trinque, C.M<sup>A</sup>, Dell'Aqua Júnior, J.A<sup>A</sup>, PAPA, F.O<sup>A</sup>

9 <sup>A</sup>São Paulo State University (Unesp), School of Veterinary Medicine and Animal  
10 Science,

11 Autor correspondente Tel.: +55 14 99129-4485

12 E-mail: c.trinque@unesp.br

13 **Resumo**

14 O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da sedação utilizando xilazina associada a  
15 detomidina, (Sedacombó®) com reversão pela ioimbina (Reset® 17 ) sobre os parâmetros  
16 18 espermáticos de garanhões. Foram utilizados 5 garanhões, com idades entre 4 a 20  
17 anos, os quais foram divididos em três grupos: CONTROLE (solução fisiológica/ solução  
18 fisiológica), GRUPO1 (SEDACOMBO®/RESET®) e GRUPO 2 (solução fisiológica/  
19 RESET®). O animal foi previamente estimulado e conduzido ao tronco de contenção para  
20 aplicação, intravenosa, dos fármacos ou placebos, avaliando a ausência ou presença de  
21 sedação depois de 30 minutos da administração. Ao final, foi feita nova administração  
22 dos fármacos ou placebo com tempo de espera de 15 minutos. Em seguida, foi feito a  
23 coleta de sêmen e mensuração do tempo de ereção. O ejaculado foi analisado para:  
24 volume, concentração espermática, cinética espermática, estabilidade de membrana,  
25 potencial mitocondrial e geração de ânion superóxido por citometria de fluxo. O GRUPO  
26 2 apresentou maior volume seminal, com gel e sem gel, em relação ao controle (P<0.05),  
27 e sem gel em relação ao GRUPO 1 (P<0.05). A concentração espermática/mL foi menor  
28 (P<0.05) no GRUPO 2 em relação ao CONTROLE. O GRUPO 1 apresentou maior  
29 estabilidade de membrana e células com alto potencial de membrana mitocondrial em  
30 relação ao GRUPO 2. Os demais parâmetros (cinética e geração de ânion superóxido) não  
31 apresentaram diferença entre os grupos. Assim, pode-se concluir que a utilização da  
32 associação (SEDACOMBO®/RESET®) não altera a qualidade do sêmen.

33 Palavras-chave: garanhão, alfa 2- agonista, alfa 2- antagonista, sêmen

## 34 **1. Introdução**

35 A avaliação de garanhões, perante o aspecto reprodutivo, é dividida em etapas  
36 contendo a história com informações clínicas e reprodutivas, exame físico geral, colheita  
37 de sêmen para avaliação laboratorial e análise da genitália externa e interna  
38 (HURTGEN,1992).

39 A formação do ejaculado tem contribuição das glândulas sexuais acessórias,  
40 asbulbouretrais e próstata formam a fração pré espermática, a parte rica em  
41 espermatozoides advêm dos epidídimos; ductos deferentes e ampolas, por último as  
42 vesículas seminais são responsáveis pela porção gelatinosa, compreendendo dessa  
43 maneira, respectivamente, a primeira, segunda e terceira parte do ejaculado  
44 (MAGISTRINI et al., 2000).

45 Devido a importância das glândulas sexuais acessórias, o exame do trato  
46 reprodutivo interno é feito com a utilização da ultrassonografia a fim de obter informações  
47 de ecogenicidade e tamanho, das mesmas (POZOR e MCDONNELL, 2002), sendo que  
48 alterações no padrão fisiológico dessas podem estar correlacionadas a processo  
49 inflamatório (EDWARDS, 2008). A avaliação pode ser realizada através da palpação  
50 transretal e com exame de imagem usando a ultrassonografia (Doppler ou modo B)  
51 (CAMELA et al., 2017).

52 No entanto, as imagens obtidas através da ultrassonografia transretal podem sofrer  
53 variações entre os pares de glândulas (POZOR e MCDONNELL, 2002) e quanto ao  
54 momento da realização do exame, antes do estímulo sexual; após o estímulo sexual e  
55 depois da ejaculação (WEBER et al., 1990). O momento mais adequado para a realização  
56 do procedimento é posteriormente a colheita de sêmen, no entanto após a ejaculação a  
57 avaliação das glândulas sexuais torna-se mais difícil por alterar o diâmetro e conteúdo  
58 dessas são modificados (CHENIER, 2009).

59 Embora esteja presente há muitos anos na medicina veterinária, e de grande valia  
60 para a obtenção de dados referentes a saúde reprodutiva do animal, o exame por palpação  
61 transretal ainda não é muito utilizado, em garanhões, na rotina do médico veterinário  
62 (POZOR, 2005) e se não executado com a devida cautela pode proporcionar riscos de

63 lesões aos animais e operador (BRINSKO et al., 2011). No entanto, se realizado da  
64 maneira correta a maioria dos cavalos toleram o exame, quando estão contidos em troncos  
65 de palpação e submetidos a sedação leve (SITTER, 2014).

66 A fim de obter a contenção química do animal, faz-se uso de fármacos capazes de  
67 proporcionar tranquilização, por meio da sedação, analgesia e miorelaxamento. A classe  
68 farmacológica mais utilizada na medicina veterinária, para essa finalidade, são os alfa 2-  
69 agonistas, os quais quando utilizados permitem na realização de procedimentos cirúrgicos  
70 minimamente invasivos, assim como a realização de exames para diagnósticos  
71 diminuindo o estresse proporcionado ao animal (NANNAMORE, 2017).

