



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

FLAVIO ANTONIO BARCA JUNIOR

**CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS
TERMODINÂMICOS E HEMODINÂMICOS ESCROTAIS EM
TOUROS**

FLAVIO ANTONIO BARCA JUNIOR

**CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS
TERMODINÂMICOS E HEMODINÂMICOS ESCROTAIS EM
TOUROS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de
Londrina como requisito parcial para a obtenção do
título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda

Londrina
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do sistema de bibliotecas da uel

B242c BARCA JUNIOR, FLAVIO ANTONIO.

Caracterização dos parâmetros circulatórios da artéria supra testicular em touros através da ultrassonografia Doppler / FLAVIO ANTONIO BARCA JUNIOR. – Londrina, 2017.
76 f.: il.

Orientador: MARCELO MARCONDES SENEDA.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2017.

Inclui bibliografia.

1. Fluxo Sanguíneo – Teses. 2. Hemodinâmica. 3. Termorregulação – Teses. 3. I. SENEDA, MARCELO MARCONDES. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619:616-073

FLAVIO ANTONIO BARCA JUNIOR

**CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS
TERMODINÂMICOS E HEMODINÂMICOS ESCROTAIS EM
TOUROS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina
como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Alexandre Rossetto Garcia
Empresa Brasileira de Pesquisa - EMBRAPA
Pecuária Sudeste

Prof. Dr. Celso Koetz Junior
Universidade Norte do Paraná - UNOPAR

Prof. Dr. Marcelo George Mugai Chacur
Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

Prof. Dr. Silvio Renato Oliveira Menegassi
Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de
Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva -
NESPRO/UFRGS

Londrina, 24 de fevereiro de 2017.

Dedico este trabalho a Airam pelo apoio e
companheirismo, acima de tudo pelo amor.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida, pela inteligência e por designar meus caminhos;

Ao Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda por me receber de abraços abertos, por ser um profissional ético e uma pessoa exemplar. Pela capacidade de agregar pessoas e fazê-las conquistarem seus objetivos;

Ao Prof. Dr. Amauri Alfieri pela confiança e apoio;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina pelos conhecimentos compartilhados;

Aos funcionários da Universidade Estadual de Londrina pela dedicação e atividades diárias que permitem o funcionamento da instituição;

À banca de qualificação pelas críticas e sugestões;

À banca de defesa pela disponibilidade e colaboração;

À Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade da realização do curso de doutorado;

Ao Prof. Dr. Werner Okano pela amizade, conselhos, incentivo e apoio;

Ao Prof. Dr. Celso Koetz Junior por proporcionar, viabilizar e dividir as tarefas dos experimentos. Por compartilhar experiência e conhecimento. Pelo companheirismo e amizade.

Ao Prof. Dr. Luiz César da Silva pela compreensão e apoio;

Aos demais professores da Medicina Veterinária da UNOPAR de Arapongas pela colaboração;

Ao colega de doutorado Luis Afonso Marques Claus por ajudar a carregar o fardo sempre com disposição;

Aos acadêmicos de graduação do curso de medicina veterinária da UNOPAR de Arapongas que colaboraram na realização dos experimentos;

À UNOPAR pela permissão e pelas condições oferecidas que possibilitaram a realização do doutorado;

Aos meus pais pela educação e formação de meu caráter;

À Mariana pela compreensão dos momentos de ausência;

À Airam pela pessoa que é e por todo amor. Pelo convívio diário que me faz uma pessoa melhor. Pelo desejo de envelhecermos juntos;

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta etapa de minha vida.

“Há três caminhos para o sucesso: ensinar o que se sabe, praticar o que se ensina e perguntar o que se ignora”

Monge Beda, o venerável

BARCA JUNIOR, Flavio Antonio. **Utilização da termografia infravermelha e da ultrassonografia Doppler na avaliação da hemodinâmica testicular em touros insulados.** 2017. 77f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO 1

O objetivo deste estudo foi avaliar a dinâmica de temperatura escrotal e do fluxo sanguíneo testicular através da termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler em touros submetidos à insulação escrotal. Touros Braford ($n = 8$), considerados aptos ao exame andrológico e com 18 meses de idade foram aleatoriamente distribuídos em: grupos insulados por 72 horas (G 72, $n = 2$), por 96 horas (G 96, $n = 2$) e por 120 horas (G 120, $n = 2$) e grupo controle (CON, $n = 2$, não submetidos à insulação escrotal). A termografia infravermelha e a análise ultrassonográfica Doppler velocimétrica (velocidade, índice de pulsatilidade e índice de resistividade) foram realizadas em quatro períodos diferentes: imediatamente após o insulamento escrotal (M0), com 10 minutos (M10), 30 minutos (M30) e 60 min após a insulação escrotal (M60). Os dados foram analisados por ANOVA, Teste t (pareado) e correlação de Pearson com nível de significância de 5%. Em nenhuma das variáveis foram observadas diferenças entre os grupos insulados (G 72, G 96 e G 120, $p > 0,05$). A temperatura retal ($38,5^\circ \pm 0,4$) foi maior em relação à superfície escrotal ($32,7^\circ \pm 0,8$; $p < 0,05$) no momento da retirada da bolsa de insulação. Animais insulados apresentaram maior temperatura escrotal em M0 ($33,0^\circ \pm 0,7$) em relação aos períodos M10, M30 e M60 ($30,2^\circ \pm 1,3$; $31,6^\circ \pm 1,5$ e $30,6^\circ \pm 1,0$; respectivamente; $p < 0,05$). Não houve diferença nos índices de pulsatilidade e resistividade após os períodos de insulação escrotal. No entanto, a velocidade do fluxo sanguíneo foi maior em M10 ($17,1 \pm 4,22$) em relação aos períodos M0, M30 e M60 ($12,5 \pm 5,1$; $14,3 \pm 4,5$ e $14,3 \pm 2,9$; respectivamente; $p < 0,05$). Correlação positiva (93,1%) foi encontrada entre os índices pulsatilidade e resistividade ($P < 0,05$). A insulação escrotal resultou em alterações na temperatura do escroto e na velocidade do fluxo sanguíneo testicular, porém ambos se normalizaram em um curto espaço de tempo, sugerindo uma alta eficiência dos mecanismos termorregulatórios. Portanto, os dois métodos se apresentaram eficientes para o monitoramento da dinâmica da temperatura da superfície do escroto e do fluxo sanguíneo testicular em touros submetidos à insulação escrotal.

Palavras-chave: Adaptação de touros. Fluxo sanguíneo testicular. Termorregulação testicular.

BARCA JUNIOR, Flavio Antonio. **The uses of infrared thermography and Doppler ultrasonography to evaluate the testicular hemodynamics in insulated bulls.** 2017. 77p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT 1

The aim of this study was to evaluate the dynamics of the scrotal temperature and testicular blood flow through infrared thermography and Doppler ultrasonography in bulls submitted to scrotal insulation. Braford bulls ($n = 8$), considered approved by breeding soundness evaluation at 18 months of age were randomly assigned as following: insulated for 76 h (G 72; $n = 2$), 96 h (G 96, $n = 2$), 120 h (G 120, $n = 2$), and control animals (CON; $n = 2$) that remained without insulation during all the experimental period. Infrared thermography and Doppler ultrasonography procedures (velocity, pulsatility index and resistivity index) were performed in four different periods: immediately after the scrotal insulation (M0), within 10 min (M10), 30 min (M30) and 60 min (M60) after scrotal insulation. Data were analyzed by ANOVA, *t*-test (paired) and Pearson's correlation with significance level of 5%. None of the observed variables were difference between the insulated groups (G 72, G 96 and G 120, $p > 0.05$). The rectal temperature (38.5 ± 0.4) was higher in relation to the scrotal surface (32.7 ± 0.8 , $p < 0.05$) at the time of scrotal insulation. Insulated animals showed higher scrotal temperature in M0 (33.0 ± 0.7) compared to M10, M30 and M60 periods (30.2 ± 1.3 , 31.6 ± 1.5 and 30.6 ± 1.0 , respectively; $p < 0.05$). There was no difference in pulsatility and resistive indexes after scrotal insulation. However, blood flow velocity was higher in M10 (17.1 ± 4.22) compared to M0, M30 and M60 periods (12.5 ± 5.1 , 14.3 ± 4.5 and 14.3 ± 2.9 , respectively; $p < 0.05$). Positive correlation (93.1%) was found between pulsatility and resistivity indices ($p < 0.05$). Scrotal insulation resulted in changes in scrotal temperature and testicular blood flow velocity, but either normalized shortly after insulation removal, suggesting a high efficiency of the thermoregulatory mechanisms. Therefore, infrared thermography and Doppler ultrasonography approaches were efficient to evaluate the dynamics of the scrotal temperature and testicular blood flow in bulls submitted to scrotal insulation.

Key words: Bull's adaptation. Testicular blood flow. Testicular thermoregulation.

BARCA JUNIOR, Flavio Antonio. **Caracterização dos parâmetros hemodinâmicos escrotais em touros utilizando ultrassonografia Doppler.** 2017. 77f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

RESUMO 2

A avaliação da hemodinâmica testicular pode contribuir significativamente para a melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos de termorregulação e aporte de oxigênio do testículo de animais domésticos. O presente estudo teve como objetivo de caracterizar os parâmetros circulatórios de velocidade média (VM), índice de pulsatilidade (PI) e de resistividade (RI) da artéria supratesticular em touros, utilizando 344 touros de cinco diferentes raças avaliadas por meio de análise velocimétrica Doppler. A comparação dos dados foi realizada por ANOVA e estabelecida a correlação de Pearson, em todos os casos o nível mínimo de significância foi de 5%. A VM apresentou média geral de $12,14 \pm 5,61$ cm/s, sendo que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para raça, sendo a maior média verificada para os animais da raça Brangus ($16,28 \pm 5,50$ cm/s) e o menor valor para os animais Nelore ($8,76 \pm 2,65$ cm/s) ($p < 0,05$). O índice de resistência (RI) teve média geral de $0,41 \pm 0,14$, sendo que houve diferença significativa para as diferentes raças avaliadas ($p < 0,05$), o maior valor verificado foi em animais Hereford ($0,44 \pm 0,14$) e o menor nos Brangus ($0,36 \pm 0,11$). Os valores de PI não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) e obteve média geral de $0,33 \pm 0,16$. A correlação entre $PI \times RI$ foi alta e positiva (0,908), entre $VM \times PI$ (-0,179) e $VM \times RI$ (-0,248) foram baixas e negativas. Desta forma pode-se concluir que existe diferença na VM e RI da artéria supra testicular de touros nas diferentes raças avaliadas. Os valores apresentados podem contribuir como parâmetro para futuros estudos e também como ferramenta alternativa para diagnóstico de infertilidade em touros.

Palavras-chave: Fluxo sanguíneo testicular. Hemodinâmica. Termorregulação

BARCA JUNIOR, Flavio Antonio. **Characterization of scrotal hemodynamics in bulls using Doppler ultrasonography**. 2017. 77p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

ABSTRACT 2

Evaluation of the testicular hemodynamics can significantly contribute to understand the thermoregulatory mechanisms and oxygen supply of the testis in domestic animals. The present study aimed to characterize the circulatory dynamics by the mean velocity (MV), pulsatility (PI) and resistive (RI) indexes of the testicular artery in bulls. We evaluated 344 bulls of five different breeds by means velocimetry analysis using Doppler ultrasonography. Data were compared by ANOVA and Pearson's correlation with significance level of 5%. The overall MV of 12.14 ± 5.61 cm/s differs from breeds. In addition, we observed that Brangus animals showed higher MV (16.28 ± 5.50 cm/s) compared to Nellore (8.76 ± 2.65 cm/s) animals ($p < 0.05$). The RI had an overall mean of 0.41 ± 0.14 and differs from breeds. We observed the highest RI value in Hereford (0.44 ± 0.14) compared to Brangus (0.36 ± 0.11) animals ($p < 0.05$). Overall, the PI values did not present a significant difference ($p > 0.05$) and showed a mean of 0.33 ± 0.16 . The correlation between PI x RI was high and positive (0.908), however between MV x PI (-0.178) and MV x RI (-0.248) were low and negative. We concluded that there is difference in MV and RI of the bulls suprastesticular arteries from different evaluated breeders. Moreover, the presented values attributed to blood flow dynamics can contribute as a parameter for future studies and also to identify alternative diagnostic tools for infertility in bulls.

Key words: Testicular blood flow. HEMODYNAMICS. Termorregulation.

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO 2

Gráfico 1 -	Dispersão dos dados de fluxo sanguíneo	72
Gráfico 2 -	Dispersão dos dados e linha de tendência das correlações	74

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

TESE

Figura 1 -	Vasos sanguíneos do cordão espermático	21
Figura 2 -	Representação da angulação do transdutor	25
Figura 3 -	Artéria suprtesticular por US, modo B e Doppler	26
Figura 4 -	Imagem Doppler ilustrando box, gate e ângulo do eixo	27

ARTIGO 1

Figura 1 -	Imagem ultrassonográfica colorida Doppler	49
Figura 2 -	Imagem termográfica do escroto de touro	50

ARTIGO 2

Figura 1 -	Imagem ultrassonográfica colorida Doppler	70
-------------------	---	----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1 -	Parâmetros aferidos animais insulados e não insulados	51
-------------------	---	----

ARTIGO 2

Tabela 1 -	Parâmetros do fluxo sanguíneo da artéria testicular	71
-------------------	---	----

Tabela 2 -	Correlação linear de Pearson de VM, PI e RI	73
-------------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
c	Velocidade média do US nos tecidos
CON	Grupo controle
$\text{Cos } \theta$	Ângulo entre o eixo do vaso e do feixe sonoro do emissor
fd	Frequência Doppler
ft	Frequência transmitida
G72	Grupo insulado por 72 horas
G96	Grupo insulado por 96 horas
G120	Grupo insulado por 120 horas
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
M0	Momento imediatamente após a retirada da bolsa insuladora
M10	Momento dez minutos após a retirada da bolsa insuladora
M30	Momento trinta minutos após a retirada da bolsa insuladora
M60	Momento sessenta minutos após a retirada da bolsa insuladora
PI	Índice de pulsatilidade
PW	<i>Pulsed-wave</i> /onda pulsada
RI	Índice de resistividade
US	Ultrassom
TSO	Temperatura da superfície do escroto
v	Velocidade do objeto em relação ao emissor
VM	Velocidade média (cm/s)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	TERMORREGULAÇÃO TESTICULAR.....	19
2.2	TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA	22
2.3	ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER.....	24
3	HIPÓTESES	29
4	OBJETIVOS	30
4.1	OBJETIVO GERAL.....	30
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO	30
	REFERÊNCIAS	31
5	ARTIGOS	
5.1	ARTIGO 1 – TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA E ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER NA AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA INSULAÇÃO ESCROTAL SOBRE A DINÂMICA DO FLUXO SANGUÍNEO EM TOUROS.	35
5.2	ARTIGO 2 – CARACTERIZAÇÃO DOS PARÂMETROS CIRCULATORIOS DA ARTÉRIA SUPRA TESTICULAR EM TOUROS ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER	52
6	CONCLUSÕES	75
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	76

1 INTRODUÇÃO

Há várias décadas é conhecida e difundida a necessidade da avaliação andrológica dos touros, pelo impacto produtivo nos rebanhos. O macho tem vital importância para a exploração pecuária, e a maior quantidade de bezerros nascidos em nosso país ainda decorre da monta natural, apesar dos avanços nos últimos anos da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Estimar o potencial reprodutivo de um touro de forma fácil, rápida, confiável e padronizada é tarefa essencial para o necessário avanço produtivo do rebanho bovino. Muitos pecuaristas responsabilizam somente as fêmeas pelos insucessos reprodutivos, esquecendo ou isentando a igual participação do macho.

É evidente que o critério capacidade de se reproduzir não é o único a ser considerado no momento da seleção do reprodutor. O valor genético do animal estabelecido através de diferentes metodologias de avaliação, assim como os padrões raciais que são utilizados por criadores de animais puros de origem, são previamente observados para a escolha dos reprodutores do rebanho. Esta seleção pode ser influenciada pela oferta e necessidade de maior número de animais no rebanho, determinando, assim, maior ou menor intensidade de seleção.

Da atual demanda de touros, apenas cerca de 5% possui avaliação genética (Ferraz; Eler, 2010). Esta realidade resulta na utilização de reprodutores escolhidos somente por critério fenotípico, sem outras observações de desempenho produtivo do animal ou de sua progênie. Tais fatos salientam a pouca atenção dada ao papel reprodutivo do touro dentro do rebanho, fato este que vem a corroborar importância da avaliação andrológica.

