



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LUIZ GUILHERME CORSI TRAUTWEIN

**DOPPLER VELOCIMETRIA E GRAU DE LESÕES
HISTOLÓGICAS TESTICULARES ASSOCIADOS À
CINÉTICA ESPERMÁTICA EM FELINOS DOMÉSTICOS**

Londrina
2022

LUIZ GUILHERME CORSI TRAUTWEIN

**DOPPLER VELOCIMETRIA E GRAU DE LESÕES
HISTOLÓGICAS TESTICULARES ASSOCIADOS À
CINÉTICA ESPERMÁTICA EM FELINOS DOMÉSTICOS**

Tese de Doutorado apresentada a Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Mello Martins

Londrina
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Trautwein, Luiz Guilherme Corsi.

Doppler velocimetria e grau de lesões histológicas testiculares associados à cinética espermática em felinos domésticos / Luiz Guilherme Corsi Trautwein. - Londrina, 2022.

116 f. : il.

Orientador: Maria Isabel Mello Martins.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2022.

Inclui bibliografia.

1. Espermatozoides - Tese. 2. Felinos - Tese. 3. Sistema CASA - Tese. 4. Artéria testicular - Tese. I. Martins, Maria Isabel Mello. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619

LUIZ GUILHERME CORSI TRAUTWEIN

**DOPPLER VELOCIMETRIA E GRAU DE LESÕES
HISTOLÓGICAS TESTICULARES ASSOCIADOS À
CINÉTICA ESPERMÁTICA EM FELINOS DOMÉSTICOS**

Tese de Doutorado apresentada a Universidade Estadual de Londrina - UEL, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Maria Isabel Mello
Martins
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fábio Morotti
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Fabio Nelson Gava
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dra. Mírley Barbosa de Souza
Centro de Estudos Veterinários por Imagem

Prof. Dr. Marcos Cezar Sant'Anna
Centro Universitário de Ourinhos – UniFio

Londrina, 02 de fevereiro de 2022.

*“- Quanto da sua vida é motivação?
- Três por cento. Os outros noventa e sete é compromisso e disciplina.
Eu tenho que fazer, porque tenho que fazer.”
Paulo Muzy*

AGRADECIMENTOS

Um trabalho de doutorado nunca é realizado sozinho e dezenas de pessoas contribuem, diariamente, para que ele seja executado com maestria. Muitas vezes anonimamente.

Quando me fazem perguntas do tipo “Para você, quem são os maiores financiadores das pesquisas científicas no Brasil?” eu sempre tenho uma resposta na ponta da língua: por incrível que pareça, os pais. Especialmente para nós, da área da saúde, afinal, são cinco anos de faculdade, na maioria das vezes, custeados por eles. Durante a pós-graduação muitos colegas não conseguem bolsa de pesquisa e precisam recorrer, mais uma vez, ao “paitrocínio”. Mas, além de tudo, o principal fomento que eles nos dão é o apoio incondicional. Independente da relevância do projeto de pesquisa, para os nossos pais, esse vai ser o projeto mais importante da humanidade. A minha mãe, por exemplo, não faz ideia do que eu estudo na Universidade, mas ela fica *super* orgulhosa contando para as amigas que o filho está seguindo a carreira científica e que um dia será pesquisador e professor universitário.

Essa tese, além de minha, é de vocês também, papai e mamãe. Aquele menino que vocês buscaram com dois dias de vida no hospital, morrendo de fome e sem condições, só é o que é hoje, graças ao amor infinito de vocês dois. Além de amá-los com toda a minha força, sou eternamente grato a todas vocês por todas as concessões que tiveram que fazer em suas próprias vidas para conseguirem me criar e me conceder um futuro digno. Um futuro que chegou. Enfim, posso dizer, me tornei um homem, médico veterinário, mestre e, quiçá, doutor, graças às batalhas diárias de vocês.

À minha família, vocês todos também fizeram parte disso. Cada um de vocês contribuiu para que eu chegasse até aqui, Vovô Jair, Vovó Cida, Vovô Athair, Tia Solange, Tia Sirley, Tia Sônia, Tio Sérgio, enfim, à toda trupe Corsi e Trautwein, muito obrigado por tudo!

Gostaria de agradecer ao meu colega, amigo e anestesiológico Prof. Dr. Guilherme Schiess pelo auxílio na realização dos experimentos. Sem você, não teríamos conseguido. Agradeço também à Dra. Anne Kemmer pelo auxílio no início da execução dos trabalhos.