72 O mecanismo de ação dos alfa 2-agonista, os quais estimulam a ação dos  
73 receptores alfa 2- adrenérgicos, desencadeando em feedback negativo para liberação de  
74 neurotransmissores como a noroepinefrina, a qual não será liberada na fenda sináptica  
75 acarretando no processo de sedação (GIOVANNITTI et al.,2015).

76 No entanto, embora a sedação seja algo positivo ao longo das avaliações, ao final  
77 dessas o animal não deverá ser locomovido até que os efeitos dos fármacos diminuam  
78 (TAYLOR, 1985). Dessa maneira, a fim de reverter, os efeitos sedativos causados pela  
79 xilazina e detomidina, classificados como alfa 2-antagonistas tendo como exemplo a  
80 ioimbina a possui seletividade para os receptores alfa 2 (BERLIN et al., 1991).

81 Há relatos na literatura que esse antagonista seletivo alfa 2 possui ação no quesito  
82 reprodutivo, em humanos, a ioimbina é usada para tratamento de disfunção erétil (TAM  
83 et al., 2001), na espécie *Crocodylus niloticus* aumentou o comportamento sexual e  
84 melhorou fertilidade (MORPUGO et al., 1992), já em hamsters foi notado tempo e  
85 número maiores de penetrações, aumento do número de ejaculações (ARTEGA et al.,  
86 2002) e um estudo com ratos de idade avançada relatou melhora no déficit sexual causado  
87 pela idade (SMITH e DAVIDSON, 1990).

88 Além disso, a diminuição dos intervalos de tempos de penetração, monta e  
89 ejaculação (SMITH et al., 1987a), melhorou no desempenho de montas, o estímulo a  
90 cópula em machos inexperientes aumento do número de ejaculações no primeiro  
91 encontro com a fêmea (CLARK et al., 1984). Enquanto na espécie canina o estímulo

92 sexual foi mais rápido e o volume do ejaculado maior após o uso de ioimbina  
93 (YONEZAWA et al., 2005).

94 Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi verificar se a sedação com  
95 xilazina e detomidina, previamente ao exame andrológico em garanhões, com reversão  
96 pela ioimbina acarretara mudanças comportamentais nos animais e na qualidade do  
97 ejaculado dos mesmos.

## 98 **2. Materiais e métodos**

99 Este projeto foi aprovado pela Comissão de ética no Uso de Animais (CEUA) da  
100 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMZV) da Universidade Estadual  
101 Paulista (Unesp), Campus Botucatu, São Paulo, sob protocolo CEUA n° 0070/2022.

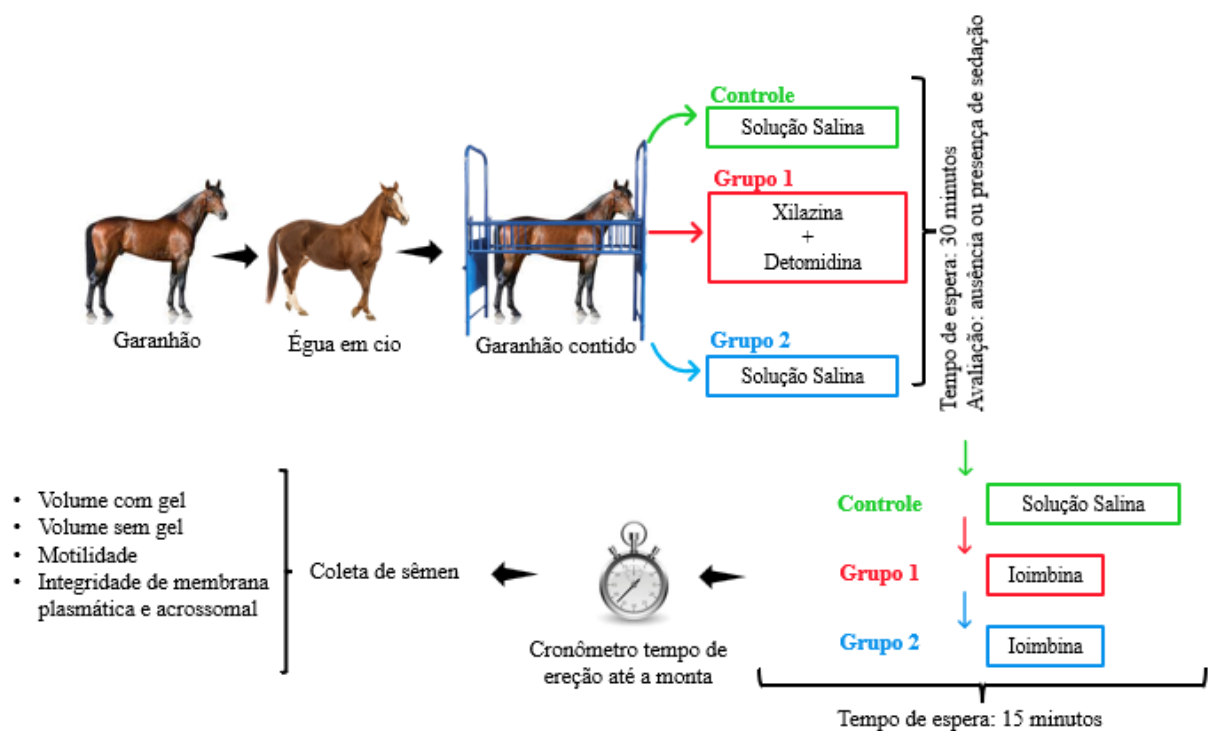
### 102 **2.1. Animais e local da pesquisa**