A relação entre o potencial reprodutivo do touro e os exames realizados no exame andrológico apresentam alta correlação. Contudo, as inclusões de outros exames permitiriam uma maior acurácia na estimativa do potencial reprodutivo do indivíduo. Informações adicionais podem também contribuir para a realização do diagnóstico de uma afecção de forma mais rápida e segura e até mesmo facilitar a compreensão do processo fisiológico de termorregulação escrotal e da espermatogênese.

A termografia infravermelha atualmente é uma tecnologia muito utilizada na área da engenharia, fornecendo informações a respeito da emissão de calor das mais diferentes superfícies. Esta versátil ferramenta também vem sendo usada na área da saúde, inclusive como ferramenta de diagnóstico. Na medicina veterinária foi bastante difundida nos últimos anos, pois apresenta a possibilidade de se obter a temperatura dos animais de forma não invasiva e com contato físico mínimo, limitando-se às vezes, apenas à contenção.

A ultrassonografia tem sua utilização mais ampla junto ao trato reprodutivo da fêmea, seja pela realização do diagnóstico de gestação, pelo acompanhamento morfofuncional dos ovários ou diagnóstico de patologias. Entretanto sua utilização no macho pode ser de grande valor. Por exemplo na visualização e avaliação das glândulas acessórias ou do escroto, além da análise da simetria entre os testículos. Sua utilização no escroto é facilitada em razão da posição anatômica do mesmo, inclusive permite usar transdutores de alta frequência, gerando assim imagens de melhor definição. Trata-se de exame de fácil realização, muito versátil e de alta fidedignidade. Pode ser realizado com o animal em posição quadrupedal e contido em tronco próprio para a espécie sem a necessidade de sedação ou qualquer droga.

A termorregulação testicular é primordial para a produção de espermatozoides viáveis. Entre os diferentes mecanismos fisiológicos existentes, o mais evidente é a ação do músculo cremáster, pela percepção visual de sua contração ou relaxamento. Contudo existem outros mecanismos que atuam em sinergismo na termorregulação testicular e que não são evidentes ou passíveis de mensuração sem a utilização de equipamentos. Dentre eles, pode ser citado o sistema de contracorrente gerado pela corrente sanguínea entre a artéria testicular e o plexo pampiniforme.

Neste contexto, o desenvolvimento do presente trabalho buscou contribuir para melhor entendimento do processo de termorregulação testicular. Para viabilizar estas avaliações foram utilizadas a termografia infravermelha e a ultrassonografia colorida em sistema Doppler.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TERMORREGULAÇÃO TESTICULAR

A produção de espermatozoides viáveis depende do perfeito funcionamento dos mecanismos fisiológicos nos testículos, especialmente a termorregulação testicular, pois a produção espermática deve ocorrer a uma temperatura de 4 a 5°C inferior a temperatura corporal (Waites, 1970). Este controle de temperatura ocorre de forma conjunta através de eficientes mecanismos fisiológicos de troca de calor, tais como ação contrátil do músculo cremaster e o fluxo sanguíneo contracorrente estabelecido entre a artéria testicular e veias do plexo pampiniforme (Kastelic; Coulter; Cook, 1995; Kastelic; Cook; Coulter, 1997; Brito et al., 2004; Kastelic, 2014).

Contribuem ainda para este processo a pequena quantidade de gordura subcutânea, a alta quantidade de glândulas sudoríparas no escroto e a contração da túnica dartos que permite um espessamento localizado, alterando a área superficial e permite a maior ou menor aproximação do testículo junto a pele (Brito et al., 2002; Hafez; Hafez, 2004; Brito et al., 2004). Ainda a pele fina do escroto, a pequena quantidade de pelos e a grande quantidade de vasos subcutâneos favorecem a dissipação de calor (Kastelic, 2014).

Os testículos mais alongados, característicos dos animais zebuínos, favorecem a dissipação do calor. Este formato permite uma maior área de contato superficial com o meio externo, o que facilitaria esse processo (Bailey et al., 1996). Comparando os vasos sanguíneos entre os testículos a distribuição é simétrica, sendo em cada um deles distribuídos de forma uniforme, o que é mais vantajoso para a dissipação do calor. Podem possuir até 80 ramos vasculares com 27 penetrantes e em sua maioria na região dorsal do testículo (Paro et al., 2003).

O testículo é suspenso pelo cordão espermático, que anatomicamente é composto pela artéria testicular, veias testiculares (plexo pampiniforme), vasos linfáticos,

nervos testiculares, ducto deferente, músculo cremaster e túnica vaginal. A artéria testicular é um ramo da aorta abdominal, apresenta grande número de circunvoluções e organiza-se na forma de um cone, sendo sua base posicionada na região proximal do testículo (Figura 1). Este enovelamento pode aumentar seu comprimento entre 15 a 18 vezes, chegando a medir em média 250 cm (Viana; Borelli, 1991). Apresenta diâmetro na região proximal entre 2,5 a 4,2 mm e na porção distal de 2,2 a 2,8 mm (Hafez; Hafez, 2004; Polguy et al., 2009).

O volume de sangue através da artéria testicular é de $28,1 \pm 3,5$ mL/min, o que representa uma passagem de sangue de 1,7 litros por hora ou de aproximadamente 41 litros de sangue por dia em cada um dos testículos de um touro (Barros et al., 2011). Apresenta baixa pressão, ausência de pulso e fluxo sanguíneo constante, fato este que favorece a troca calórica junto ao plexo pampiniforme (Hosken, 1997).

O plexo pampiniforme inicia na região proximal do testículo, a partir das ramificações das grandes veias intraparenquimais, formando grande número de pequenos vasos interligados através de diversas anastomoses, circunda a artéria testicular compondo uma camada de alta densidade vascular (Figura 1), cerca de 8 a 12 cm acima ocorre a fusão destas veias para formarem a veia testicular (Polguy et al., 2011).

Na espécie bovina os testículos são pendulares e o epidídimo apresenta cabeça dorsal, corpo posterior e cauda ventral (Polguy et al., 2011). Esta característica anatômica do escroto nos bovinos proporciona uma maior área de contato da superfície do escroto com o meio ambiente, o que favorece a dissipação do calor.

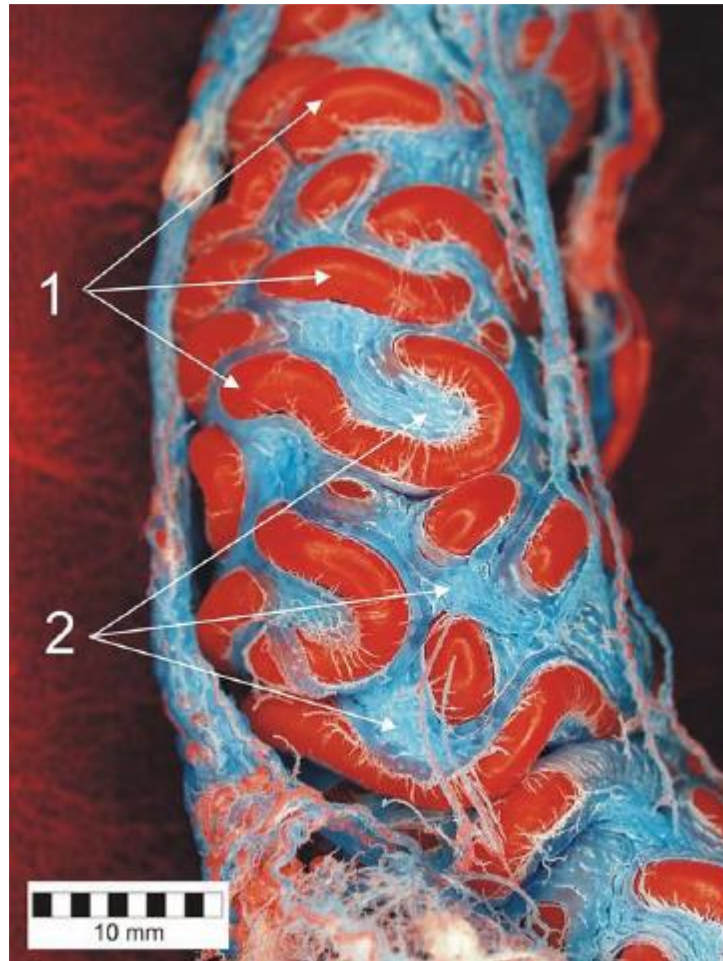


Figura 1 – Vasos sanguíneos do cordão espermático bovino

1 – Artéria testicular 2 – Plexo pampiniforme

Fonte: Polguy et al., 2011

2.2 TERMOGRAFIA INFRAVERMELHA

A termografia é uma técnica segura e moderna que visualiza o perfil térmico de um corpo, permite mensurar a sua temperatura de superfície através da emissão de calor por radiação (Knizkova et al., 2007). É realizada de forma não invasiva, indolor, sem contato físico e com alta sensibilidade ($0,025^{\circ}\text{C}$), possibilita o mapeamento térmico a partir da radiação infravermelha emitida pelo corpo, proporcional a sua temperatura. Na área da saúde é utilizada para avaliar alterações fisiológicas e funcionais nas mais diferentes áreas, como na ortopedia, odontologia, oncologia, cardiologia, endocrinologia, fisioterapia e obstetrícia (Eddy; Vanhoogmoed; Snyder, 2001; Lagüela et al., 2011; Meira et al., 2014; Roberto; Souza, 2014).

O conhecimento do princípio da termografia infravermelha remonta ao século XIX. Entretanto apenas na Segunda Guerra Mundial a termografia começou a ser efetivamente utilizada, com fins bélicos, incluindo a localização dos inimigos e a tecnologia teleguiada por calor (Rogalski, 2011).

Em virtude do desenvolvimento tecnológico, a determinação da temperatura superficial utilizando a termografia infravermelha era limitada até a década de 90 do século passado. O avanço no conhecimento permitiu a realização de termografia em tempo real, com alta performance e fidedignidade dos resultados obtidos (Mikulska, 2006).

A diferença de temperatura existente entre dois objetos faz com que haja a transferência de calor entre ambos. Esta troca pode ocorrer por radiação, convecção ou condução. A termografia infravermelha captura a radiação, emitida por todos os corpos com temperatura acima do zero absoluto, possibilitando a aferição da temperatura, sem contato com a superfície do corpo. O instrumento de medição realiza a estabilização da temperatura junto ao corpo, ao atingir o equilíbrio térmico, registra a temperatura (Lagüela et al., 2011).

O termograma depende da resolução óptica do sistema, representado pela capacidade do equipamento em distinguir dois pontos diferentes. Para a obtenção de um bom termograma deve haver contraste térmico entre o corpo e o fundo, altas sensibilidade e resolução térmica (Roberto; Souza, 2014). A emissividade, energia emitida por um corpo quando comparado a um corpo negro, assume valores entre 0 e 1 e depende da composição e textura do material, sendo ainda influenciada pela temperatura e comprimento de onda. Desta forma, cada corpo necessita de determinação prévia da emissividade para a realização do termograma. A emissividade faz a correção da leitura, que assume 100% de emissão de radiação (Rogalski, 2011; Lahiri et al., 2012).

As temperaturas obtidas por meio da termografia infravermelha são de alta acurácia. Contudo, além da emissividade, outros cuidados devem ser tomados, tais como, não

realizar os termogramas sob o sol, vento inferior a 0,2 m/s, umidade relativa do ar abaixo de 55%, evitando assim a perda de temperatura por convecção (Brioschi et al., 2009; Roberto, Souza; 2014). Fatores peculiares aos animais, tais como longos deslocamentos, ordenha, alimentação ou ruminção devem ser considerados para o sucesso na utilização desta tecnologia (Knizkova et al., 2007).

Em bovinos a termografia é utilizada em diferentes segmentos para a obtenção da temperatura superficial da pele, como ferramenta auxiliar no diagnóstico e como preditora do estado de saúde dos animais (Berry et al., 2003; Hovinen et al., 2008; Montanholi et al., 2008; Polat et al., 2010), inclusive na avaliação testicular de touros (Kastelic; Brito, 2012; Menegassi et al., 2015).

2.3 ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER

A ultrassonografia é caracterizada por ser uma técnica segura, não invasiva e que permite obter informações imediatas, sendo utilizada há vários anos com sucesso na medicina veterinária, fazendo hoje parte da rotina diária. Os primeiros relatos de utilização em animais estão relacionados a avaliação de carcaça e posteriormente para o uso em diagnóstico de gestação. Cerca de 25% da frequência de utilização da ultrassonografia na medicina veterinária é na área de reprodução de animais de produção (King, 2006) e, mais intensamente, nas fêmeas (Medan; Abd El Aty, 2010).

O princípio físico Doppler é conhecido desde 1842 e descreve as alterações de frequência de ondas sonoras refletidas quando o corpo refletor está em movimento em relação ao objeto emissor. Ao aproximar-se há um aumento de resposta (fd positivo) e ao afastar-se uma diminuição (fd negativo). A diferença do som transmitido e o refletido é denominado deslocamento de frequência Doppler (fd) (Carvalho; Chammas; Cerri, 2008).

A fórmula que determina a frequência Doppler (fd) é (Merritt, 1991):

$$fd = \frac{2 \cdot ft \cdot v \cdot \cos\theta}{c}$$

Onde:

fd: frequência Doppler

ft: frequência transmitida

v: velocidade do objeto em relação ao emissor

cos θ : cosseno do ângulo entre os eixos do vaso e do feixe sonoro

c: velocidade média do US nos tecidos (1540 m/s)

A ultrassonografia em modo B, como em sistema Doppler, é amplamente utilizada para diagnóstico. É um importante exame complementar a ser solicitado para a avaliação do

escroto (Stengel; Remer, 2008), principalmente em casos de afecções (Kastelic, 2014; Souza; Silva, 2015) e na avaliação complementar reprodutiva de touros (Kastelic; Brito, 2012). O avanço nesta tecnologia permitiu a avaliação da hemodinâmica de diferentes órgãos e tecidos, incluindo os testículos (Herzog; Bollwein, 2007).

Para a obtenção de imagens mais claras é necessário um transdutor linear com frequência de 5 a 12 MHz, posicionado perpendicularmente ao vaso de interesse (Figura 2), a fim de gerar melhor visualização da parede vascular (Gerhard-Herman et al., 2006).

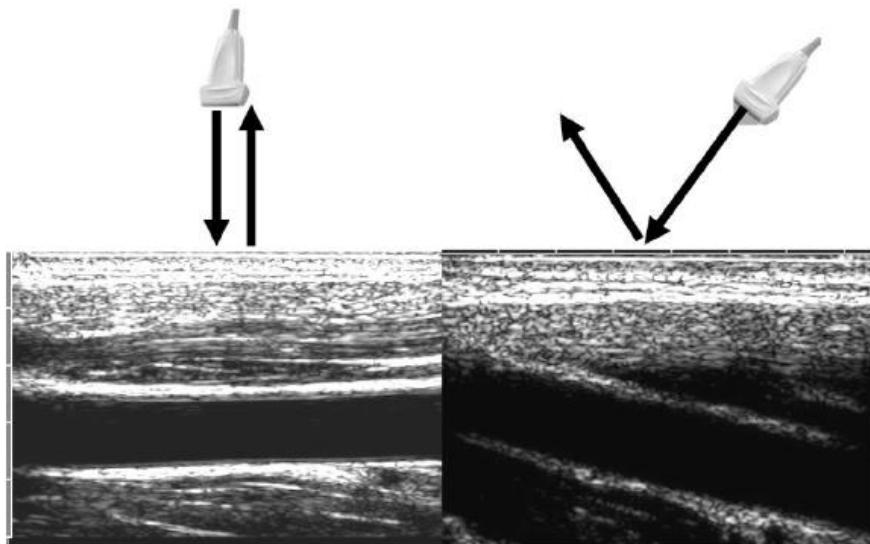


Figura 2 – Representação do ângulo ideal (90°) de posicionamento do transdutor permitindo obtenção de ecos mais claros (esquerda) e angulação incorreta (direita)

Fonte: Gerhard-Herman et al., 2006

O Doppler em sistema de onda pulsada (PW) permite a sobreposição ao modo B de uma imagem colorida gerada pela captação da onda sonora refletida por um objeto em movimento em relação a fonte de onda sonora que a emitiu. Em virtude desta característica, este sistema é útil e muito utilizado para a avaliação da irrigação sanguínea, do leito vascular e da velocidade da corrente sanguínea, onde a reflexão das ondas é feita pelas hemácias (Bascom; Cobbold, 1996; Carvalho et al., 2008).