Demonstro minha gratidão a todos os residentes do Hospital Veterinário da UEL, que sempre foram extremamente solícitos quando precisei, assim como os demais funcionários e professores. Deixo registrado aqui o meu agradecimento em especial ao Prof. Dr. Fábio Gava pelos *insights* acerca da hemodinâmica vascular durante a realização do doutorado. Aproveito também para agradecer à Dra. Mírley de Souza pelas considerações realizadas durante a qualificação do doutorado.

Agradeço aos meus amigos de pós-graduação e colegas de Laraa por todo auxílio na execução do experimento, desde a contenção dos animais até a realização das cirurgias e exames no CASA, Dra. Cristiane Sella Paranzini, Myrian Hidalgo, Ana Beatriz Almeida e Dra. Jamile Haddad Neta.

Aos meus amigos da veterinária, DeMolays e de trilhas, também só me resta gratidão. Pelos momentos felizes e por sempre me trazerem de volta nos momentos de escuridão. Obrigado por tudo Larissa Garbelini, Marcelo Soares, Raíra Dias, Vinícius Cordioli, Lucas Teixeira, Eduardo Scaramal, Elton Martins, Victor Vasconcelos, Carlos Menck, Karen Nayana, Vanessa Soares e Diego Tobias.

Agradeço à Gif e à Jpeg pelos ronrons nos momentos mais difíceis.

Agradeço à pessoa que fez tudo isso se tornar possível, minha segunda mãe, Profa. Dra. Maria Isabel Mello Martins. Nunca vou me esquecer daquela tarde onde fui à sala da senhora pedir para que me orientasse em uma iniciação científica. De lá para cá foram duas iniciações científicas, uma residência, um mestrado e um doutorado. Dez anos de amizade, companheirismo e muito aprendizado. E o melhor ainda está por vir, como colega de área da senhora. Obrigado por tudo, professora. Graças à senhora sou o profissional que sou hoje!

Por fim, agradeço à entidade cósmica que faz tudo isso girar. Deus, Alá, Yahweh, Rá ou, como meu pai diz, Grande Arquiteto do Universo. Independente do nome, essa força – presente em toda criação, da natureza à humanidade – faz tudo tão perfeitamente orquestrado, unindo o destino ao livre arbítrio de forma tão síncrona, que permitiu com que eu chegasse até aqui. E ainda tem muito mais por vir...

RESUMO

TRAUTWEIN, Luiz Guilherme Corsi Trautwein. **Doppler velocimetria e graus de lesões histológicas testiculares associados à cinética espermática em felinos domésticos**. 2022. 116 folhas. Tese de Doutorado em Ciência Animal – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2022.

Os testículos são muito sensíveis a alterações hemodinâmicas e, para garantir a viabilidade espermática, é necessário que haja uma correta perfusão sanguínea, à qual é realizada pela artéria testicular. É possível realizar a mensuração da hemodinâmica vascular da artéria testicular por meio da Ultrassonografia Doppler. Foi demonstrado, em diversas espécies, que há correlações entre as variáveis Doppler com a qualidade espermática, porém, em felinos estes relatos são escassos, assim como outros parâmetros da análise reprodutiva nesta espécie, como é o caso da avaliação histopatológica de degeneração testicular e sua comparação com resultados da análise de sêmen. Sendo assim, os objetivos foram comparar a velocidade do fluxo sanguíneo na artéria testicular em gatos sedados com dexmedetomidina e cetamina e não sedados, bem como comparar entre os diferentes graus de degeneração histopatológica testicular e as características de cinética e movimento espermático em gatos. Este estudo foi dividido em três manuscritos: a) foram utilizados 27 gatos, alocados em dois grupos: grupo sedado (SG – dexmedetomidina (10 µg/kg) e cetamina (12 mg/kg); n=20) e grupo não sedado (NSG; n=7). Ambos os grupos foram submetidos à análise Doppler da artéria testicular e, após serem submetidos à orquiectomia, foi realizada a recuperação dos espermatozoides, por meio da compressão da cauda do epidídimo e a avaliação da cinética espermática no sistema CASA, morfologia e integridade de