103 O estudo foi conduzido Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução  
104 Animal FMVZ – UNESP, Botucatu. Foram utilizados 5 garanhões, com idades entre 4 a  
105 20 anos, bom score corporal, sadios, os quais estavam em regime intensivo de criação,  
106 água e suplementação mineral ad libitum. Previamente ao experimento, os animais foram  
107 submetidos ao exame andrológico e exame complementar, descartando a existência de  
108 qualquer patologia ligada ao aparelho reprodutivo.

### 109 **2.2. Delineamento experimental**

110 Os garanhões foram colhidos, durante uma semana em dias intercalados, a fim de  
111 realizar o esgotamento da reserva espermática dos epidídimos. Foram realizados 3 grupos  
112 experimentais utilizando associações e dosagens diferentes de solução salina,  
113 SEDACOMBO® (10% de cloridrato de xilazina associado a 0,2% de cloridrato de  
114 detomidina, Botupharma Ltda., Botucatu, SP, Brasil) e RESET® (1% de cloridrato de  
115 ioimbina, Botupharma Ltda., Botucatu, SP, Brasil), sendo: controle (solução salina/  
116 solução salina); grupo 1 (SEDAOMBO®/RESET®); grupo 2 (solução salina/RESET®) de  
117 acordo com o delineamento experimental (figura 6). O garanhão era previamente  
118 estimulado, durante 10 minutos, com a utilização de égua em cio a fim de ocorrer o  
119 preenchimento das glândulas sexuais acessórias e limpeza do pênis.

120 Após esse período, o animal era conduzido ao tronco de contenção para aplicação,  
 121 intravenosa, dos fármacos ou placebos, para avaliação da presença ou ausência dos  
 122 efeitos sedativos em um período de 30 minutos depois da administração. Ao final, foi  
 123 feita nova utilização dos fármacos, ou placebo, com tempo de espera de 15 minutos, no  
 124 tronco de contenção, posteriormente a aplicação. Em seguida, os animais eram  
 125 conduzidos a coleta de sêmen e o tempo de ereção até a monta foi cronometrado. Após,  
 126 o ejaculado analisado, em laboratório, para parâmetros macroscópicos e microscópicos.  
 127 Todos os animais passaram pelo tratamento, e colheita de sêmen, três vezes em dias  
 128 intercalados durante as três semanas (Figura 6).



130 Figura 6 - Esquema do delineamento experimental, o animal era levado ao tronco,  
 131 recebia o tratamento e tempo de espera. Grupo controle: 1º placebo (1mL, Solução  
 132 Salina, IV), T1: 30 minutos, 2º placebo (1mL, solução salina, IV) e T2: 15 minutos. Grupo  
 133 1: 1º SEDACOMBO® (0,4mg/kg de xilazina e 0,008mg/kg de detomidina, IV), T1: 30  
 134 minutos, 2º RESET® (0,1mg/kg) e T2: 15 min. Grupo 2: 1º placebo (1mL, solução salina,  
 135 IV), T1: 30 minutos, 2º RESET® (0,1mg/kg) e T2: 30 minutos. Após T2 os animais

136 eram conduzidos para colheita de sêmen, o tempo de exposição do pênis era  
137 cronometrado, e o ejaculado obtido analisado de acordo com parâmetros macroscópicos  
138 e microscópicos.

### 139 ***2.3. Avaliação comportamental***

140 Avaliou-se o efeito do sedativo Sedacombo® , durante 30 minutos após aplicação.  
141 Após 15 minutos da aplicação do reversor Reset® ou placebo foi avaliado o tempo que  
142 cada animal levou para exposição do pênis.

### 143 ***2.4. Colheita e análise do sêmen***

144 Todas as colheitas foram realizadas utilizando égua em cio para estimulação sexual,  
145 manequim artificial e vagina artificial modelo Botucatu (Botupharma Ltda., Botucatu,  
146 SP, Brasil).

147 Logo após a colheita, o volume seminal total foi mensurado com a observação da  
148 graduação da proveta, em seguida o ejaculado foi filtrado para retirada da fração  
149 gelatinosa, com a utilização de um filtro de nylon e o volume mensurado novamente. O  
150 primeiro volume foi considerado o volume com gel e o segundo sem gel. O cálculo da  
151 concentração foi feito com 10 $\mu$ L de sêmen em 190 $\mu$ L de água destilada (diluição 1:20) e  
152 os lados da câmara de Neubauer, espelhada, foram preenchidos com 10 $\mu$ L da diluição. A  
153 contagem dos lados foi realizada com microscópio de contraste de fase (Jenamed 2 Zeiss,  
154 CarlZeiss®, Munique, Alemanha) com ampliação de 200x.

## 155 **2.5. Avaliação espermática**

156 As amostras foram analisadas e preparadas no Centro de Biotecnologia e Diagnóstico  
157 em Reprodução Animal (CERAN), localizado na Universidade Estadual Paulista “Júlio  
158 de Mesquita Filho” – Campus Botucatu/SP.