O sistema PW avalia o fluxo sanguíneo dentro de um espaço limitado, havendo a necessidade da localização do vaso de interesse no modo B, para o posicionamento adequado na região indicada para a avaliação no sistema Doppler PW (King, 2006) (Figura 3). Quando as ondas refletidas aumentam de frequência em virtude da aproximação do objeto ocorre uma frequência Doppler positiva. Com o afastamento do objeto, há uma diminuição na frequência captada e observa-se uma frequência Doppler negativa. Esta frequência captada depende matematicamente do valor do cosseno do ângulo formado entre o eixo longitudinal do vaso e o eixo formado pelo feixe sonoro. Nas aferições realizadas, este ângulo deve ser inferior a 60° (Figura 4) (Merrit, 1991; Gerhard Herman et al., 2006; Medan; Abd El Aty, 2010).

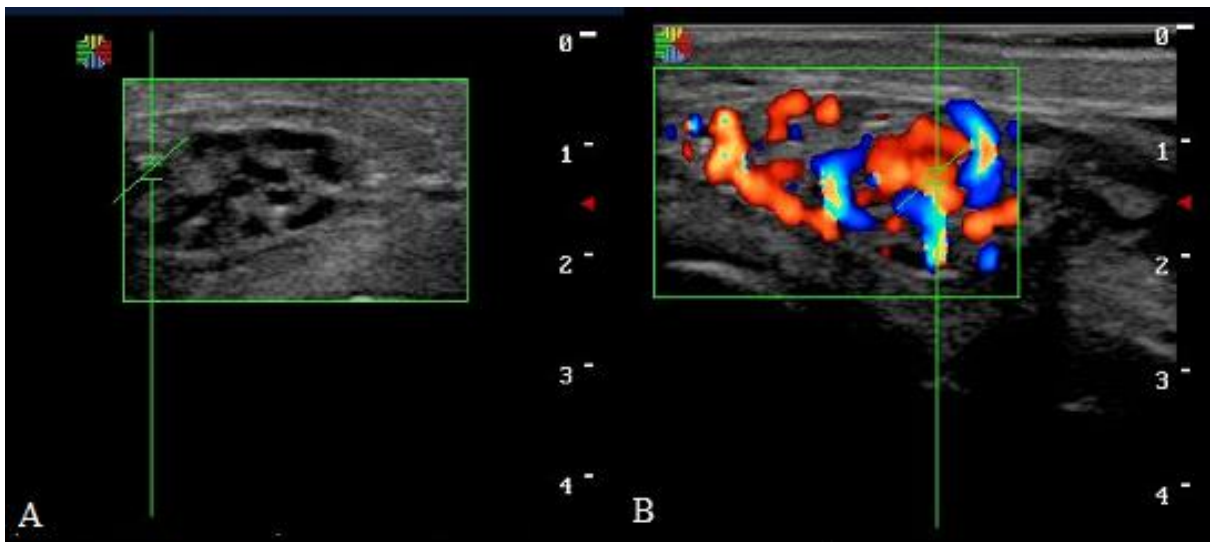


Figura 3 – Artéria supra testicular observada por ultrassonografia em modo B (A) e Doppler colorido (B)

Fonte: O autor, 2017.

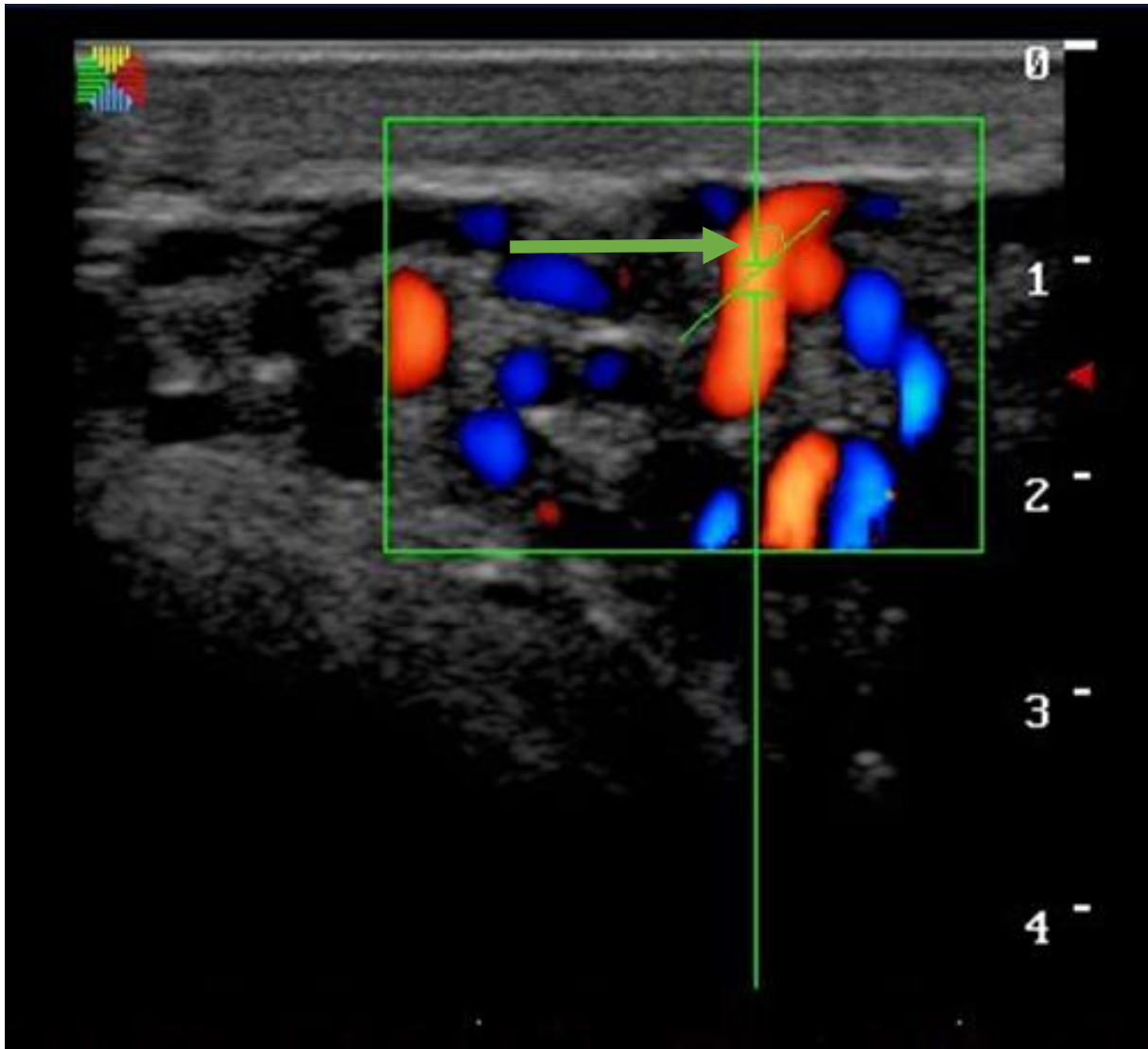


Figura 4 – Imagem ultrassonográfica colorida Doppler ilustrando área de amostragem (box) e ângulo do eixo (seta) entre o feixe Doppler (*gate*) e o eixo longitudinal do vaso sanguíneo

Fonte: O autor, 2017.

Segundo Pozor e McDonnel (2004), os índices calculados com base nos picos sistólicos e diastólicos são melhores indicadores do fluxo sanguíneo, sendo o valor de RI o de maior relevância. Além deste, outro índice que pode ser utilizado é o de pulsatilidade (PI), sendo ambos determinados pelas seguintes fórmulas (Middleton; Thorne; Melson, 1989):

$$PI = \frac{\text{Velocidade Máxima} - \text{Velocidade Mínima}}{\text{Velocidade Média}}$$

$$RI = \frac{\text{Velocidade Pico Sistólico} - \text{Velocidade Final Diástole}}{\text{Velocidade Pico Sistólico}}$$

3 HIPÓTESES

1. O aumento de temperatura do escroto por insulação provocada altera a temperatura da superfície da pele e a hemodinâmica testicular.
2. Existe diferença na hemodinâmica testicular nas diferentes raças de bovinos.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a hemodinâmica testicular em cinco diferentes raças de bovinos e verificar as alterações da temperatura e hemodinâmica do escroto em touros submetidos ao processo de insulação escrotal provocada.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a temperatura da superfície escrotal de touros submetidos a insulação escrotal provocada, utilizando a termografia infravermelha em quatro momentos: logo após a retirada da bolsa insuladora escrotal (M0), aos 10 (M10), 30 (M30) e 60 minutos (M60);
- Determinar o índice de pulsatilidade (PI), índice de resistividade (RI) e a velocidade média (VM) da artéria testicular de touros submetidos a insulação escrotal provocada, utilizando ao mapeamento ultrassonográfico Doppler em quatro momentos: logo após a retirada da bolsa insuladora escrotal (M0), aos 10 (M10), 30 (M30) e 60 minutos (M60);
- Comparar os parâmetros fisiológicos observados em touros das raças Angus, Braford, Brangus, Hereford e Nelore quanto ao índice de pulsatilidade (PI), índice de resistividade (RI) e a velocidade média (VM) da artéria testicular.

REFERÊNCIAS

- Bailey, T.L.; Monke, D.; Hudson, R.S. Wolfe, D.F.; Carson, R.L.; Riddell, M.G.. Testicular shape and its relationship to sperm production in mature Holstein bulls, *Theriogenology* , 46(5):881 – 887, 1996.
- Barros, C.M.Q.; Oba, E.; Siqueira, J.B.; Leal, L.S.; Kastelic, J.P. Efeitos da diminuição do fluxo sanguíneo testicular nas temperaturas escrotal superficial, escrotal subcutânea, intratesticular e intravascular em touros. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 35 (1): 49-54, 2011.
- Bascom, P.A.; Cobbold, R.S.. Origin of the Doppler ultrasound spectrum from blood. *IEEE Trans Biomed Eng*, 43: 562–571,1996.
- Berry, R.J.; Kennedy, A.D.; Scott, S.L.; Kyle, B.L.; Schaefer, A.L..Daily variation in the udder surface temperature of dairy cows measured by infrared thermography: potential for mastitis detection. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 687-693, 2003.
- Brioschi, M.L.; Cherem, A.J.; Ruiz, R.C.; Sardá Júnior, J.J.; Silva, F.M.R.M.. O uso da termografia infravermelha na avaliação do retorno ao trabalho em programa de reabilitação ampliado (PRA). *Acta Fisiatr.* 16(2):87-92, 2009.
- Brito, L. F. C.; Silva, A.E.D.F.; Barbosa, R.T.; Kastelic, J.P.. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology.* 61: 511-528, 2004.
- Brito, L.F.C.; Silva, A.E.D.F.; Rodrigues, L.H.; Vieira, L.H.; Deragon, L.A.G.; Kastelic, J.P. Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology.* 58:1175–86, 2002.
- Carvalho C.F.; Chammas M.C.; Cerri G.G.. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. *Ciência Rural.* 38(3):872-879, 2008.
- Eddy, A.L.; Vanhoogmoed, L.M.; Snyder, J.R..The Role of Thermography in the Management of Equine Lameness. *Veterinary of Journal*, 162:172-181, 2001.
- Ferraz, J.B.S.; Eler, J.P.. Parceria público x privada no desenvolvimento de pesquisa em melhoramento genético animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39: 216-222, 2010.

- Gerhard-Herman, M.; Gardin, J.M.; Jaff, M.; Mohler, E.; Roman, M.; Naqvi, T.Z.. Guidelines for noninvasive vascular laboratory testing: a report from the American Society of Echocardiography and the Society for Vascular Medicine and Biology, *Vasc. Med.* 11(3):183-200, 2006.
- Hafez, E.S.E.; Hafez, B. *Reprodução Animal*. 7ª ed., São Paulo: Ed. Manole, 2004. 513p.
- Herzog, K.; Bollwein, H. Application of Doppler Ultrasonography in Cattle Reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 42:51-58, 2007.
- Hosken, R.F. Anatomy and physiology of the bull's reproductive system. *Bull Inf.* 13(2):195-201, 1997.
- Hovinen, M.; Siivonen, J.; Taponen, S.; Hänninen, L.; Pastell, M.; Aisla, A.M.; Pyörälä, S.. Detection of clinical mastitis with the help of a thermal camera, *Journal of Dairy Science*, 91(12): 4592-4598, 2008.
- Kastelic, J.P.. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology*. 81:18-23, 2014.
- Kastelic, J.P.; Brito, L.F.C.. Ultrasonography for Monitoring Reproductive Function in the Bull. *Reproduction in domestic animals*. 47:45-51, 2012.
- Kastelic, J.P.; Cook, R.B.; Coulter, G.H.. Contribution of the scrotum, testes, and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. *Anim Reprod Sci*, 45:255-261, 1997.
- Kastelic, J.P.; Coulter, G.H.; Cook, R.B.. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular, and intraepididymal temperatures in bulls. *Theriogenology*. 44:147-152, 1995.
- King, A.M.. Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals, *The Veterinary Journal*, 171(3): 408-420, 2006.
- Knizkova, I.; Kunc, P.; Guzdil, G.A.K.; Pinar, Y.; Selvi, K.C.. Applications of infrared thermography in animal production. *J of Fac Agric*. 22(3):329-36, 2007.
- Lagüela, S.; González-Jorge, H.; Armesto, J.; Arias, P.. Calibration and verification of thermographic cameras for geometric measurements, *Infrared Physics & Technology*. 54(2):92-99, 2011.
- Lahiri, B.B.; Bagavathiappan, S.; Jayakumar, T.; Philip, J.. Medical applications of infrared thermography: A review, *Infrared Physics & Technology*. 55(4):221-235, 2012.
- Meira, L.F.; Krueger, E.; Neves, E.B.; Nohama, P.; Souza, M.A.. Termografia na área biomédica. *Pan Am J Med Therm*. 1(1):31-41, 2014.
- Menegassi, S.R.O.; Barcellos, J.O.J.; Dias, E.A.; Koetz Junior, C.; Pereira, G.R.; Peripolli, V.; McManus, C.; Canozzi, M.E.A.; Lopes, F.G. . Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in braford bulls. *International Journal of Biometeorology*, 59:357-364, 2015.

- Medan, M.S.; Adb El-Aty, A.M.. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction, *Journal of Advanced Research*, 1(2):123-128; 2010.
- Merritt, C.R.. Doppler US: The basics. *Radiographics*. 11(1):109-119, 1991.
- Middleton, W.D.; Thorne, D.A.; Melson, G.L.. Color Doppler ultrasound of the normal testis, *American Journal of Roentgenology*, 152(2):293-297, 1989.
- Mikulska, D.. Contemporary applications of infrared imaging in medical diagnostics. *Ann Acad Med Stetin*. 52(1): 35-9, 2006.
- Montanholi, Y.R.; Odongo, N.E.; Swanson, K.C.; Schenkel, F.S.; McBride, M.W.; Miller, S.P.. Application of infrared thermography as an indicator of heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*), *Journal of Thermal Biology*, 33(8): 468-475, 2008.
- Paro, P.H.Z.; Santos, A.L.Q.; Maximiliano Neto, A.; Paro, J.L.N.; Rodrigues, D.C.; Cruz, G.C.; Malta, T.S.; Ribeiro, F.M.; Andrada, M.B.. Estudo anatômico dos modelos vasculares das artérias testiculares em bovinos da raça Tabapuã. *Biosc. Jour.*19(1):123-132, 2003.
- Polat, B.; Colak, A.; Cengiz, M.; Yanmaz, L.E.; Oral, H.; Bastan, A.; Kaya, S.; Hayirli, A.. Sensitivity and specificity of infrared thermography in detection of subclinical mastitis in dairy cows, *Journal of Dairy Science*, 93(8): 3525-3532, 2010.
- Polguy, M.; Jedrzejewski, K.S.; Dyl, L.; Topol, M. Topographic and morphometric comparison study of the terminal part of human and bovine testicular arteries. *Folia Morphol* 68:271– 276, 2009.
- Polguy, M.; Jedrzejewski, K.S.; Dyl, L.; Topol, M.. Angioarchitecture of the bovine spermatic cord. *J Morph.* 272:497–502, 2011.
- Pozor, M.A.; McDonnell, S.M.. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions, *Theriogenology*, 61(5):799-810, 2004.
- Roberto J.V.B.; Souza B.B.. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 2(3): 73-84, 2014.
- Rogalski, A..Recent progress in infrared detector technologies, *Infrared Physics & Technology*, 54(3):136-154, 2011.
- Stengel, J.W.; Remer, E.M.. Sonography of the Scrotum: Case-Based Review, *American Journal of Roentgenology*, 190(6):S35-S41, 2008.
- Viana, W.G.; Borelli, V.. Contribuição ao estudo do funículo espermático em bovinos da raça Nelore, *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 28(1):11-17, 1991.