membrana espermática. Os dados de Doppler velocimetria dos grupos SG e NSG foram comparados utilizando o teste de Mann-Whitney, bem como foi realizado o teste de correlação entre as variáveis Doppler e de qualidade espermática. O NSG apresentou menor velocidade de fluxo nas regiões supratesticular e marginal (velocidade de pico sistólico – PSV de 5,56 cm/s e 5,91 cm/s, valor de $p = 0,002$ e $< 0,001$; velocidade diastólica final - EDV 2,89 cm/s e 3,96 cm/s, valor de $p = < 0,001$ e $< 0,001$) quando comparado com o SG (PSV 7,42 cm/s e 11,51 cm/s; EDV 4,42 cm/s e 7,72 cm/s), assim como não houve diferença entre as regiões no NSG ($p=0.550$). Houve correlação negativa entre a porcentagem de espermatozoides rápidos com o PSV e EDV da região marginal do SG ($r=-0,382$; $r=-0,314$), bem como entre a velocidade curvilínea (VCL) e a EDV da região supratesticular no NSG ($r=-0,565$); b) Foram utilizados 25 gatos, submetidos à orquiectomia eletiva e, após a recuperação dos espermatozoides da cauda do epidídimo, os testículos foram fixados e processados histologicamente. Foi possível categorizar os testículos em diferentes graus de degeneração testicular e extensão da lesão no parênquima. Os achados de grau de degeneração e extensão da lesão foram comparados com as variáveis do espermograma por análise de variância. Testículos com lesões focais ou multifocais não apresentaram diferença nos valores de cinética espermática e análise Doppler velocimétrica; c) Revisão de literatura acerca da análise ultrassonográfica reprodutiva em cães e gatos. Conclui-se que houve diferença entre a hemodinâmica testicular de animais sedados com dexmedetomidina/cetamina e não sedados, assim como houve a correlação entre variáveis Doppler velocimétricas e características de cinética espermática. Além disso, testículos com lesões degenerativas difusas apresentaram

espermatozoides com piores características de movimento cinético.

Palavras-chave: espermatozoides; felinos; ultrassonografia; artéria testicular; histologia testicular.

ABSTRACT

TRAUTWEIN, Luiz Guilherme Corsi Trautwein. **Doppler velocimetry and degrees of testicular histological lesions associated with sperm kinetics in domestic cats.** 2022. 116 sheets. Doctoral Thesis in Animal Science – Center for Agricultural Sciences, State University of Londrina, Londrina, 2021.

The testes are very sensitive to hemodynamic changes and, to ensure sperm viability, there must be correct blood perfusion, which is performed by the testicular artery. It is possible to measure the vascular hemodynamics of the testicular artery through Doppler ultrasound. It was demonstrated, in several species, that there are correlations between the Doppler variables with sperm quality, however, in cats these reports are scarce, as well as other parameters of the reproductive analysis in this species, as is the case of the histopathological evaluation of testicular degeneration and its comparison with semen analysis results. Therefore, the objectives were to correlate the blood flow velocity in the testicular artery and the different degrees of testicular histopathological degeneration with the characteristics of kinetics and sperm movement in cats. This study was divided into three manuscripts: a) 27 cats were used, divided into two groups: sedated group (SG – dexmedetomidine (10 µg/kg) and ketamine (12 mg/kg); n=20) and non-sedated group (NSG; n=7). Both groups underwent Doppler analysis of the testicular artery and, after undergoing orchiectomy, sperm recovery was performed through compression of the epididymal tail and evaluation of sperm kinetics in the CASA system, morphology, and sperm membrane integrity. Doppler velocimetry data from the SG and NSG groups were compared using the Mann-Whitney test, as well as the correlation test between the Doppler and sperm quality variables. The NSG presented lower flow velocity in the suprastesticular and marginal regions (PSV 5.56 cm/s and 5.91 cm/s; EDV 2.89 cm/s and 3.96 cm/s) when compared to the SG (PSV 7.42 cm/s and 11.51 cm/s; EDV 4.42 cm/s and 7.72 cm/s),

as well as there was no difference between regions in the NSG ($p=0.212$). There was a correlation between the percentage of fast spermatozoa with the PSV and EDV of the marginal region of the SG ($r=-0.382$; $r=-0.314$), as well as between the VCL and the EDV of the suprastesticular region in the NSG ($r=-0.643$); b) Twenty-five cats were used, submitted to elective orchiectomy and, after sperm recovery from the epididymal tail, the testes were fixed and histologically processed. It was possible to categorize the testes into different degrees of testicular degeneration and the extent of parenchymal injury. The findings of the degree of degeneration and lesion extension were compared with the spermogram variables by analysis of variance. Testicles with focal or multifocal lesions showed no difference in spermatocinetics and movement values; c) Review of the literature on reproductive ultrasound analysis in dogs and cats. It was concluded that there was a difference between the testicular hemodynamics of animals sedated with dexmedetomidine/ketamine and those that were non-sedated, as well as a correlation between Velocimetric Doppler variables and sperm kinetics characteristics. In addition, testes with diffuse degenerative lesions had sperm with worse kinetic movement characteristics.