### 159 **2.5.1. Cinética espermática**

160 Os parâmetros de motilidade total, (MT) progressiva (MP) e porcentagem de  
161 espermatozoides rápidos (RAP) foram avaliados pelo Computer Assisted Semen  
162 Analysis, através do sistema HTR-IVOS-10 (Hamilton Thorne Research – Animal  
163 Version 12,0 L, EUA), configurado no setup de equinos como descritas em estudos  
164 anteriores (GUASTI et al., 2013).

### 165 **2.5.2. Citometria de fluxo**

166 Para a avaliação espermática por citometria de fluxo foi utilizado o equipamento  
167 BD LSR Fortessa (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA) equipado com lasers  
168 de excitação: azul 488-nm, 100 mW e filtros de emissão 530/30nm (YOPRO) e 695/40nm  
169 (MitoSOX Red); vermelho 640-nm, 40 mW com filtro 660/20 nm (MitoStatus Red); e o  
170 violeta 405-nm, 100 mW, com o filtro 450/50 nm (Hoechst). No mínimo 10.000 células  
171 por amostra foram analisadas e os dados avaliados pelo software BD FACSDiva™  
172 software v 6.1. Para tanto, as amostras foram diluídas em TALP-PVA, segundo Parrish  
173 et al. (1988) modificado: 100 mM NaCl, 3,1 mM KCl, 25,0 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0,3mM  
174 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 21,6 mM DL-lactato de sódio 60%, 2,0 mM CaCl<sub>2</sub>, 0,4 mM MgCl<sub>2</sub>, 10,0  
175 mM Hepes-livre de ácido, 1,0 mM piruvato de sódio, 1,0 mg/mL álcool polivinil-PVA e  
176 25 µg/mL gentamicina) na concentração de 5 x 10<sup>6</sup> espermatozoide/mL, suplementado  
177 com Hoescht 33342 (7µM; 145333, Sigma) para a eliminação dos detritos.

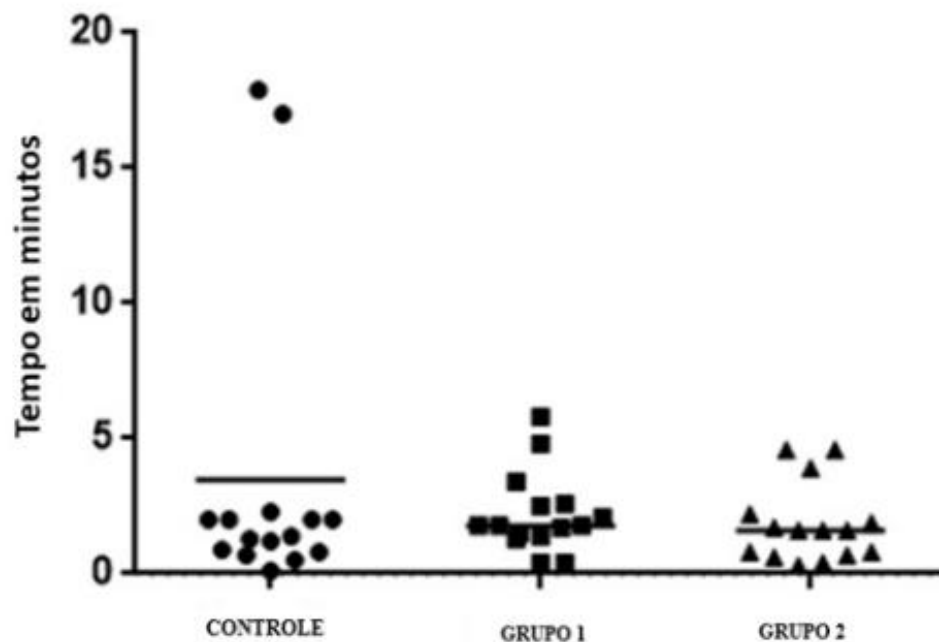
178 Para avaliação da desestabilização de membrana plasmática, potencial de membrana  
179 mitocondrial e produção de ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) na matriz mitocondrial, foi utilizada  
180 a associação de YOPRO (YP; Y3603, Life Technologies marcação para célula com  
181 membrana plasmática desestabilizada), MitoStatus Red (MST; 564697, BD Pharmigen,  
182 potencial mitocondrial) e MitoSOX™ Red (MSR; M36008, Invitrogen, geração de ânion  
183 superóxido na matriz mitocondrial), de acordo com Freitas-Dell'Aqua et al. (2018).  
184 Assim, em uma amostra de 500  $\mu$ L de sêmen diluído foram adicionados 25 nM YP, 20  
185  $\mu$ M de MST e 2  $\mu$ M de MSR, seguido por incubação a 37°C por 20 minutos.

## 186 **2.6. Estatística**

187 Os resultados das avaliações da qualidade espermática foram avaliados pelo  
188 software GraphPad Prism version 8.0.0 for Windows (GraphPad Software, San Diego,  
189 California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)”), e expressos em média e erro padrão. Todos os  
190 dados foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição  
191 normal das variáveis estudadas. Para as médias obtidas com distribuição normal, utilizou-  
192 se teste ANOVA seguida de Tukey e quando não paramétrico teste de Kruskal-Wallis  
193 segundo de Dunn.