Waites, G.M.H.. Temperature regulation and the testis. In: Johnson, A.D.; Gomes, W.R.; Vandermark, N.L. (Eds.). The testis. London: Academic Press, 241-279, 1970.

5.1 ARTIGO 1

**Termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler na
avaliação dos efeitos da insulação escrotal sobre a dinâmica do
fluxo sanguíneo em touros**

Termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler na avaliação dos efeitos da insulação escrotal sobre a dinâmica do fluxo sanguíneo escrotal em touros.

Flávio Antônio Barca Junior¹, Celso Koetz Junior¹, Patrícia da Cruz Fávaro¹, Gabriel Ribas Pereira¹, Silvio Renato Oliveira Menegassi², Fábio Morotti³, Júlio Otávio Jardim Barcellos², Marcelo Marcondes Seneda³

¹ Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR, Araongas, PR, Brasil. ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, NESPRO/UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. ³ Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, Brasil.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a dinâmica de temperatura escrotal e do fluxo sanguíneo testicular utilizando termografia infravermelha e ultrassonografia Doppler em touros submetidos à insulação escrotal. Touros Braford (n = 8), clinicamente saudáveis e com 18 meses de idade foram, aleatoriamente, distribuídos em grupo controle (CON, n = 2, não submetidos à insulação escrotal) e grupos insulados por 72 horas (G 72, n = 2), por 96 horas (G 96, n = 2) e por 120 horas (G 120, n = 2). A termografia infravermelha e a análise ultrassonográfica Doppler velocimétrica (velocidade, índice de pulsatilidade e índice de resistividade) foram realizadas em quatro períodos diferentes: imediatamente após o insulamento escrotal (M0), com 10 minutos (M10), 30 minutos (M30) e 60 min após a insulação escrotal (M60). Os dados foram analisados por ANOVA, Teste T (pareado) e correlação de Pearson com nível de significância de 5%. Em nenhuma das variáveis foram observadas diferenças entre os grupos insulados (G 72, G 96 e G 120, $p > 0,05$). A temperatura retal ($38,49^\circ \pm 0,40$) foi maior em relação à superfície escrotal ($32,7^\circ\text{C} \pm 0,8$; $p < 0,05$). Animais insulados apresentaram maior temperatura escrotal em M0 ($33,0^\circ\text{C} \pm 0,69$) em relação aos períodos M10, M30 e M60 ($30,2^\circ\text{C} \pm 1,37$; $31,63^\circ\text{C} \pm 1,57$ e $30,65^\circ\text{C} \pm 1,04$; respectivamente; $p < 0,05$). Não houve diferença nos índices de pulsatilidade e resistividade após os períodos de insulação escrotal. No entanto, a velocidade do fluxo sanguíneo foi maior em M10 ($17,11\text{ cm/s} \pm 4,22$) em relação aos períodos M0, M30 e M60 ($12,52\text{ cm/s} \pm 5,09$; $14,27\text{ cm/s} \pm 4,94$ e $14,30\text{ cm/s} \pm 2,91$; respectivamente ($p < 0,05$). Correlação positiva (93,1%) foi encontrada entre os índices pulsatilidade e resistividade ($P < 0,05$). A insulação escrotal resultou em alterações na temperatura do escroto e na velocidade do fluxo sanguíneo testicular, porém ambos se normalizaram em um curto espaço de tempo, sugerindo uma alta eficiência dos mecanismos termorregulatórios. Portanto, os dois métodos se apresentaram eficientes para o monitoramento da dinâmica da temperatura escrotal e do fluxo sanguíneo testicular em touros submetidos à insulação escrotal.

Palavras-chave: *Stress* térmico, fluxo sanguíneo testicular, termorregulação testicular.

Infrared thermography and Doppler ultrasonography to evaluate the effects of scrotal insulation on testicular blood flow dynamics in bulls

Flávio Antônio Barca Junior¹, Celso Koetz Junior¹, Patrícia da Cruz Fávaro¹, Gabriel Ribas Pereira¹, Silvio Renato Oliveira Menegassi², Fábio Morotti³, Júlio Otávio Jardim Barcellos², Marcelo Marcondes Seneda³

¹ Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR, Araçongas, PR, Brasil. ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, NESPRO/UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. ³ Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, Brasil.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the dynamics of the scrotal temperature and testicular blood flow through infrared thermography and Doppler ultrasonography in bulls submitted to scrotal insulation. Braford bulls ($n = 8$), considered approved by breeding soundness evaluation at 18 months of age were randomly assigned as following: insulated for 76 h (G 72; $n = 2$), 96 h (G 96, $n = 2$), 120 h (G 120, $n = 2$), and control animals (CON; $n = 2$) that remained without insulation during all the experimental period. Infrared thermography and Doppler ultrasonography procedures (velocity, pulsatility index and resistivity index) were performed in four different periods: immediately after the scrotal insulation (M0), within 10 min (M10), 30 min (M30) and 60 min (M60) after scrotal insulation. Data were analyzed by ANOVA, *t*-test (paired) and Pearson's correlation with significance level of 5%. None of the observed variables were difference between the insulated groups (G 72, G 96 and G 120, $p > 0.05$). The rectal temperature (38.49 ± 0.40) was higher in relation to the scrotal surface (32.7 ± 0.8 , $p < 0.05$) at the time of scrotal insulation. Insulated animals showed higher scrotal temperature in M0 (33.0 ± 0.7) compared to M10, M30 and M60 periods (30.20 ± 1.37 , 31.63 ± 1.57 and 30.65 ± 1.04 , respectively; $p < 0.05$). There was no difference in pulsatility and resistive indexes after scrotal insulation. However, blood flow velocity was higher in M10 (17.11 ± 4.22) compared to M0, M30 and M60 periods (12.52 ± 5.09 , 14.27 ± 4.94 and 14.30 ± 2.91 , respectively; $p < 0.05$). Positive correlation (93.1%) was found between pulsatility and resistivity indices ($p < 0.05$). Scrotal insulation resulted in changes in scrotal temperature and testicular blood flow velocity, but either normalized shortly after insulation removal, suggesting a high efficiency of the thermoregulatory mechanisms. Therefore, infrared thermography and Doppler ultrasonography approaches were efficient to evaluate the dynamics of the scrotal temperature and testicular blood flow in bulls submitted to scrotal insulation.

Key words: Thermal stress, testicular blood flow, testicular thermoregulation.

Introdução

O funcionamento dos mecanismos fisiológicos nos testículos são pré-requisitos fundamentais para uma boa produção espermática. Neste contexto, a termorregulação testicular é considerada um dos principais mecanismos. Em touros a adequada produção espermática só ocorre quando os testículos são mantidos de 4 a 5 °C abaixo da temperatura corporal (Waites, 1970; Brito et al., 2004). Este controle de temperatura ocorre de forma conjunta com eficientes eventos fisiológicos de troca de calor, tal como a atividade contrátil do músculo cremáster e o fluxo sanguíneo contracorrente estabelecido entre a artéria testicular e veias do plexo pampiniforme (Kastelic et al., 1995; 1997; Brito et al., 2004; Kastelic 2014). Além do processo termorregulatório, a nutrição e o aporte de oxigênio pela circulação sanguínea também são considerados cruciais para uma boa qualidade espermática, sendo que a redução de O₂ pode ocasionar danos nas células de *Leydig*, levando a redução na quantidade de células e aumento da taxa de apoptose (Bustos-Obregon, 2007).

Clinicamente, a falha reprodutiva no macho pode se apresentar com redução na qualidade seminal devido ao baixo volume do ejaculado, alterações na concentração espermática (oligozoospermia ou azoospermia), diminuição da motilidade e vigor dos espermatozoides, bem como elevada proporção de células espermáticas com anormalidades morfológicas (Brito et al., 2002). Tais falhas comumente são encontradas nos reprodutores em que a termorregulação está comprometida (Lunstra; Coulter, 1997). No entanto, a gravidade destas alterações depende, principalmente, do tempo em que as causas de aumento da temperatura permanecem ativas (Horn et al., 1999). Em algumas situações, o mecanismo de termorregulação pode ser gravemente afetado, acarretando até mesmo na supressão completa da espermatogênese, comprometendo drasticamente a fertilidade do rebanho (Freneau et al., 2010).

A elevação da temperatura escrotal pode ocorrer tanto por ação de mecanismos fisiológicos como resultado de um processo patológico (Bustos-Obregon, 2007; Polguy; Jedrzejewski, Topol, 2010). Para realizar esta mensuração, a termografia infravermelha tem se destacado como recurso de análise para verificar diferentes nuances de temperatura da superfície avaliada. Atualmente, esta técnica tem sido empregada por não ser invasiva, em tempo real, relativamente de baixo custo e auxiliar o diagnóstico de muitas enfermidades (Knizkova et al., 2007; Chou; Yao, 2009; Alsaad et al., 2014). Adicionalmente, a dinâmica de temperaturas tem sido estudada para melhor compreensão da fisiologia de determinados órgãos. Por exemplo, touros com menor capacidade termorregulatória dos testículos,

classificados por termografia, foram associados a maior proporção de defeitos espermáticos e menor taxa de prenhez (Lunstra; Coulter, 1997; Menegassi et al., 2015).

Para uma melhor compreensão dos aspectos fisiológicos, além de ser uma excelente ferramenta diagnóstica, principalmente em casos de afecções envolvendo os testículos, a ultrassonografia tem sido utilizada na avaliação reprodutiva de touros (Kastelic; Brito, 2012). O avanço nesta tecnologia permitiu uma avaliação Doppler velocimétrica (Herzog; Bollwein, 2007), facilitando a compreensão da dinâmica sanguínea em diversos órgãos, incluindo os testículos.

A insulação do escroto provocada é a simulação do estresse calórico no escroto pelo aumento de temperatura local (Vogler et al., 1993; Brito et al., 2003). É a metodologia ideal para avaliar as alterações morfológicas e fisiológicas ocorridas no testículo em decorrência da alteração de temperatura do escroto tanto em bovinos (Pezzini et al., 2006; Fernandes et al., 2008; Carvalho et al., 2015) quanto em outras espécies (Moreira; Moura; Araújo, 2001; Garcia et al., 2010). O período de permanência dos animais em insulação testicular provocada varia de 48 a 120 horas (Vogler et al., 1993; Pezzini et al., 2006; Carvalho et al., 2015), embora Bonilla et al. (2004) não recomendam períodos inferiores a 72 horas.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a termodinâmica da temperatura da superfície do escroto e a hemodinâmica da artéria supratesticular em touros submetidos ao processo de insulação do escroto.

Material e Métodos

Local do experimento e animais

Este experimento foi realizado no mês de outubro de 2014 em uma fazenda no município de Londrina, região norte do Paraná, Brasil (latitude 23° 30' 10" e longitude 51° 14' 10"). O clima de Londrina, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa (clima subtropical úmido), apresentando médias de temperatura de 16 a 17°C no inverno (junho a setembro) e de 27 a 28°C no verão (dezembro a março), umidade relativa próximo a 75-80%, caracterizado por possuir chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno, a precipitação pluviométrica anual média é de 1400 a 1600 mm (Caviglione et al., 2000). Durante o período de insulação não ocorreu precipitação pluviométrica e a temperatura, umidade relativa e índice de temperatura e umidade (ITU) médios diários foram de $26,9 \pm 1,6^\circ\text{C}$, $57,8 \pm 9,26\%$ e $75,05 \pm 1,41$, respectivamente. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas do Comitê Institucional de Ética em Experimentação Animal e aprovado pelo processo 18656/2014/58.

O estudo foi conduzido em oito touros Braford (3/8 Nelore – 5/8 Hereford) com peso médio de $531,28 \pm 23,45$ kg, perímetro escrotal de $38,63 \pm 2,83$ cm e aos 18 meses de idade. Todos os animais foram previamente avaliados, considerados clinicamente saudáveis, sendo mantidos em pastagem com sombreamento natural cultivada de *Brachiaria brizantha* (cv. Marandú), com suplementação mineral e água *ad libitum*, durante todo o período experimental.

Delineamento experimental

Para este estudo, os animais foram distribuídos aleatoriamente por sorteio em quatro grupos distintos: grupo controle (**CON**, n = 2) que não foram submetidos à insulação escrotal, grupo insulados 1 (**G 72**, n = 2) que permaneceram por 72 horas insulados, grupo insulados 2 (**G 96**, n = 2) mantidos por 96 horas sob insulação e grupo insulados 3 (**G 120**, n = 2) com duração de 120 horas de insulação. O número de animais e o tempo de insulação foram estabelecidos segundo a literatura disponível (Vogler et al., 1993; Brito et al., 2003; Bonilla et al., 2004 e Fernandes et al.; 2008).

A insulação foi realizada com fraldas infantis descartáveis (Tamanho G, Pampers®, P&G, Brasil) recobrimdo toda a superfície do escroto dos touros, adaptado do modelo proposto por Brito et al., 2003. A fixação foi efetuada com o próprio sistema

autoadesivo da fralda, além do auxílio de esparadrapo. Imediatamente depois, as fraldas descartáveis foram recobertas e protegidas com sacos de tecido de algodão (Debruns®, BG Maturano, Brasil). As bolsas insulatórias foram colocadas nos diferentes grupos com intervalo de tempo de 24 h, iniciando pelo G120, permitindo assim que todos os grupos pudessem ter a retirada dos aparatos de insulação no mesmo dia.

A temperatura superficial do escroto de cada um dos animais foi aferida no período vespertino (13:00 – 17:00h), por um mesmo avaliador, com a utilização de termógrafo da marca FLIR modelo T440 com resolução de 0,01°C, com resolução óptica de 76.800 (320X240) pixels e coeficiente de emissão ajustado de 0,97, sendo a captura das imagens feita perpendicularmente ao escroto com distância de 1,5 metros, adaptado de Menegassi et al. (2015), com o animal em posição quadrupedal e contido em tronco coberto, a sombra, próprio para bovinos. A interpretação das imagens foi realizada com o auxílio do software Quick Report® (Flir Systems Inc, EUA) após transferência para um Ipad® (Apple Inc, EUA), utilizando como padrão a metodologia de linha para o termograma no topo e no fundo do escroto. Imediatamente depois de aferir a temperatura escrotal, a temperatura retal foi mensurada com o auxílio de termômetro clínico digital de haste flexível (Jumbo, Incoterm® Indústria de Termômetros, Brasil). As imagens foram realizadas nos animais em ordem aleatória, entretanto sempre respeitando os diferentes momentos pré-estabelecidos no delineamento experimental e o período mínimo de duas horas do animal em estação.

Logo após as imagens ultrassonográficas com Doppler foram capturadas por uma mesma equipe, composta por duas pessoas, sendo uma no posicionamento do transdutor e outra na operação do aparelho de ultrassom da marca Sonoscape modelo A6V com transdutor linear L741V (5-10 MHz), na frequência de 7,5 MHz. Este foi posicionado distalmente ao cordão espermático e junto ao parênquima testicular, permitindo uma posição perpendicular em relação a artéria supra testicular com o intuito de obter ecos mais claros. Após a captura de no mínimo quatro ciclos semelhantes, foi marcado aleatoriamente um deles, de forma manual, e assim determinada a velocidade média (VM), o índice de pulsatilidade (PI) e o índice de resistividade (RI). A avaliação ocorreu na maior porção do vaso arterial visualizado do plexo pampiniforme utilizando o sistema de escaneamento Doppler. O ângulo entre o feixe Doppler e o eixo longo para o vaso foi inferior a 60 graus (Figura 1) (Gerhard-Herman et al., 2006).

Foram colhidas imagens termográficas e de Doppler colorido em quatro diferentes momentos, sendo eles: logo após a retirada da bolsa insuladora (M0), após 10 minutos da retirada (M10), após 30 minutos (M30) e a última captura de imagens aos 60 minutos (M60).