Keywords: sperm; cats; ultrasonografia; testicular artery; testicular histology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Doppler duplex da artéria testicular de um felino doméstico. O modo duplex é formado pelo modo B associado a uma sobreposição em tempo real do Doppler colorido. Fonte: arquivo pessoal.....28
- Figura 2** – Doppler triplex da artéria testicular de um felino doméstico. O Doppler triplex é formado pela união dos modos B, Doppler colorido e Doppler pulsado ou espectral. Note a angulação de 37°, corrigida pelo software do aparelho ultrassonográfico. Fonte: arquivo pessoal.....30
- Figura 3** – Gráfico de onda Doppler pulsada, dividido em sístole e diástole, exemplificado onde é realizada a mensuração do pico de velocidade sistólica (PSV), a velocidade sistólica final (EDV), bem como a janela de onda Doppler. Fonte: arquivo pessoal..32
- Figura 4** – Corte histológico normal de testículo de gato. É possível observar todas as camadas celulares germinativas no túbulo seminífero. (HE 20x). Fonte: arquivo pessoal.....38
- Figura 5** – Corte histológico de testículo de gato doméstico. O parênquima testicular apresenta-se normal, porém, há um segmento tubular seminífero com perda das camadas epiteliais germinativas, caracterizando uma degeneração focal severa, causada provavelmente por isquemia segmentar (setas). (HE 20x). Fonte: arquivo pessoal..39
- Figura 6** – Ilustração com a terminologia do sistema CASA demonstrando os centroides, o deslocamento curvilíneo, ALH, caminho deslocado, deslocamento médio e batimento cruzado. Adaptado de AMANN e WABERSKI (2014).....42

MANUSCRITO 1

- Figure 1** – A) B-mode and color Doppler ultrasound of the feline testicle. It is possible to visualize the spermatic cord and the distal suprastesticular region of the testicular artery of the cat. B) Schematic drawing of the distal suprastesticular region of testicular artery. Font: personal

archive.....	61
Figure 2 – A) Marginal region of the feline testicular artery. Note the curve made by the artery (at the *), which after enters the testicular parenchyma and branches into several intratesticular arteries. B) Schematic drawing of the marginal region of testicular artery. Font: personal archive.....	62
Figure 3 – Doppler waveform morphology of the marginal region of the testicular artery in domestic cats sedated with dexmedetomidine (10µg/kg) and ketamine (12 mg/kg) in A; and non-sedated in B. Besides both waveform patterns shows lower resistivity blood flow characteristics, attributes of organs that need constant blood perfusion, it is important to note the lower waveform amplitude of B, with higher heart rate frequency..	65
Figure 4 - Scatterplot of testicular Doppler velocimetric evaluation and CASA system sperm variables of sedated and non-sedated group of cats.	66

MANUSCRITO 2

Figure 1 – Domestic cat, testicle, histological findings. A) Normal parenchyma. Seminiferous tubules are lined by all cell layers of spermatogenesis, including spermatozoa (HE). B) Mild degeneration; circumferential reduction in the number of spermatozooids and spermatids (HE). C) Moderate degeneration; severe reduction of spermatogenic activity with lack of the complete spermatogenesis cell layers (HE). D) No spermatogenic activity; absence of the complete spermatogenesis cell layers, only Sertoli cells and few spermatogonies promoting tubular morphological support. A few spermatozooids can be seen in the tubular lumen, probably from another non-degenerated segment of the same tubule. (HE)....	89
--	----

MANUSCRITO 3

Figura 1 – Ultrassonografia da próstata canina em corte longitudinal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).....	111
---	-----

Figura 2 – Ultrassonografia da próstata canina em corte transversal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).....	111
Figura 3 – Próstata canina heterogênea e irregular, com abscesso (área hipoecogênica) em região dorsal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).	112
Figura 4 – Ultrassonografia testicular de cão em modo B, cortes longitudinal e transversal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).....	112
Figura 5 – Ultrassonografia testicular de gato em modo B, cortes longitudinais e transversais, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray)..	113
Figura 6 – Degeneração testicular severa em cão, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).	113
Figura 7 – Testículo de cão em cavidade abdominal, dorsal à bexiga, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).....	113
Figura 8 – Testículo de cão acometido por neoplasia, dentro da cavidade abdominal. Perceba o alto fluxo sanguíneo através da artéria testicular, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray)..	114
Figura 9 – Avaliação em Doppler colorido do cordão espermático de um cão, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray)..	114
Figura 10 – Esquema didático das regiões da artéria testicular de cães.....	114