## 194 **2.7. Resultados**

195 Não houve diferença entre os tratamentos no tempo de ereção até a monta, os animais  
196 do grupo CONTROLE (solução salina) levaram em média 1,4 minutos, no GRUPO 1  
197 (SEDACOMBO®+ RESET®) 1,8 minutos e no GRUPO 2 (solução salina + RESET®) 1,6  
198 minutos (figura 7).



199

200        Figura 7 – Mediana da avaliação do tempo que os 15 garanhões, com idades entre 4  
 201        a 20 anos, levaram para entrarem em ereção e efetuar a monta. Controle=1,4 minutos;  
 202        GRUPO 1 =1,8 minutos e; GRUPO 2=1,6 minutos. Dados não paramétricos de acordo  
 203        com o teste de Kolmogorov-Smirnov.

204        Nas avaliações macroscópicas do sêmen quando os animais receberam RESET®,  
 205        houve um aumento do volume total do ejaculado (contendo a fração gelatinosa) em  
 206        relação de quando receberam apenas solução salina. Ao ser retirado o gel, o grupo 2  
 207        manteve maior volume de plasma seminal em relação ao controle e agora também em  
 208        relação ao grupo 1. A concentração por mL foi menor durante o tratamento com  
 209        sedativos+reversor comparado ao controle. Mas a concentração total não apresentou  
 210        diferença entre os grupos (tabela 2).

211 TABELA 2- Valores médios e erro padrão dos parâmetros macroscópios do  
 212 ejaculado, volume com gel, volume sem gel, concentração/mL e concentração total. Em  
 213 15 ejaculados de 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, nos diferentes tratamentos:  
 214 CONTROLE (solução fisiológica/ solução fisiológica), GRUPO1  
 215 (SEDACOMBO®/RESET®) e GRUPO 2 (solução fisiológica/ RESET®).

	<b>CONTROLE</b>	<b>GRUPO 1</b>	<b>GRUPO 2</b>
<b>VOLUME COM GEL (mL)</b>	62,2 ± 9,98 <sup>b</sup>	67 ± 10,24 <sup>ab</sup>	103,7 ± 12, 26 <sup>a</sup>
<b>VOLUME SEM GEL (mL)</b>	51,8 ± 8,361 <sup>b</sup>	53,67 ± 8,084 <sup>b</sup>	87,4 ± 8,474 <sup>a</sup>
<b>CONCENTRAÇÃO (sptz/mL)</b>	185,3 ± 27,26 <sup>a</sup>	167,8 ± 33,78 <sup>ab</sup>	97,87 ± 11,15 <sup>b</sup>
<b>CONCENTRAÇÃO TOTAL (n°sptz)</b>	7033 ± 507,1	6639 ± 598,5	8036 ± 563,6

216 ab Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si (P<0.05)

217 Os valores de cinética, motilidade total, motilidade progressiva e número de  
 218 espermatozoides rápidos não apresentaram diferenças significativas (P> 0.05) (Tabela 3).

219 TABELA 3- Valores médios e erro padrão dos parâmetros de cinética espermática,  
 220 motilidade total, motilidade progressiva e número de espermatozoides rápidos avaliados  
 221 pela análise computadorizada do movimento espermático (CASA) em 15 ejaculados de 5  
 222 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos, nos diferentes tratamentos: CONTROLE  
 223 (solução fisiológica/ solução fisiológica), GRUPO1 (SEDACOMBO<sup>®</sup>/RESET<sup>®</sup>) e  
 224 GRUPO 2 (solução fisiológica/ RESET<sup>®</sup>), não obtiveram diferença estatística.

	<b>CONTROLE</b>	<b>GRUPO 1</b>	<b>GRUPO 2</b>
<b>MOTILIDADE TOTAL</b>	79 ± 3,2	79,9 ± 2,8	82,1 ± 1,5
<b>MOTILIDADE PROGRESSIVA</b>	31,1 ± 3,4	38 ± 3,4	36,3 ± 3,1
<b>ESPERMATOZOIDEOS RÁPIDOS</b>	72,9 ± 3,4	74,6 ± 3,3	75,7 ± 2,0

225 Na avaliação da estabilidade de membrana plasmática e potencial mitocondrial o  
 226 grupo 1 obteve maiores valores em relação ao grupo 2, mas ambos foram iguais ao  
 227 controle. Os parâmetros de qualidade do potencial mitocondrial e células com alta  
 228 geração de ânion superóxido não apresentaram diferenças entre os tratamentos (tabela 4).

229 TABELA 4- Médias  $\pm$  erro padrão dos parâmetros espermáticos de estabilidade de  
 230 membrana plasmática, potencial mitocondrial e geração de ânion superóxido avaliados  
 231 por citometria de fluxo em 15 ejaculados de 5 garanhões, com idades entre 4 a 20 anos,  
 232 nos diferentes tratamentos: CONTROLE (solução fisiológica/ solução fisiológica),  
 233 GRUPO1 (SEDACOMBO<sup>®</sup>/RESET<sup>®</sup>) e GRUPO 2 (solução fisiológica/ RESET<sup>®</sup>).