Análise estatística

Os dados foram apresentados por estatística descritiva na forma de média \pm desvio padrão. Para a comparação entre os diferentes momentos de aferição das variáveis, tratando-se de medidas dependentes, utilizou-se o Teste t para amostras pareadas, para as demais comparações utilizou-se análise de variância. A comparação dos dados de temperatura e medidas de Doppler foi realizada pela correlação de Pearson. O nível de significância utilizado foi de 5% e os cálculos realizados com o auxílio do pacote estatístico Minitab 16.

Resultados

A análise dos dados revelou que não houve diferenças entre os animais dos grupos insulados e, portanto, os dados referentes aos grupos G72, G96 e G120 foram analisados em conjunto.

A comparação entre a temperatura retal ($38,49 \pm 0,40^{\circ}\text{C}$) e a superfície do escroto ($32,68 \pm 0,84^{\circ}\text{C}$) demonstrou diferença significativa ($p < 0,001$), sendo que o grupo controle exibiu temperatura média da superfície da pele inferior ($31,7 \pm 0,14^{\circ}\text{C}$) ($p < 0,05$) a temperatura dos animais insulados ($33,00 \pm 0,69^{\circ}\text{C}$) no momento da retirada da bolsa insuladora (M0). Neste mesmo momento, entre os grupos insulados não foi observada diferença de temperatura da superfície escrotal ($p > 0,05$).

A dinâmica da temperatura superficial do escroto nos diferentes momentos dos animais insulados está apresentada na Tabela 1, sendo observada diferença entre o M0 e os demais momentos ($p < 0,05$), mas não encontrada ($p > 0,05$) entre M10, M30 e M60 (Figura 2).

Na varredura ultrassonográfica testicular não foram observadas alterações em nenhum dos animais avaliados, sendo que na visualização do Doppler a artéria testicular foi facilmente evidenciada e exibiu um padrão anatômico tortuoso, embora não tenha gerado dificuldades para a colheita das informações, e ondas com característica monofásicas (Figura 1).

Os dados referentes ao PI e RI não apresentaram qualquer diferença ($p > 0,05$), seja entre os grupos ou entre os diferentes momentos de aferição após a insulação. Os valores médios e seus respectivos desvios padrões são visualizados na Tabela 1.

A velocidade do fluxo sanguíneo foi maior ($p < 0,05$) no M10 dos animais insulados em relação aos demais momentos e também em relação ao grupo Controle, que por sua vez foi considerado semelhante ($p > 0,05$) ao M0, M30 e M60 (Tabela 1). Entre as possíveis correlações de variáveis, com os dados dos quatro diferentes momentos, o PI e RI demonstraram estar correlacionadas ($p < 0,05$) com um coeficiente de correlação igual a 0.931.

Discussão

Durante a insulação, a temperatura escrotal atingiu valores acima do grupo Controle, mas dez minutos após o término da insulação a temperatura tornou-se estatisticamente semelhante ao grupo Controle, que não passou pelo processo de insulação provocada, observando que houve neste período, tempo suficiente para a dissipação do calor, verificada pela diminuição da temperatura da superfície do escroto no M10. Adicionalmente, o mapeamento com Doppler permitiu avaliar que a velocidade do fluxo sanguíneo nos testículos intensificou logo após a insulação, embora alterações nos parâmetros de pulsatilidade e resistividade não tenha sido encontradas entre os animais do grupo Controle e insulados. Estes achados são relevantes por reforçarem a alta capacidade termorregulatória dos testículos em restabelecer a normalidade da temperatura num curto período de tempo.

O presente estudo também destaca a termografia infravermelha e a análise velocimétrica Doppler como métodos não invasivos, de fácil aplicação e úteis para mensurar a temperatura superficial do escroto e o fluxo sanguíneo testicular em touros, assim como em outras espécies (Kutzler et al., 2011; Ramires Neto et al., 2013; Ortega-Ferrusola et al., 2014; Roberto; Souza, 2014; Cruz Junior et al., 2015).

O procedimento de insulação foi eficiente para retenção de calor, impedindo sua dissipação e promoveu um aumento da temperatura testicular nos animais testados, fato que pode ser verificado no M0 (Figura 2). Dependendo do tempo de duração, tal elevação de temperatura pode interferir na qualidade do sêmen (Kastelic et al., 1996; Brito et al., 2003; Fernandes et al., 2008; Brito et al., 2004). A partir da interrupção da injúria, representada pela bolsa insulatória, os mecanismos fisiológicos de dissipação de calor tornaram-se altamente eficientes reduzindo a temperatura escrotal em um curto período, como observado nos momentos seguintes.

A reativação dos mecanismos termorregulatórios resultou em uma maior necessidade de aporte sanguíneo, o qual tem importante papel na troca de calor no plexo pampiniforme (Kastelic, 2014). Esta maior velocidade de fluxo sanguíneo foi verificada no M10. Os menores valores médios numéricos de PI e RI ocorreram em M10 também, o que justificaria o maior fluxo sanguíneo neste mesmo momento (Batissaco et al., 2013), embora diferenças de PI e RI nos diferentes momentos não tenham sido encontradas ($p > 0,05$). Apenas a correlação entre PI e RI foi significativa e positiva com valor igual a 0,931.

O processo de insulação resulta em perdas ou prejuízos do equilíbrio homeostático de termorregulação testicular, acarretando em diversas alterações fisiológicas. No entanto, ao cessar o fator de estresse o organismo busca recuperá-lo com a maior agilidade possível (Brito et al., 2003; Setchell, 2006).

Conclusão

Considerando as variáveis avaliadas no presente estudo, podemos afirmar que a insulação escrotal por até 120 horas provocou alterações na temperatura e na velocidade do fluxo sanguíneo testicular, os mecanismos termorregulatórios foram eficientes para normalizarem tanto a temperatura escrotal, quanto à velocidade sanguínea dos testículos em tempo inferior a 30 minutos. Adicionalmente, tanto a termografia infravermelha, quanto a ultrassonografia Doppler demonstram ser métodos eficientes para o monitoramento das variáveis mensuradas da dinâmica da temperatura escrotal e do fluxo sanguíneo testicular em touros submetidos à insulação escrotal.

Referências

- Alsaad, M.; Syring, C.; Dietrich, J.; Doherr, M.G.; Gujan, T.; Steiner, A.. A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 199(2): 281-285, 2014.
- Batissaco, L.; Celeghini, E.C.C.; Pinaffi, F.L.V.; Oliveira, B.M.M.; Andrade, A.F.C.; Recalde, C.S.; Fernandes, C.B.. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 50(5): 384-395, 2013.
- Bonilla, L.; Guimaraes, J.D.; Santos, A.Q.; Borges, J.C.; Gurzoni, W.S.; Zamperlini, B.. Effect of scrotal insulation on the physical and morphologic characteristics of the bovine semen. In: *International Congress on Animal Reproduction, 2004, Porto Seguro - BA - BR. International Congress on Animal Reproduction. Belo Horizonte - MG: Colégio Brasileiro Reprodução Animal, 2004. v. 1. p. 237.*
- Bustos-Obregon, E.. Daño testicular por hipoxia simulada. *International Journal of Morphology*. 25: 173, 2007.
- Brito, L.F.C.; Silva, A.E.; Barbosa, R.T.; Unanian, M.M.; Kastelic, J.P.. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus X Bos taurus* bulls. *Animal Reproduction Science*. 79(1): 1-15, 2003.
- Brito, L.F.C.; Silva, A.E.D.F.; Rodrigues, L.H.; Vieira, L.H.; Deragon, L.A.G.; Kastelic, J.P.. Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology*. 58:1175–86, 2002.
- Brito, L.F.; Silva, A.E.; Barbosa, R.T.; Kastelic, J.P.. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology*. 61: 511-528, 2004.
- Carvalho, H. R.; Menegassi, S. R. O.; Pereira, G. R.; Dias, E. A.; Oberst, E. R.; Kappel, B.; Barcellos, J. O. J.. O uso de termografia infravermelho para avaliar os efeitos da insulação escrotal na produção de sêmen em touros sintéticos. In: *52a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2015, Belo Horizonte. 2015.*
- Caviglione, J.H.; Kiihl, L.R.B.; Caramori, P.H.; Oliveira, D.. *Cartas climáticas do Paraná. Londrina : IAPAR, 2000.*
- Chou, Y.C.; Yao, L.. Automatic diagnosis system of electrical equipment using infrared thermography, *International Conference of Soft Computing and Pattern Recognition*, p.155-160, 2009.

- Cruz Junior, C.A. Lucci, C.M.; Peripolli, V.; Tanure, C.B.; Ribeiro, L.M.C.S.; Barbosa, T.M.; Ramos, A.F.; Louvandini, H.; McManus, C.. Laser and thermographic infrared temperatures associated with heat tolerance in adult rams. *Small Ruminant Research*. 132: 86 - 91, 2015.
- Fernandes, C.E.; Dode, M.A.; Pereira, D.; Silva, A.E.. Effects of scrotal insulation in Nellore bulls (*Bos taurus indicus*) on seminal quality and its relationship with *in vitro* fertilizing ability. *Theriogenology*. 70(9): 1560-1568, 2008.
- Freneau, G.E.; Chenoweth, P.J.; Ellis, R.; Rupp, G.. Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. *Animal Reproduction Science*. 118(2-4):176-81, 2010.
- Garcia, O. S.; Vale, W. G.; Garcia, A. R.; Ribeiro, H.F.L.; Ferro, R.S.; Rolim Filho, S.T.; Sousa, E.M.. Experimental study of testicular insulation in buffalo. *Revista Veterinaria*, 21:889-891, 2010.
- Gerhard-Herman, M.; Gardin, J.M.; Jaff, M.; Mohler, E.; Roman, M.; Naqvi, T.Z.. Guidelines for noninvasive vascular laboratory testing: a report from the American Society of Echocardiography and the Society for Vascular Medicine and Biology. *Vasc Med*. 11(3): 183-200, 2006.
- Herzog, K.; Bollwein, H.. Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*. 42:51-58, 2007.
- Horn, M.M.; Moraes, J.C.F.; Galina, C.S.. Qualidade do sêmen de touros das raças Aberdeen Angus e Brangus-Ibagé em frente à degeneração testicular experimental induzida por dexametasona. *Ciência Rural*. 29(3):523-526, 1999.
- Kastelic, J.P.; Coulter, G.H.; Cook R.B.. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular, and intraepididymal temperatures in bulls. *Theriogenology*. 44: 147-152, 1995.
- Kastelic, J.P.; Brito, L.F.C.. Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. *Reproduction in Domestic Animals*. 47:45 -51, 2012.
- Kastelic, J.P.; Cook, R.B.; Coulter, G.H.; Saacke, R.G.. Insulating the scrotal neck affects semen quality and scrotal/testicular temperatures in the bull. *Theriogenology*. 45(5): 935-942, 1996.
- Kastelic, J.P.; Cook, R.B.; Coulter, G.H.. Contribution of the scrotum, testes, and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. *Animal Reproduction Science*, 45:255-261, 1997.
- Kastelic, J.P.. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology*. 81:18-23, 2014.
- Knizkova, I.; Kunc, P.; Gürdil, G.A.K; Pinar, Y.; Selvi, K.C.. Application of infrared thermography in animal production. *Journal of Faculty of Agriculture*. 22: 329-336, 2007.

- Kutzler, M.; Tyson, R.; Grimes, M.; Timm, K.. Determination of testicular blood flow in camelids using vascular casting and color pulsed-wave doppler ultrasonography. *Veterinary Medicine International*. 2011:1-7. 2011.
- Lunstra, D.D.; Coulter, G.H.. Relationship between scrotal infrared temperature patterns and natural-mating fertility in beef bulls. *Journal of Animal Science*. 75(3):767-74, 1997.
- Menegassi, S.R.O. Barcellos, J.O.; Dias, E.A.; Koetz, C.Jr.; Pereira, G.R.; Peripolli, V.; McManus, C.; Canozzi, M.E.; Lopes, F.G.. Scrotal infrared digital thermography as a predictor of seasonal effects on sperm traits in Braford bulls. *International Journal of Biometeorology*. 59:357–364; 2015.
- Minitab. 2010. *Minitab 16 statistical software*. Minitab Inc., State College, Pennsylvania, USA.
- Moreira, E.P.; Moura, A.A.A.; Araújo, A.A.. Efeitos da Insulação Escrotal sobre a Biometria Testicular e Parâmetros Seminais em Carneiros da Raça Santa Inês Criados no Estado do Ceará. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(6), 1704-1711, 2001.
- Ortega-Ferrusola, C.; Gracia-Calvo, L.A.; Ezquerra, J.; Pena, F.J.. Use of colour and spectral Doppler ultrasonography in stallion andrology. *Reproduction in Domestic Animals*. 49(4):88-96, 2014.
- Pezzini, T. G.; Sartori, R.; Silva, T. A. S. N.; McManus, C.; Mariante, A. S.. Características seminais de touros Curraleiros e Holandeses submetidos à insulação escrotal. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(5):863-868, 2006.
- Polguy, M.; Jedrzejewski, K.S.; Topol, M.. Arterial supply of human and bovine testes: a topographic and morphometric comparison study. *Folia morphologica* 69 (4): 225 -231, 2010.
- Ramires Neto, C. Monteiro, G.A.; Delfiol, D.J.Z.; Farras, M.C.; Dell'aqua Jr., J.A.; Papa, F.O.; Alvarenga, M.A.. The relationships between scrotal surface temperature, age and sperm quality in stallions. *Livestock Science*. 157:358-363, 2013.
- Roberto, J.V.B.; Souza, B.B.. Utilização da termografia de infravermelho na medicina veterinária e na produção animal. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 2(3): 73-84, 2014.
- Setchell, B.P.. The effects of heat on the testes of mammals. *Animal Reproduction*. 3(2):81-91, 2006.
- Vogler, C.J.; Bame, J.H.; DeJarnette, J.M.; McGilliard, M.L.; Saacke, R.G.. Effects of elevated testicular temperature on morphology characteristics of ejaculated spermatozoa in the bovine. *Theriogenology*. 40(6):1207-1219, 1993.
- Waites, G.M.H.. Temperature regulation and the testis. In: Johnson, A.D.; Gomes, W.R.; Vandermark, N.L. (Eds.). *The testis*. London: Academic Press, 241-279, 1970.