	CONTROLE	GRUPO 1	GRUPO 2
Células com membrana plasmática estável (%)	82,2 $\pm$ 2,9 <sup>ab</sup>	84 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	72,0 $\pm$ 4,4 <sup>b</sup>
Célula com alta geração de O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	16,3 $\pm$ 1,7	12,1 $\pm$ 2,7	19,8 $\pm$ 4,0
Células com alto potencial mitocondrial (%)	83,2 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	84,4 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	73,6 $\pm$ 4,1 <sup>ab</sup>
Potencial mitocondrial (UA)	2380 $\pm$ 117,7	2859 $\pm$ 406,3	3360 $\pm$ 742,6

ab Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si (P < 0.05).

### 234 **3. Discussão**

235 Este é o primeiro estudo, até o presente momento, que demonstra a ação da  
 236 aplicação da associação dos sedativos alfa 2- agonistas, xilazina + detomidina, com  
 237 reversão utilizando antagonista alfa-2, ioimbina, sobre os parâmetros espermáticos de  
 238 garanhões.

239 Apesar de bem estabelecida a ação da ioimbina, como estimulante sexual em outras  
 240 espécies, como em humanos e roedores (ERNST e PITLLER, 1998; WIBOWO et al.,  
 241 2021; MORALES, 2000), no presente estudo, o parâmetro comportamental avaliado,  
 242 exposição do pênis, não foi alterado com a utilização da ioimbina. No entanto, após a  
 243 aplicação do reversor, visualmente os animais apresentaram-se mais agitados.

244 Dessa maneira, supõe-se que a ação desse fármaco no parâmetro comportamental,  
 245 de garanhões no quesito ereção, pode estar correlacionada com outros fatores, como a

246 dosagem utilizada. Estudos anteriores, em roedores, demonstram que o número de ereções  
247 e ejaculações está interligado a dosagem farmacológica utilizada sendo inversamente  
248 proporcional (SMITH et al., 1987).

249 Outro fator que pode ter influenciado os resultados comportamentais obtidos nos  
250 grupos com a utilização de ioimbina, pode ser por esse fármaco ter ação de contratilidade  
251 na musculatura lisa por liberar o neurotransmissor norepinefrina (BIAGGIONI et  
252 al., 1994) o qual é o segundo mensageiro para realização da contração da musculatura lisa  
253 (FRELIN, 1991). Dessa maneira, o processo de ereção pode ser prejudicado pois, antes  
254 da contração da musculatura lisa peniana deve haver o relaxamento da musculatura lisa  
255 do corpo cavernoso para maior influxo sanguíneo para o pênis (LUE, 2012).

256 Os resultados encontrados na mensuração do volume dos ejaculados, com e sem a  
257 fração gelatinosa, sendo ambos maiores no grupo com ioimbina, vai de acordo com a  
258 descrição da ação desse fármaco na ejaculação, onde Yonezawa et al., 2005, ao testarem  
259 em cães descreveram que a ioimbina tem ação bloqueadora nos alfa 2-adrenoreceptores  
260 294 no sistema nervoso central, estimulando o processo de ejaculação.

261 Outro ponto que podemos correlacionar com o aumento do volume do ejaculado, é  
262 perante a ação estimulatória da ioimbina (WIBOWO et al., 2021), a qual pode ter tido  
263 ação sobre as glândulas sexuais acessórias e conseqüentemente aumento da produção de  
264 fluídos por elas. Outro fator que fortifica essa hipótese é que em humanos foi visto que a  
265 noroadrenalina tem ação de contratilidade na próstata (MARSHALL et al., 1995), sendo  
266 assim perante nossos achados, podemos supor que em garanhões esse neurotransmissor  
267 também terá ação estimulatória sobre glândulas sexuais acessórias.

268 Além disso, como visto no trabalho de Pozor e McDonnell (2002), as quais  
269 correlacionaram que a maior quantidade de fluído seminal, no ejaculado de garanhões,  
270 está ligada com a maior estimulação sexual dos animais. Dessa maneira, pode-se sugerir  
271 que uma das justificativas para a diferença dos volumes dos ejaculados, nos três grupos,  
272 CONTROLE, GRUPO 1 e GRUPO 2 seja porque o fármaco utilizado no último libera  
273 anoroadrenalina e este neurotransmissor ter potencial estimulatório sobre as glândulas  
274 sexuais acessórias.

275 Portanto, o aumento do volume, justifica a menor concentração espermática/mL, no  
276 grupo em que utilizou ioimbina, e a ausência de diferença na concentração espermática  
277 total, tornando o ejaculado mais diluído e não menos concentrado. Desse modo, é  
278 provável que as variáveis de idade e raça, as quais já foram correlacionadas com o  
279 tamanho testicular e conseqüentemente produção diária de espermatozoides (PRICKING  
280 314 et al., 2017), foram influentes numericamente na divergência das concentrações.

281 Já nosso achado, referente a ausência de divergência na motilidade entre os grupos  
282 sugere que a ação dos fármacos: xilazina, detomidina e ioimbina não afetam a motilidade  
283 espermática em garanhões. Sendo contraditório com os achados em ratos, onde Ajonuma  
284 et al, em 2017, observaram que ao utilizar durante quatro semanas a ioimbina nas  
285 concentrações de 150mg/kg e 300mg/kg corporal, a concentração e motilidade  
286 espermática foram menores nos grupos tratados com ioimbina, quando comparados ao  
287 grupo controle, sendo a maior dose a que obteve menores valores. No entanto, a  
288 longevidade espermática não foi alterada.