Figura 1 – Análise Doppler velocimétrica da artéria suprategicular de touro Braford apresentando padrão de ondas monofásicas

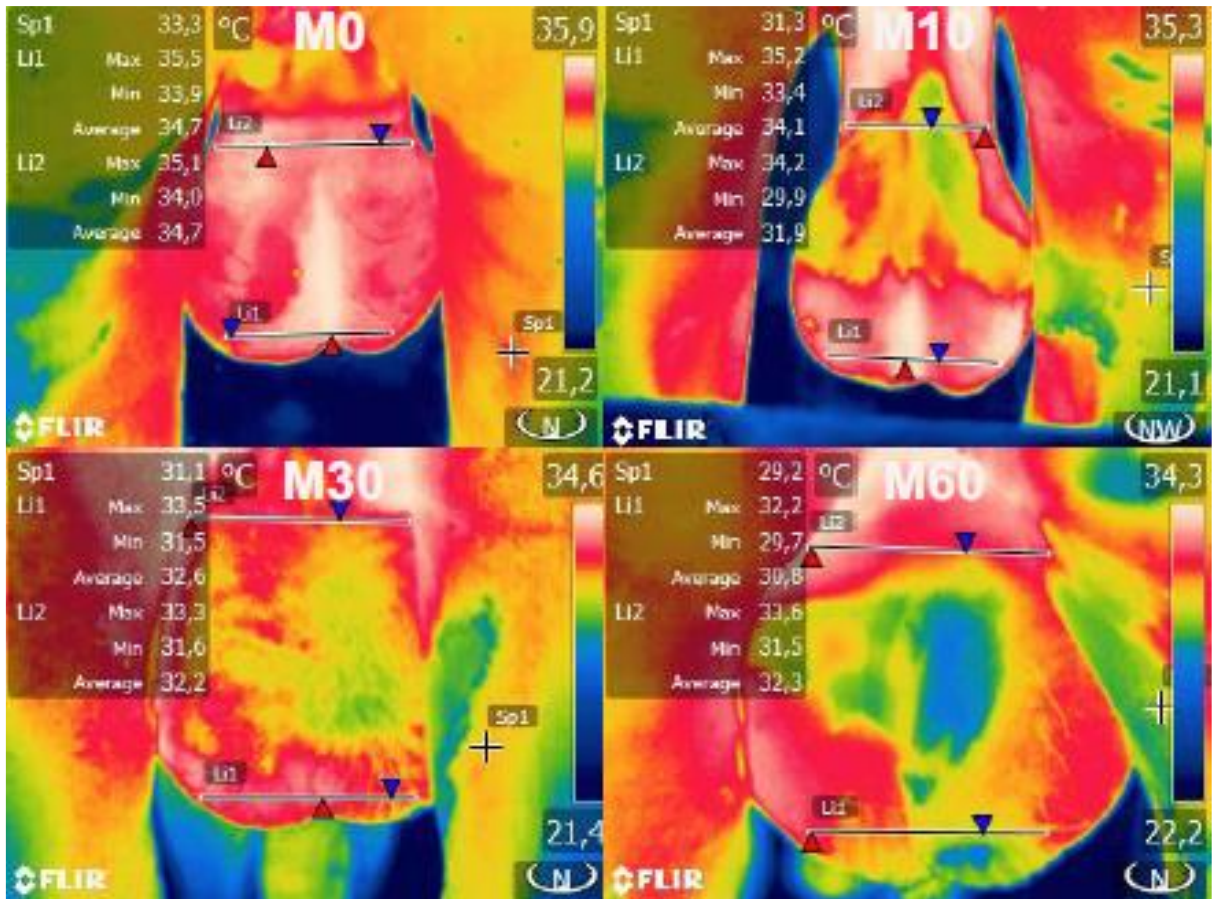


Figura 2 – Imagem termográfica do escroto de touro Braford nos diferentes momentos de avaliação (M0, M10, M30 e M60), áreas vermelhas apresentam temperatura superior quando comparadas as amarelas, verdes ou azuis

Tabela 1 – Temperatura da superfície do escroto (TSO), índice de pulsatilidade (PI), índice de resistividade (RI) e velocidade média (VM) em diferentes momentos após a insulação ou não (Controle) de touros Braford

Grupo	TSO (°C)	PI	RI	VM (cm/s)
Controle (M0)	31,07 ± 0,14 ^a	0,25 ± 0,06 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	13,09 ± 0,19 ^a
M0*	33,00 ± 0,69 ^b	0,41 ± 0,13 ^a	0,41 ± 0,11 ^a	12,52 ± 5,09 ^a
M10*	30,20 ± 1,37 ^a	0,23 ± 0,10 ^a	0,28 ± 0,06 ^a	17,11 ± 4,22 ^b
M30*	31,63 ± 1,57 ^a	0,26 ± 0,11 ^a	0,30 ± 0,09 ^a	14,27 ± 4,94 ^a
M60*	30,65 ± 1,04 ^a	0,30 ± 0,15 ^a	0,33 ± 0,14 ^a	14,30 ± 2,91 ^a

Letras minúsculas sobrescritas numa mesma coluna indica diferença estatística (p<0,05)

* Grupo de animais insulados

5.2 ARTIGO 2

Caracterização dos parâmetros circulatórios da artéria supra testicular em touros através da ultrassonografia Doppler

Caracterização dos parâmetros circulatórios da artéria supratesticular em touros através da ultrassonografia Doppler

Flávio Antônio Barca Junior¹, Celso Koetz Junior¹, Patrícia da Cruz Fávaro¹, Gabriel Ribas Pereira¹, Silvio Renato Oliveira Menegassi², Fábio Morotti³, Júlio Otávio Jardim Barcellos², Marcelo Marcondes Seneda³

¹ Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR, Araçongas, PR, Brasil. ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, NESPRO/UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. ³ Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, Brasil.

Resumo

A hemodinâmica testicular pode contribuir para a melhor compreensão dos mecanismos fisiológicos de termorregulação, nutrição e aporte de oxigênio do testículo, sendo imprescindível valores de referência para isto. O presente estudo teve como objetivo de caracterizar os parâmetros circulatórios de velocidade média (VM), índice de pulsatilidade (PI) e de resistividade (RI) da artéria testicular em touros, utilizando 344 touros de cinco diferentes raças avaliadas por meio de análise velocimétrica Doppler. A comparação dos dados foi realizada por ANOVA e estabelecida a correlação linear de Pearson, em todos os casos o nível mínimo de significância foi de 5%. A VM apresentou média geral de $12,14 \pm 5,61$ cm/s, sendo que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para raça, sendo a maior média verificada para os animais da raça Brangus ($16,28 \pm 5,50$ cm/s) e o menor valor para os animais Nelore ($8,76 \pm 2,65$ cm/s). O índice de resistência (RI) teve média geral de $0,41 \pm 0,14$, sendo que houve diferença significativa para as diferentes raças avaliadas ($p < 0,05$), o maior valor verificado foi em animais Hereford ($0,44 \pm 0,14$) e o menor nos Brangus ($0,36 \pm 0,11$). Os valores de PI não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) e obteve média geral de $0,33 \pm 0,16$. A correlação entre PIxRI foi alta e positiva (0,908), entre VMxPI (-0,179) e VMxRI (-0,248) foram baixas e negativas. Desta forma pode-se concluir que existe diferença na VM e RI da artéria supra testicular de touros nas diferentes raças avaliadas. Os valores apresentados podem contribuir como parâmetro para futuros estudos e também para o diagnóstico de afecções.

Palavras-chave: fluxo sanguíneo testicular, índice de resistividade, termorregulação

The uses of infrared thermography and Doppler ultrasonography to evaluate the effects of scrotal insulation on testicular blood flow dynamics in bulls

Flávio Antônio Barca Junior¹, Celso Koetz Junior¹, Patrícia da Cruz Fávaro¹, Gabriel Ribas Pereira¹, Silvio Renato Oliveira Menegassi², Fábio Morotti³, Júlio Otávio Jardim Barcellos², Marcelo Marcondes Seneda³

¹ Universidade do Norte do Paraná, UNOPAR, Araçongas, PR, Brasil. ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, NESPRO/UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. ³ Laboratório de Reprodução Animal, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, Brasil.

Abstract

Evaluation of the testicular hemodynamics can significantly contribute to understand the thermoregulatory mechanisms and oxygen supply of the testis in domestic animals. The present study aimed to characterize the circulatory dynamics by the mean velocity (MV), pulsatility (PI) and resistive (RI) indexes of the testicular artery in bulls. We evaluated 344 bulls of five different breeds by means velocimetry analysis using Doppler ultrasonography. Data were compared by ANOVA and Pearson's linear correlation with significance level of 5%. The overall MV of 12.14 ± 5.61 cm/s differs from breeds. In addition, we observed that Brangus animals showed higher MV (16.28 ± 5.50 cm/s) compared to Nellore (8.76 ± 2.65 cm/s) animals ($p < 0.05$). The RI had an overall mean of 0.41 ± 0.14 and differs from breeds. We observed the highest RI value in Hereford (0.44 ± 0.14) compared to Brangus (0.36 ± 0.11) animals ($p < 0.05$). Overall, the PI values did not present a significant difference ($p > 0.05$) and showed a mean of 0.33 ± 0.16 . The correlation between PI x RI (0.908) was high and positive, however between MV x PI (-0.179) and MV x RI (-0.248) were low and negative. We concluded that there is difference in MV and RI of the bulls suprastesticular arteries from different evaluated breeders. Moreover, the presented values attributed to blood flow dynamics can contribute as a parameter for future studies and also to identify alternative diagnostic tools for infertility in bulls.

Key words: Testicular blood flow, resistivity index, termorregulation.

Introdução

A ultrassonografia é uma técnica segura, não invasiva e que permite obter informações imediatas em movimento de estruturas e órgãos internos. Os primeiros relatos de utilização foram em avaliação de carcaça e posteriormente em diagnóstico de gestação. Cerca de 25% da utilização da ultrassonografia na Medicina Veterinária é na área de reprodução de animais de produção (King, 2006), mais intensamente nas fêmeas (Medan; Abd El Aty, 2010).

Um importante exame complementar a ser solicitado para a avaliação do escroto é a ultrassonografia (Stengel; Remer, 2008) principalmente em casos de afecções (Kastelic, 2014; Souza; Silva, 2015), especialmente na avaliação complementar reprodutiva de touros (Kastelic; Brito, 2012). O Doppler em sistema de onda pulsada (PW) associado ao color Doppler é utilizado para a avaliação da irrigação sanguínea, do leito vascular e da velocidade da corrente sanguínea (Bascom; Cobbold, 1996; Carvalho et al., 2008). Permite inclusive avaliação da hemodinâmica de diferentes órgãos e tecidos, incluindo os testículos (Herzog; Bollwein, 2007).

Em humanos, a ultrassonografia Doppler tem sido utilizada na avaliação da hemodinâmica testicular (Karaca et al., 2016) e de diferentes afecções tais como varicocele (Belay et al., 2016; Mahdavi et al., 2016), torção testicular (Sharp; Kieran; Arlen, 2013), neoplasias (Bernardo et al., 2016; Bertolotto et al., 2015) e azoospermia com vascularização normal ou alterada (Khater; Gharib, 2015) entre outras (Patil; Shetty; Das, 2015; Bittner et al., 2016; Mahafza et al., 2016; Nicola et al., 2016).

A produção de espermatozoides viáveis depende dos mecanismos fisiológicos testiculares, especialmente a termorregulação pois a temperatura do escroto deve ser mantida de 4 a 5 °C abaixo da temperatura corporal (Waites, 1970; Brito et al., 2004). Este controle ocorre pela ação contrátil do músculo cremaster e do fluxo sanguíneo (Kastelic; Coulter; Cook, 1995; Kastelic; Cook; Coulter, 1997; Brito et al., 2004; Kastelic, 2014). Contribuem também para a termorregulação a pequena quantidade de gordura subcutânea e a alta quantidade de glândulas sudoríparas da pele que recobre os testículos, além da túnica dartos (Brito et al., 2002; Hafez; Hafez, 2004; Brito et al., 2004).

A artéria testicular apresenta grande número de circunvoluções, o que aumenta seu comprimento entre 15 a 18 vezes, medindo em média 250 cm (Viana; Borelli, 1991). Apresenta diâmetro na região proximal entre 2,5 a 4,2 mm e na porção distal de 2,2 a 2,8 mm (Hafez; Hafez, 2004; Polguy et al., 2009). O plexo pampiniforme forma-se a partir das ramificações das grandes veias intraparenquimais, formando grande número de pequenos vasos interligados por diversas anastomoses. Este plexo circunda a artéria testicular, compondo

uma camada de alta densidade vascular o que possibilita a troca de calor pelo sistema de contra corrente (Polguy et al., 2011).

O fluxo sanguíneo estabelece assim, além da função de aporte de oxigênio e nutrientes, importante papel fisiológico no controle de temperatura testicular. Entretanto pouco se sabe, nos bovinos, a respeito dos parâmetros fisiológicos referentes a hemodinâmica testicular. Este conhecimento pode futuramente contribuir para a melhor compreensão da termorregulação testicular.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar os parâmetros circulatórios de velocidade média (VM), índice de pulsatilidade (PI) e resistividade (RI) por meio da análise Doppler velocimétrica triplex da artéria testicular em bovinos das raças Angus, Brangus, Braford, Hereford e Nelore.

Material e Métodos

Local do experimento

Este experimento foi realizado em oito diferentes propriedades localizadas nos municípios de Arapongas e Londrina no estado do Paraná, Videira em Santa Catarina, Dom Pedrito e Camaquã no Rio Grande do Sul, Maracaju no Mato Grosso do Sul, Porto Nacional em Tocantins e Santo Antonio de Leverger no Mato Grosso. O clima dos municípios de Arapongas, Camaquã, Dom Pedrito e Londrina segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa (clima subtropical úmido) caracterizado por possuir chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno. Já os municípios de Maracajú, Porto Nacional e Santo Antonio de Leverger o clima é classificado como Aw (tropical quente e úmido), com duas estações bem definidas e máximas de chuva no verão. Videira possui clima Cfb (subtropical úmido com verão ameno) (IBGE, 2016). As coletas de informações foram realizadas em dias sem precipitação pluviométrica. Nas seguintes datas e condições climáticas médias: Arapongas em 05/04/2016 período da tarde, temperatura de 25,8°C, 66% de UR e ITU de 74,14; Camaquã em 13/01/2017 período da manhã, temperatura de 22,1°C, 84% de UR e ITU de 70,38; Dom Pedrito 12/01/2017 período da manhã, temperatura de 21,7°C, 82% de UR e ITU de 69,81; Londrina em 25/09/2015 período da tarde, temperatura de 25,4°C, 74% de UR e ITU de 74,17; Maracaju em 13/11/2014 no decorrer do dia todo, temperatura de 28,4°C, 78% de UR e ITU de 73,73; Porto Nacional em 14/01/2016 no decorrer do dia, temperatura de 28,2°C, 75% de UR e ITU de 78,04; Santo Antonio do Leverger em 11/11/2014 no período da manhã, temperatura de 32,6°C, 63% de UR e ITU de 82,99 e Videira em 07/04/2016 período da manhã, temperatura de 23,6°C, 77% de UR e ITU de 75,33. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas do Comitê Institucional de Ética em Experimentação Animal e aprovado pelo processo 18656/2014/58.

Animais

Foram utilizados 344 touros, dos quais 57 da raça Angus (Arapongas/Maracaju/Videira), 104 Braford (Londrina/Porto Nacional/Santo Antonio de Leverger), 29 Brangus (Maracaju), 109 Hereford (Camaquã/Dom Pedrito/Videira) e 45 Nelore (Porto Nacional). Com idade entre dois e sete anos, mantidos em suas respectivas propriedades em condições extensivas de criação. Os animais foram avaliados uma única vez no decorrer do período experimental sempre do lado esquerdo, em virtude da maior facilidade na mensuração.

No momento da avaliação todos os animais estavam clinicamente saudáveis, sem alterações no escroto. Para a realização do exame, foi observado um período mínimo de duas horas de descanso dos animais antes da avaliação. Os animais foram mantidos em posição quadrupedal em tronco próprio de contenção para bovinos, sem sedação ou tranquilização.

Ultrassonografia

As imagens de Doppler foram captadas sempre por uma equipe de dois operadores, o primeiro para a realização da insonação e o segundo operando o equipamento de ultrassom da marca Sonoscape modelo A6V. O transdutor linear L741V (5-10 MHz) na frequência de 7,5 MHz foi posicionado distalmente ao cordão espermático e junto ao parênquima testicular, definindo assim uma posição anatômica fixa para todos os animais, permitindo obter uma posição perpendicular em relação à artéria supratesticular com o intuito de obter ecos mais claros. Foi aplicado gel sobre a superfície da pele no local determinado e com a mínima pressão necessária, iniciou-se a varredura no modo B. Assim que identificada a artéria supratesticular foi ativado o sistema colorido Doppler. Em seguida, ativou-se o modo PW (*Pulsed-Wave*) para efetuar a captura de, no mínimo, quatro ciclos cardíacos. A imagem era, então, congelada e demarcava-se manualmente um dos ciclos de forma completa, para a obtenção dos parâmetros escolhidos.

As aferições ocorreram sempre na maior porção do vaso arterial visualizado junto ao plexo pampiniforme. Em todas as medidas realizadas, o ângulo de insonação do Doppler e o eixo longitudinal do vaso nunca foi superior a 60°, buscando evitar a subestimação do pico sistólico (Merrit, 1991; Gerhard Herman et al., 2006; Medan; Abd El Aty, 2010). As informações registradas foram a velocidade média (VM) (cm/s), o índice de pulsatilidade (PI) e o índice de resistividade (RI).

O índice de pulsatilidade (PI) foi determinado pela velocidade máxima do fluxo sanguíneo menos a velocidade mínima, dividido pela velocidade média. Já o índice de resistividade (RI) foi obtido pela subtração da velocidade no pico sistólico da velocidade final da diástole, dividido pela velocidade do pico de sístole (Middleton; Thorne; Melson, 1989), cujos valores já eram determinados e apresentados pelo equipamento utilizado.

Análise estatística

Os dados coletados foram apresentados por estatística descritiva na forma de média e desvio padrão, para os dados em conjunto e também para cada uma das raças avaliadas. Para a comparação entre as diferentes raças utilizou-se análise de variância (ANOVA) após a verificação dos pressupostos necessários. Como teste de média foi utilizado teste de Tukey. Foi estabelecida a correlação de Pearson para as três variáveis mensuradas (VM, PI, RI). O nível mínimo de significância utilizado foi de 5% e os cálculos foram realizados com o auxílio do pacote estatístico R (R Core Team, 2014).

Resultados

Em todos os casos a artéria testicular foi facilmente evidenciada utilizando o modo Doppler, exibindo padrão tortuoso, embora isto não tenha gerado dificuldades para a captura dos ciclos que apresentaram característica monofásica (Figura 1).

A velocidade média do fluxo sanguíneo, independente da raça (Gráfico 1A), apresentou média geral de $12,14 \pm 5,61$ cm/s, ao considerar a raça do animal observou-se diferença significativa ($p < 0,001$), sendo a maior média para os animais da raça Brangus ($16,28 \pm 5,50$) e o menor valor para os animais Nelore ($8,76 \pm 2,65$), informações estas apresentadas na Tabela 1.

O valor médio para o índice de pulsatilidade (PI) foi de $0,33 \pm 0,16$ considerando os animais independentemente da raça (Gráfico 1B), a análise dos dados não demonstrou diferença significativa para as diferentes raças avaliadas ($p = 0,241$).

O índice de resistividade (RI) atingiu valor médio para todos animais de $0,41 \pm 0,14$, identificando diferença significativa ($p = 0,006$) para as raças avaliadas (Tabela 1 e Gráfico 1C). Em valores absolutos a raça que apresentou maior RI foi a Hereford ($0,44 \pm 0,14$) e o menor valor foi observado para os animais Brangus ($0,36 \pm 0,11$).

Com as informações dos 344 animais referente a velocidade média, índice de pulsatilidade (PI) e índice de resistividade (RI) foi possível estabelecer a correlação de Pearson, que foi significativa ($p < 0,05$) em todos os casos, negativa entre VMxPI ($-0,179$) e VMxRI ($-0,248$), positiva para PIxRI ($0,908$). As correlações estão demonstradas na Tabela 2 e a dispersão dos dados com a linha de tendência no Gráfico 2.

Discussão

O conhecimento dos parâmetros normais (valores de referência) da espécie avaliada é fundamental para potencial uso e preciso diagnóstico. Desta forma o presente estudo contribui com a apresentação da descrição de padrões de fluxo sanguíneo da artéria suprategicular para touros em cinco diferentes raças, especialmente ao evidenciar a diferença significativa entre elas.

A velocidade média do fluxo sanguíneo para todas as raças foi de $12,14 \pm 5,61$ cm/s. Entretanto, foi verificada a existência de diferença significativa entre as raças testadas. Desta forma, é necessário sempre considerar a raça do animal ao se avaliar esta variável. As raças sintéticas apresentaram comportamento diferente em relação às raças puras que as originaram, os animais Brangus apresentaram valores superiores aos animais Angus e Nelore ($p < 0,05$). Os animais Braford apresentaram VM estatisticamente igual aos animais Hereford ($p > 0,05$) e superior aos Nelore ($p < 0,05$), fato este que demonstra a necessidade de maiores estudos morfofisiológicos das raças sintéticas para o perfeito entendimento do parâmetro de VM.

Diferentes fatores podem influenciar o fluxo sanguíneo testicular. Dentre as causas fisiológicas, o principal é a termorregulação. A presença dos termorreceptores no escroto sinaliza ao hipotálamo o aumento de temperatura, estimulando uma resposta fisiológica para a dissipação do calor que envolve também a ação do músculo cremáster, túnica dartos e das glândulas sudoríparas. Entretanto, a primeira alteração fisiológica, não perceptível sem o auxílio de equipamentos, na tentativa de dissipar o calor, é o aumento do fluxo sanguíneo (Brito et al., 2004; Marai et al., 2008; Costa e Silva et al., 2015), além disso, diferentes patologias podem acometer o testículo e alterar o fluxo (Bicudo; Siqueira; Meira, 2007; Schurich et al., 2009).

Animais zebuínos possuem testículos mais alongados quando comparados com taurinos (Chacón et al., 2010; Siqueira et al., 2012), maior número de glândulas sudoríparas na pele do escroto e maior comprimento da artéria testicular (Brito et al., 2003; Brito et al., 2004). Isso fisiologicamente possibilita maior dissipação do calor e demandaria menor fluxo sanguíneo para auxiliar nesta dissipação, fato evidenciado na raça Nelore ($8,76 \pm 2,65$ cm/s) que apresentou o menor valor numérico entre todas as raças avaliadas, entretanto estatisticamente semelhante aos animais Angus ($10,57 \pm 5,79$ cm/s).

Segundo Pozor e McDonnel (2004) os índices calculados com base nos picos sistólicos e diastólicos são melhores indicadores do fluxo sanguíneo, sendo o valor de RI o de maior relevância. Órgãos com necessidade de demanda contínua de sangue têm aporte de vasos com baixos PI e RI, fruto da baixa resistividade presente no leito vascular e resultando em menor

tônus distal, gerando uma onda de característica monofásica (Szatmari; Sótonyi; Voros, 2001; Carvalho et al., 2008), característica esta evidenciada no presente trabalho (Figura 1). O maior aporte sanguíneo é reflexo do maior metabolismo presente no tecido irrigado (Strina et al., 2016) fato que pode ser associado aos testículos e que justifica os valores de PI e RI aqui encontrados, bem como as ondas monofásicas.

As médias gerais de PI ($0,33 \pm 0,16$) e RI ($0,41 \pm 0,14$) do presente trabalho são considerados baixos. Mesmo assim, os valores aqui determinados foram inferiores aos encontrados na artéria testicular em outras espécies animais tais como em garanhões (PI: 1,99 – RI: 0,78) (Pozor; McDonnel, 2004), cães (PI:0,94 – RI: 0,55) (Souza et al., 2014) (PI:0,83 – RI: 0,52) (Carrillo et al., 2012), gatos (PI: não determinado – RI: 0,53) (Brito et al., 2015), bodes (PI: não determinado – RI: 0,70) (Strina et al., 2016), lhamas e alpacas (PI: não determinado – RI: 0,69) (Kutzler et al., 2011). Em bovinos, Portugal (2014) acompanhou 12 touros de diferentes raças não declaradas pelo período de um ano, realizando coletas quinzenais e observou valores médios de PI de 0,80 e RI de 0,54, valores estes superiores aos aqui verificados. Ao separar os animais em dois grupos, segundo a qualidade do espermograma (superior e inferior), observou que os animais com qualidade superior apresentaram menor PI e RI, mesmo assim estas médias permaneceram acima das aqui apresentadas.

A determinação de RI da artéria testicular em touros pode, no futuro, ser informativo como exame complementar ou auxiliar na determinação do potencial reprodutivo dos touros, considerando que em humanos, Piggera et al. (2008) afirmaram que houve relação entre homens com contagem anormal de espermatozoides e RI ($RI > 0,6$), a determinação de valores normais aqui demonstrados dá subsídios para futuros estudos neste tema.

Estudando caprinos no decorrer do período de um ano, Strina et al. (2016) afirmaram que a diminuição do RI coincide com o aumento do fluxo sanguíneo, aumento dos níveis de testosterona e com o maior volume testicular. Esta observação concorda com Pozor (2007) que verificou em garanhões que níveis mais altos de testosterona aumentam o diâmetro da luz vascular, refletindo assim na diminuição do RI. Strina et al (2016) sugerem, ainda, que uma diminuição da resistividade nos vasos tributários e o aumento do fornecimento de sangue ocorre quando as solicitações metabólicas do parênquima estão aumentadas. A relação de proporcionalidade entre fluxo sanguíneo e velocidade do sangue, possibilita evidenciar no presente trabalho os mesmos achados de Strina et al (2016) e Pozor (2007), considerando a correlação estabelecida entre as variáveis VM e RI, que foi negativa.

As correlações negativas e significativas entre a VMxPI e VMxRI reforçam a expectativa fisiológica e hemodinâmica que a diminuição da VM está associada a um aumento de PI e RI. Esta observação também foi encontrada por Batissaco et al. (2013), correlacionando

PI e RI. Entretanto estes autores avaliaram machos ovinos e verificaram valor superior ($r = 0,96$).

Os resultados permitem afirmar que a utilização da ultrassonografia com análise velocimétrica Doppler colorida é um método não invasivo viável para mensurar, em touros, a velocidade média do fluxo sanguíneo da artéria testicular e os índices de pulsatilidade e resistividade, assim como acontece em equinos, lhamas, alpacas, cães, felinos e cervos (Pozor, 2007; Kutzler et al., 2011; Souza et al, 2014; Brito et al., 2015; Strina et al., 2016).

Conclusão

A análise Doppler velocimétrica permitiu mensurar a velocidade média na artéria testicular e os seus respectivos parâmetros (PI e RI), os valores encontrados indicaram diferença significativa entre as raças de bovinos estudadas para a velocidade média e RI, já para PI não houve diferença significativa.

Os valores apresentados podem contribuir para a avaliação da vascularização testicular, servindo de referência inicial e formação de um banco de dados para a detecção de eventuais anormalidades ou patologias no futuro.

Referências

- Bascom, P.A.; Cobbold, R.S.. Origin of the Doppler ultrasound spectrum from blood. *IEEE Trans Biomed Eng*, 43: 562–571,1996.
- Batissaco, L.; Celeghini, E.; Pinaffi, F.; Oliveira, B.; Andrade, A.; Recalde, E.; Fernandes, C.. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 50(5): 384-395, 2013.
- Belay, R.; Huang, G.; Shen, J; Ko, E.. Diagnosis of clinical and subclinical varicocele: how has it evolved? *Asian Journal of Andrology*, 18(2):182-185, 2016.
- Bernardo, S.; Konstantatou, E.; Huang, D.Y.; Deganello, A.; Philippidou, M.; Brown, C.; Sellars, M.E.; Sidhu. P.S.. Multiparametric sonographic imaging of a capillary hemangioma of the testis: appearances on gray-scale, color Doppler, contrast-enhanced ultrasound and strain elastography. *J Ultrasound* 19: 35, 2016.
- Bertolotto, M.; Derchi, L. E.; Secil, M.; Dogra, V.; Sidhu, P. S.; Clements, R.; Pavlica, P.. Grayscale and Color Doppler Features of Testicular Lymphoma. *Journal of Ultrasound in Medicine: Official Journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine*, 34(6): 1139–1145, 2015.
- Bicudo, S.D.; Siqueira, J.B.; Meira,C.. *Patologias do sistema reprodutor de touros*, Biológico, São Paulo, 69(2):43-48, 2007.
- Bittner, M.; Faes, L.; Boehni, S.C; Bachmann, L.M.; Schlingemann, R. O.; Schmid, M. K.. Colour Doppler analysis of ophthalmic vessels in the diagnosis of carotic artery and retinal vein occlusion, diabetic retinopathy and glaucoma: systematic review of test accuracy studies, *BMC Ophthalmology*, 16(1):214, 2016.
- Brito, L.F.C.; Silva, A.E.D.F.; Rodrigues, L.H.; Vieira, L.H.; Deragon, L.A.G.; Kastelic, J.P.. Effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. *Theriogenology*. 58:1175–86, 2002.
- Brito, L. F. C.; Silva, A.E.D.F.; Barbosa, R.T.; Unanian, M.M.; Kastelic, J.P.. Effects of scrotal insulation on sperm production, semen quality, and testicular echotexture in *Bos indicus* and *Bos indicus* × *Bos taurus* bulls. *Animal Reproduction Science*.79 (1): 1-15, 2003.
- Brito, L. F. C.; Silva, A.E.D.F.; Barbosa, R.T.; Kastelic, J.P.. Testicular thermoregulation in *Bos indicus*, crossbred and *Bos taurus* bulls: relationship with scrotal, testicular vascular cone and testicular morphology, and effects on semen quality and sperm production. *Theriogenology*. 61: 511-528, 2004.

- Brito, M., Feliciano, M., Coutinho, L., Uscategui, R., Simões, A., Maronezi, M., de Almeida, V., Crivelaro, R., Gasser, B., Pavan, L. and Russiano, W.. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. *Reprod Dom Anim*, 50: 730–734, 2015.
- Carrillo, J.; Soler, M.; Lucas, X.; Agut, A.. Colour and Pulsed Doppler Ultrasonographic Study of the Canine Testis. *Reproduction in Domestic Animals*, 47: 655–659, 2012.
- Carvalho C.F.; Chammas M.C.; Sterman F.A.; Barros N.; Cerri G.G.. Ultra-sonografia dúplex-Doppler na avaliação morfológica e hemodinâmica das artérias aorta e mesentérica cranial em cães. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 45:24-31, 2008.
- Chacón, J.; Jimenez, A.; Vargas, B.. A proposal for categorization of scrotum length and relationship with andrological classification in extensively managed bulls. In: Lucy, M.C.; Smith, M.F.; Spencer, T.E. (eds.), *Reproduction in Domestic Ruminants VII*. Anchorage, Alaska, USA: Nottingham University Press; 2010: 481p.
- Costa e Silva, E.V.; Costa Filho, L.C.C.; de Souza, C.C.; Oliveira, C.C.; Queiroz, V.L.D.; Zúccari, C.E.S.N.. Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, 39(1):22-31, 2015.
- Gerhard-Herman, M.; Gardin, J.M.; Jaff, M.; Mohler, E.; Roman, M.; Naqvi, T.Z.. Guidelines for noninvasive vascular laboratory testing: a report from the American Society of Echocardiography and the Society of Vascular Medicine and Biology. *J Am Soc Echocardiography*, 19:955-972, 2006.
- Hafez, E.S.E.; Hafez, B.. *Reprodução Animal*. 7ª ed., São Paulo: Ed. Manole, 2004. 513p.
- Herzog, K.; Bollwein, H.. Application of Doppler Ultrasonography in Cattle Reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 42:51-58, 2007.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). *Cidades@*. Brasília:IBGE, 2016. Disponível em: < <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php?lang=>>. Acesso em: 17 dez 2016.
- Karaca, L.; Oral, A.; Kantarci, M.; Sade, R.; Ogul, H.; Bayraktutan, U.; Okur, A.; Yüce. I.. Comparison of the superb microvascular imaging technique and the color Doppler techniques for evaluating children's testicular blood flow. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 20(10): 1947-1953, 2016.
- Kastelic, J.P.. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology*. 81:18-23, 2014.
- Kastelic, J.P.; Brito, L.F.C.. Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. *Reproduction in Domestic Animals*. 47:45-51, 2012.

- Kastelic, J.P.; Cook, R.B.; Coulter, G.H.. Contribution of the scrotum, testes, and testicular artery to scrotal/testicular thermoregulation in bulls at two ambient temperatures. *Anim Reprod Sci*, 45:255-261, 1997.
- Kastelic, J.P.; Coulter, G.H.; Cook, R.B.. Scrotal surface, subcutaneous, intratesticular, and intraepididymal temperatures in bulls. *Theriogenology*. 44:147-152, 1995.
- Khater, M.H.; Gharib, K.. Fine Needle Aspiration Cytology and Color Doppler Sonography for Evaluation of Azoospermic Patients. *Med Surg Urol* 4: 151, 2015.
- King, A.M.. Development, advances and applications of diagnostic ultrasound in animals, *The Veterinary Journal*, 171(3): 408-420, 2006.
- Kutzler, M.; Tyson, R.; Grimes, M.; Timm, K.. Determination of testicular blood flow in camelids using vascular casting and color pulsed-wave doppler ultrasonography. *Veterinary Medicine International*.4:1-7, 2011.
- Mahafza, W. S.; Alarini, M. Y.; Awadghanem, A. F.; Odwan, G.;Juweid, M. E.. Testicular microlithiasis: Correlation with doppler sonography of testicular arteries and sperm function. *J. Clin. Ultrasound*, 44: 474–479, 2016.
- Mahdavi A, Heidari R, Khezri M, Shiravi A, Pirjani R, Saheb Kashaf R.. Can Ultrasound Findings be a Good Predictor of Sperm Parameters in Patients With Varicocele? A Cross-Sectional Study. *Nephro-urology Monthly*. 8(5):1-4, 2016.
- Marai, I.F.M.; El-Darawany, A.A.; Fadiel, A.; Abdel-Hafez, M.A.M.. Reproductive performance traits as affected by heat stress and its alleviation in sheep-A review. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 8: 209-234, 2008.
- Medan, M.S.; Adb El-Aty, A.M.. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction, *Journal of Advanced Research*, 1(2):123-128; 2010.
- Merrit, C.R.. Doppler US: the basics, *Radiographics*, 11(1):109-119, 1991.
- Middleton, W.D.; Thorne, D.A.; Melson, G.L.. Color Doppler ultrasound of the normal testis, *American Journal of Roentgenology*, 152(2):293-297, 1989.
- Nicola, R.; Menias, C.O.; Dahiya, N.; Robinson, K.; Hara, A.K.; Siegel, C.L.. Review of paratesticular pathology: findings on ultrasound and MRI, *Abdom Radiol*, 41:1-17, 2016.
- Patil, V.; Shetty, S.M.C.; Das, S.. Common and Uncommon Presentation of Fluid within the Scrotal Spaces. *Ultrasound International Open*. 1(2):34-40, 2015.
- Pinggera, G.M.; Mitterberger, M.; Bartsch, G.; Strasser, H.; Gradl, J.; Aigner, F.; Pallwein, L.; Frauscher, F.. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. *BJU International*, 101:722–726, 2008.