289 Perante a qualidade de membrana espermática, os menores resultados de  
290 estabilidade no grupo ioimbina, o qual obteve maior volume do ejaculado, pode ser

291 explicado pelo aumento da quantidade de plasma seminal nesse grupo. Uma vez que, a  
292 composição desse varia de animal para animal, podendo ter influência na sobrevivência  
293 dos espermatozoides a fatores estressantes (SKANDHAN et al., 1992). Como exemplo  
294 as elevadas concentrações de sódio e potássio influenciam negativamente a qualidade  
295 seminal por estimularem a peroxidação lipídica na membrana espermática (ALVAREZ e  
296 STOREY, 1982).

#### 297 **4. Conclusão**

298 Os efeitos da sedação, durante o exame andrológico, utilizando associação de xilazina  
299 com detomidina (Sedacombo®) e reversão por ioimbina (Reset®), nas dosagens de,  
300 respectivamente, 0,4mg/kg de xilazina + 0,008mg/kg de detomidina e 0,1mg/Kg , não  
301 interferiram negativamente sobre os parâmetros espermáticos em garanhões, sendo uma  
302 alternativa viável para contenção química dos garanhões durante a realização desse  
303 exame. Assim como o uso da ioimbina (Reset®), na dosagem de 0,1mg/Kg, não alterou  
304 o comportamento dos garanhões. Portanto, torna-se necessário o desenvolvimento de  
305 mais estudos na área utilizando dosagens diferentes do reversor, a fim de averiguar o  
306 parâmetro comportamental.

307 **5. Referências**

- 308 AJONUMA, L.C.; BAMIRO, A.S.; MAKONJUOLA, S.B.; SALAMI, M.; CAREW,  
309 E.; UMOREN, G.A.; OKOYE, I.I.; BONAVENTURE, B.C. Adverse Effects of  
310 Prolonged Use of Pausinystalia yohimbe on Sperm and Reproductive Organs in Rats.  
311 **Journal of Health, Medicine and Nursing**.v.38. p. 33-43. 2017.
- 312 ALVAREZ, J. G.; STOREY, B.T. Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal  
313 spermatozoa: its effect on sperm motility. **Biology of Reproduction**, v. 27, p. 1102-8,  
314 1982.
- 315 AMANN, R.P. Can the Fertility Potential of a Seminal Samples Be Predicted  
316 Accurately?. **Journal of Andrology**.v.10. p.89-98.1989.
- 317 ARTEGA, M.; MOTTE-LARA, J.; VELÁZQUEZ-MOCTEZUMA, J. Effects of  
318 yohimbine and apomorphine on the male sexual behaviour pattern of the golden hamster  
319 (*Mesocricetus auratus*). **European Neuropsychopharmacology**. v 12. p. 39–45.2002.
- 320 BERLIN, I.; CRESPO-LAUMONNIER, B.; COURNOT, A.; LANDAULT, C.; ENG,  
321 C.; AUBIN, F.; LEGRAND, J.C.; PUECH, A.J. The alpha 2-adrenergic receptor  
322 antagonist yohimbine inhibits epinephrine-induced platelet aggregation in healthy  
323 subjects. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**. v.49.p. 362-369. 1991.
- 324 BIAGGIONI, I.; ROBERTSON, R.M.; ROBERTSON, D. Manipulation of  
325 norepinephrine metabolism with yohimbine in the treatment of autonomic failure.  
326 **Journal of Clinical Pharmacology**. v.34. p. 418-423. 1994.
- 327 CAMELA, E.S.C.; NOCITI, R.P.; SANTOS, V.J.C.; MACENTE, B.I.; MACIEL, G.S.;  
328 FELICIANO, M.A.R.; VICENTE, W.R.R.; GILL, I.; BARTLEWSKI, P.M.; OLIVEIRA,  
329 M.E.F. Ultrasonographic characteristics of accessory sex glands and spectral Doppler  
330 indices of the internal iliac arteries in peri- and post-pubertal Dorper rams raised in a  
331 subtropical climate. **Animal Reproduction Science**. v.184. p. 29-35. 2017.
- 332 CHENIER, T.S. Anatomy and physical examination of the stallion, In: **Equine Breeding**  
333 **Management and Artificial Insemination**, J. SAMPER, W.B.2nd Ed. Saunders,  
334 Philadelphia, PA.2009.
- 335 EDWARDS, J.F. 2008. Pathologic conditions of the stallion reproductive tract. **Animal**  
336 **Reproduction Science**, v.107, p. 197–207, 2008
- 337 ERNST, E.; PITLLER, M.H. Yohimbine for erectile dysfunction: a systematic review  
338 and meta-analysis of randomized clinical trials. **The journal of Urology**, v.159. p. 433-  
339 436. 1998.
- 340 FRELIN, C. Mechanisms of vasoconstriction. **American Heart Journal**. v.121. p.958-  
341 960. 1991.
- 342 GIOVANNITTI JR, J.A.; THOMS, S.M.; CRAWFORD, J.J. Alpha-2 Adrenergic  
343 Receptor Agonists: A Review of the Current Clinical Applications. **Anesthesia Progress**.  
344 v.62.p.31-38.2015.
- 345 HURTGEN, J.P. Evaluation of the Stallion for Breeding Soundness. **Veterinary Clinics**