- Polgaj, M.; Jedrzejewski, K.S.; Dyl, L.; Topol, M.. Topographic and morphometric comparison study of the terminal part of human and bovine testicular arteries. *Folia Morphol* 68:271–276, 2009.
- Polgaj, M.; Jedrzejewski, K.S.; Dyl, L.; Topol, M.. Angioarchitecture of the bovine spermatic cord. *J Morph.* 272:497–502, 2011.
- Portugal, E.S.. Termografia e ultrassonografia doppler do plexo pampiniforme e termografia do escroto de touros: correlação com a qualidade do sêmen. 2014. 62 f. Tese (Doutorado em Clínica Médica Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, 2014.
- Pozor, M.A.. Evaluation of Testicular Vasculature in Stallions, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 6(4):271-277, 2007.
- Pozor, M.A.; McDonnell, S.M.. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions, *Theriogenology*, 61(5):799-810, 2004.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Schurich, M.; Aigner, F.; Frauscher, F.; Pallwein, L.. The role of ultrasound in assessment of male fertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 144(1):S192-S198, 2009.
- Sharp, V.J.; Kieran, K.; Arlen, A.M.. Testicular Torsion: Diagnosis, Evaluation, and Management *American Family Physician*, 88(12):835-840, 2013.
- Siqueira, J.B.; Oba, E.; Pinho, R.O.; Guimarães, S. E. F.; Miranda Neto, T.; Guimarães, J.D.. Testicular shape and andrological aspects of young Nellore bulls under extensive farming. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3): 612-617, 2012.
- Souza, M.B.; Barbosa, C.C.; Pereira, B.S.; Monteiro, C.L.B.; Pinto, J.N.; Linhares, J.C.S.; Silva, L.D.M.. Doppler velocimetric parameters of the testicular artery in healthy dogs, *Research in Veterinary Science*, 96(3):533-536, 2014.
- Souza, M. B.; Silva, L. D. M.. Ultrassonografia bidimensional, Doppler e contrastada para avaliação testicular: do homem ao animal. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 38(2):S86-S91, 2015.
- Stengel, J.W.; Remer, E.M.. Sonography of the Scrotum: Case-Based Review, *American Journal of Roentgenology*, 190(6):S35-S41, 2008.
- Strina, A.; Corda, A.; Nieddu, S.; Solinas, G.; Lilliu, M.; Zedda, M.T.; Pau, S.; Ledda, S.. Annual variations in resistive index (RI) of testicular artery, volume measurements and testosterone levels in bucks. *Comp Clin Pathol*, 25(2): 409-413, 2016.

- Szatmári, V.; Sótonyi P.; Voros, K.. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 42(2):93-107, 2001.
- Viana, W.G.; Borelli, V.. Contribuição ao estudo do funículo espermático em bovinos da raça Nelore, *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 28(1):11-17, 1991.
- Waites, G.M.H.. Temperature regulation and the testis. In: Johnson, A.D.; Gomes, W.R.; Vandermark, N.L. (Eds.). *The testis*. London: Academic Press, 241-279. 1970.

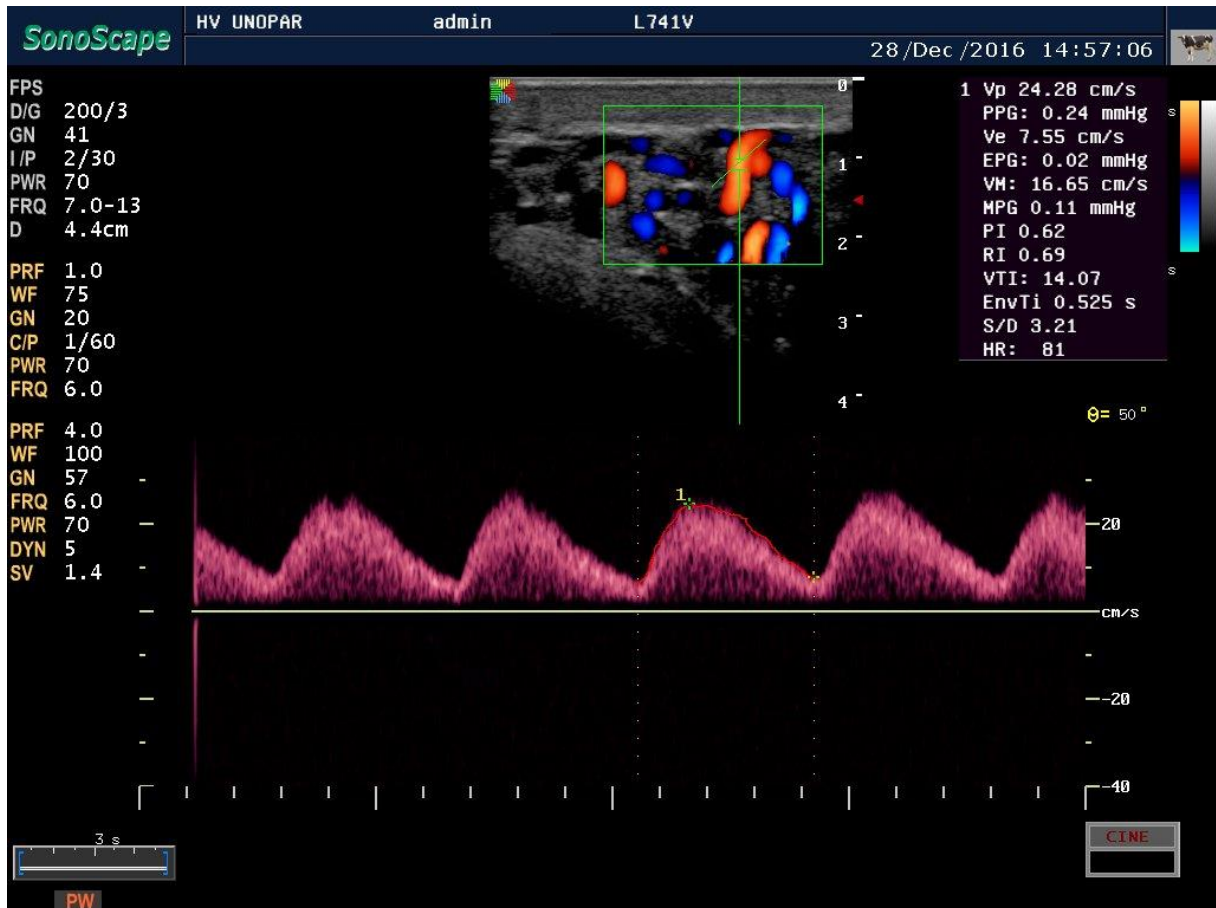


Figura 1 – Imagem ultrassonográfica em modo colorido Doppler da artéria suprasternal de bovino apresentando padrão de ondas monofásicas do fluxo sanguíneo

Tabela 1 - Velocidade média (cm/s) do fluxo sanguíneo, índice de pulsatilidade (PI) e de resistividade (RI), avaliadas por Doppler, da artéria supra testicular em touros distribuídos segundo a raça

	ANGUS	BRAFORD	BRANGUS	HEREFORD	NELORE
Velocidade média (cm/s)	10,57± 5,79 cd	12,33± 5,12 bc	16,28± 5,50 a	13,09±5,94 b	8,76± 2,65 d
Índice de pulsatilidade (PI)	0,32±0,13 a	0,31±0,17 a	0,30±0,13 a	0,35±0,16 a	0,35±0,15 a
Índice de resistividade (RI)	0,41±0,13 ab	0,38±0,15 b	0,36±0,11 b	0,44±0,14 a	0,43±0,13 ab

* letras iguais na mesma linha indicam não haver diferença estatística significativa ($p>0,05$)

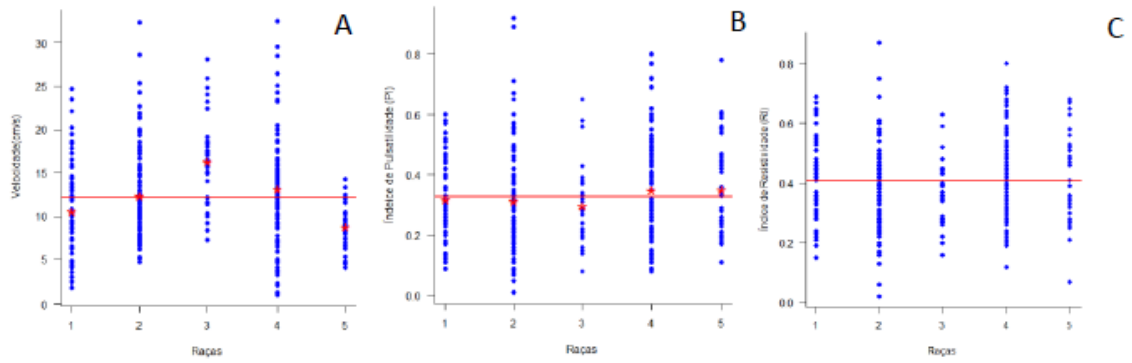


Gráfico 1 – Dispersão dos dados, segundo a raça, de velocidade média do fluxo sanguíneo (cm/s) (A), índice de pulsatilidade (PI) (B), índice de resistividade (C) da artéria supra testicular. As médias de cada grupo estão representados por ponto vermelho e a média geral pelo traço horizontal
 Raças: 1 – Angus, 2 – Braford, 3 – Brangus, 4 – Hereford, 5 - Nelore

Tabela 2 – Correlações lineares de Pearson entre os parâmetros obtidos por ultrassonografia Doppler e seus respectivos valores de p imediatamente abaixo entre parênteses

Variável	Velocidade Média VM (cm/s)	Índice de Pulsatilidade (PI)
Índice de pulsatilidade (PI)	-0,179 (<0,001)	-
Índice de resistividade (RI)	-0,248 (<0,001)	0,908 (<0,001)

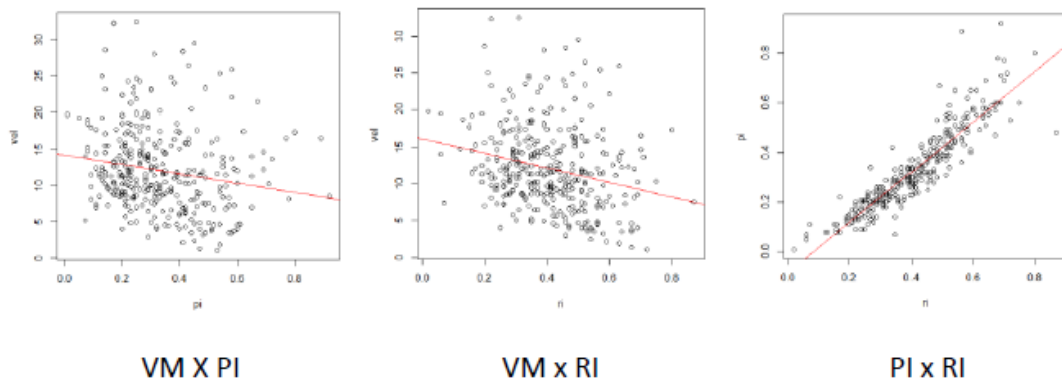


Gráfico 2 – Dispersão dos dados com linha de tendência segundo as diferentes correlações possíveis para a avaliação de velocidade média (VM), índice de pulsatilidade (PI) e índice de resistividade (RI)

6 CONCLUSÕES

Foi possível através da avaliação termográfica e de ultrassonografia Doppler avaliar as alterações da hemodinâmica e temperatura do escroto, sendo nos animais insulados a maior temperatura e velocidade média (VM), verificadas no M0 e M10, respectivamente. A insulação escrotal, por até 120 h, provocou alterações na temperatura e na velocidade do fluxo sanguíneo testicular, os mecanismos termorregulatórios foram eficientes para normalizarem ambas variáveis em tempo inferior a 30 minutos.

O mapeamento ultrassonográfico Doppler permitiu mensurar a velocidade média na artéria testicular e os seus respectivos parâmetros (PI e RI), sendo que os valores encontrados indicaram existir diferença significativa entre as raças de bovinos estudadas para a velocidade e RI. A maior velocidade média foi a dos animais Brangus, já os maiores valores de RI foram verificados nos animais Hereford, Nelore e Angus. Para PI não houve diferença significativa nas diferentes raças avaliadas. Observou-se ainda correlação alta e positiva entre as variáveis de PI e RI e baixa e negativa para VM quando comparada tanto com PI quanto RI.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tanto a termografia quanto a ultrasonografia Doppler são métodos não invasivos, que produzem resultados em tempo real e que permitem a avaliação de diferentes estruturas. Sua utilização como ferramenta complementar na avaliação de machos, no caso do presente estudo em bovinos, neste momento representa ferramenta de pesquisa, gerando informações pertinentes para um banco de dados para determinar parâmetros de normalidade e sua possível utilização no futuro.

É importante diferenciar ambos os métodos quanto ao seu potencial na utilização da avaliação andrológica dos touros, sendo a termografia ferramenta talvez menos informativa quanto ao potencial diagnóstico. Apesar da termografia não ser propriamente uma ferramenta preditora do potencial reprodutivo do touro, ela é bastante útil na mensuração pontual da temperatura. Ainda, dificilmente será possível determinar o potencial reprodutivo de um touro com uma única mensuração termográfica sem a associação com outras variáveis bioclimatológicas. Talvez a relação do gradiente da temperatura corpórea e da superfície testicular, comparada com as variáveis bioclimatológicas, possa ser indicativo da termorregulação testicular ou até mesmo da adaptação do indivíduo ao meio em que está inserido.

Diferentemente da termografia, a ultrasonografia possui maior capacidade diagnóstica, tal como demonstrado em humanos, sendo exame complementar solicitado rotineiramente após o exame clínico. Neste momento, talvez dois principais motivos sejam limitantes a sua imediata utilização para avaliação em touros. O primeiro se relaciona à limitada quantidade de equipamentos a campo e o hábito/experiência do médico veterinário em utilizá-lo. Existe um ciclo vicioso composto por criadores amadores, desinformados e profissionais incapacitados. Desta forma, em muitos casos, o macho é incompletamente avaliado e o veredicto de apto ou inapto acaba tornando-se subjetivo ou até mesmo incorreto. Neste contexto, muitos animais não são avaliados pela opção do criador; outros são avaliados incorretamente. Daqueles avaliados corretamente, os inaptos muitas vezes terão uma segunda chance de reavaliação, mas sem direito a exames complementares necessários para um diagnóstico preciso ou tratamento. O ultrassom está presente no campo, sendo usado nos diagnósticos de gestação e avaliação do sistema reprodutivo da fêmea, entretanto não se faz presente para a avaliação do macho. Além disto, temos o segundo fator que resulta em sua não utilização hoje: a falta de conhecimento a respeito das principais afecções e padrões de normalidade. Cabe ao setor acadêmico estabelecer e difundir estas técnicas para os

profissionais de campo, sensibilizando-os da importância e utilidade.

O sistema Doppler envolve um custo para o profissional de campo, requerendo uma cuidadosa avaliação custo-benefício. Entretanto, a avaliação do fluxo sanguíneo é fundamental para alguns diagnósticos e para a pesquisa fornece ainda subsídios para a compreensão dos mecanismos de termorregulação testicular. O presente estudo utilizou esta ferramenta com o intuito de contribuir para estabelecer referências iniciais de normalidade da artéria suprtesticular de touros, bem como, tentar compreender melhor a dinâmica deste fluxo em animais insulados com ação ativa dos mecanismos termorregulatórios, fornecendo subsídios para o melhor entendimento da termorregulação testicular.

Maiores estudos devem ser realizados para avaliar o potencial da termografia como ferramenta de diagnóstico de patologias e auxiliar no entendimento da termorregulação testicular.