- 346 **of North America: Equine Practice**. v.8.p.149-165. 1992.
- 347 LUE, T.F. Physiology of Penile Erection and Pathophysiology of Erectile Dysfunction.  
348 In: WEIN, A.J.; KAVOUSSI, L.R.; CAMPBELL, M.F.; et al. **Campbell-Walsh**  
349 **Urology**. 10<sup>a</sup> ed, v.1. Philadelphia: Elsevier, 2012. p.688-720.
- 350 MAGISTRINI, M.; LINDEBERG, H.; KOSKINEN, E.; BEAU, P.; SEGUIN, F.  
351 Biophysical and 1H magnetic resonance spectroscopy characteristics of fractionated  
352 stallion ejaculates. **Journal of reproduction and fertility.Supplement**. v.56.p.101-  
353 110.2000.
- 354 MARSHALL, I.; BURT, R.P.; CHAPPLE, C.R. Noradrenaline contractions of human  
355 prostate mediated by alpha 1A-(alpha 1c-) adrenoceptor subtype.British **Journal of**  
356 **Pharmacology**. v.115. p.781-786. 1995.
- 357 METCALF, E.S. The role of international transport on equine semen on disease  
358 transmisson. **Animal Reproduction Science**. v. 68. p.229-237. 2001.
- 359 MORALES, A. Yohimbine in erectile dysfunction: the facts. **International Journal of**  
360 **Impotence Research**. v.12.p.70-74.2000.
- 361 MORPUGO, B.; ROZENBOIM, I.; ROBINZON, B. Effect of Yohimbine on the  
362 Reproductive Behavior of the Male Nile Crocodile *Crocodylus niloticus*. **Pharmacology**  
363 **Biochemistry and Behavior**, v. 43. p. 449-452. 1992.
- 364 NANNAMORE, S.; GIALLETTI, R.; VESCHINI, I.; BUFALARI, A.; MORICONI, F.  
365 The Use of Alpha-2 Agonist in the Equine Practice: Comparasion between Three  
366 Molecules. **Veterinary Reserach Communications**. v.31.p.309-312. 2007.
- 367 POZOR, M. Diagnostic applications of ultrasonography to stallion's reproductive tract.  
368 **Theriogenology**. v.64. p.505-509. 2005.
- 369 POZOR, M.A.; MCDONNELL, S.M. Ultrasonographic measurements of accessory sex  
370 glands, ampullae, and urethra of normal stallions of various size types. **Theriogenology**.  
371 v. 58. P.1425-1433. 2002.
- 372 PRICKING, S.; BOLLWEIN, H.; SPIKLER, K.; MARTINSSON, G.; SCHWEIZER.;  
373 THOMAS, S.; OLDENHOF, H.; SIEME,H. Testicular volumetry and prediction of daily  
374 sperm output in stallions by orchidometry and two- and three-dimensional sonography.  
375 **Theriogenology**. v.104. p. 149-155. 2017.
- 376 RAMPIM, O. Pharmacology of alpha-adrenoceptor in Male Sexual Function. **European**  
377 **Urology**. p. 103- 106. 1999.
- 378 SITTER, S. Palpation and Ultrasonography of the Accessory Sex Glands. **Equine**  
379 **Reproductive Procedures**. P. 466-470. 2014.
- 380 SKANDHAN, K. P. Review on copper in male reproduction and contraception. **Revue**  
381 **française de gynécologie et d'obstétrique**, v. 87, p. 594-598, 1992.
- 382 SMITH,E.;DAVIDSON, J.M. Yohimbine Attenuates Aging-Induced Sexual  
383 Deficiencies in Male Rats. **Physiology & Behavior**. v. 47. p. 631-634.1990.
- 384 SMITH, E.R.; LEE, R.L.; SCHNUR, S.L. DAVIDSON, J.M. Alpha2-Adrenoceptor

- 385 Antagonists and Male Sexual Behavior: I. Mating Behavior. **Physiology & Behavior**, v.  
386 41. p. 7-14.1987a.
- 387 SMITH, E.R.; LEE, R.L.; SCHNUR, S.L. DAVIDSON, J.M. Alpha2-adrenoceptor  
388 antagonists and male sexual behavior: II. Erectile and ejaculatory reflexes. **Physiology &**  
389 **Behavior**. v.41. p. 15-19. 1987b.
- 390 TAM, S.W.; WORCEL,M.; WYLLIE, M.Yohimbine: a clinical review. **Pharmacology**  
391 **& therapeutics**. v.91.p.215-243.2001.
- 392 WEBER, J.A.; GEARY, R.T.; WOODS, G.L. Changes in accessory sex glands of  
393 stallions after sexual preparation and ejaculation. **Journal of the American Veterinary**  
394 **Medical Association**. v.196. p. 1084-1089. 1990.
- 395 WIBOWO, D.N.S.; SOEBADI, D.M.; SOEBADI, M.A. Yohimbine as a treatment fo  
396 erectile dysfunction: A systematic review and meta-analysis. **Turkish Journal of**  
397 **Urology**. v.47.p.482-488.2021.
- 398 YONEZAWA, A.; YOSHIZUMI, M.; EBIKO, M.; AMANO, T.; KIMURA, Y.;  
399 SAKURADA, S. Long-lasting effects of yohimbine on the ejaculatory function in male  
400 dogs. **Biomedical Research**.v.26. p.201-206. 2005.