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das velocidades de pico sistólico (PSV) encontradas por diferentes autores, em diferentes espécies e condições. Modificado de TRAUTWEIN et al. (2019).....	36
--	----

MANUSCRITO 1

Table 1 – Doppler velocimetric values and comparison between the groups sedated with dexmedetomidine and ketamine and non-sedated. The p-value in the lines refers to the comparison between supratesticular and marginal regions of the same group. The p-value in the columns refers to the comparison of the same region of the testicular artery, but between groups.....	64
--	----

MANUSCRITO 2

Table 1 – Histological classification of testicular degeneration degree of domestic cats, modified from THOMÉ <i>et al.</i> (2007).....	84
Table 2 – Spermatozoa kinetics assessed by CASA system, morphology and membrane integrity of adult cat's testicles and its comparison against histological degeneration degree and parenchyma lesion extension observed by optical microscope.....	86
Table 3 - Cat's testicular artery Doppler velocimetry and its comparison against histological degeneration degree and parenchyma lesion extension observed by optical microscope.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALH	Amplitude de deslocamento lateral da cabeça
BCF	Frequência de batimento flagelar cruzado
EDV	Velocidade diastólica final (<i>End diastolic velocity</i>)
CASA	<i>Computer-assisted Sperm Analysis</i>
CD	Doppler Colorido (<i>Color Doppler</i>)
HE	Hematoxilina e eosina
IM	Intramuscular
LIN	Linearity
PSV	Velocidade de pico sistólico (<i>Peak systolic velocity</i>)
SMI	Índice de movimento espermático (<i>Sperm Motility Index</i>)
STR	Straighness
SVI	Índice de velocidade espermática (<i>Sperm Velocity Index</i>)
PW	Doppler Pulsado (<i>Pulsed Wave</i>)
RI	Índice de resistividade
PI	Índice de pulsatilidade
VCL	Velocidade curvilínea
VSL	Velocidade linear progressiva
VAP	Velocidade média da trajetória
WOB	Coefficiente de oscilação (<i>Wobble coefficient</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
2	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO	24
2.1	ULTRASSONOGRAFIA DA ARTÉRIA TESTICULAR.....	25
2.2	DEGENERAÇÃO TESTICULAR.....	36
2.3	ANÁLISE ESPERMÁTICA.....	40
	REFERÊNCIAS	46
3	HIPÓTESES	53
4	OBJETIVOS	54
5	MANUSCRITOS	56
5.1	MANUSCRITO 01- TESTICULAR ARTERY DOPPLER VELOCIMETRIC EVALUATION OF SEDATED AND NON-SEDATED CATS AND CORRELATION WITH SPERM KINETICS.....	57
5.2	MANUSCRITO 02 - DOPPLER VELOCIMETRY OF TESTICULAR ARTERY AND EPIDYDIMAL SPERM KINETICS COMPARED WITH TESTICULAR HISTOLOGICAL DEGENERATION IN DOMESTIC CATS.....	81
5.3	MANUSCRITO 03 - ULTRASSONOGRAFIA EM MODO B E DOPPLER PARA AVALIAÇÃO REPRODUTIVA DE CÃES E GATOS.....	102
6	CONCLUSÃO GERAL	114
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	115

1 INTRODUÇÃO

Os testículos requerem perfusão sanguínea constante para que ocorra normalmente a espermatogênese, por isso são sensíveis a reduções no fornecimento de oxigênio (BERGH *et al.*, 2001).

A perfusão testicular de oxigênio é realizada pela artéria testicular – vaso descendente diretamente da aorta, que penetra o anel inguinal, realiza a troca de calor contracorrente com o plexo pampiniforme e adentra o parênquima, ramificando-se em ramos intratesticulares (BERGH *et al.*, 2001).

É possível realizar a mensuração do fluxo sanguíneo que flui pela artéria testicular por meio da ultrassonografia Doppler (ENGLAND *et al.*, 2017). Com ela é possível aferir diversos parâmetros quantitativos, como a velocidade de pico sistólico (PSV), a velocidade diastólica final (EDV), o índice de resistividade (RI) e o índice de pulsatilidade (PI) (CARVALHO *et al.*, 2008).

Diversos autores têm relatado a correlação destas variáveis de velocidade quantitativas do Doppler com variáveis da análise espermática, como espécies de biomarcadores. Em homens, PINGGERA *et al.* (2008) observaram que pacientes com alta resistividade na artéria testicular possuíam maior quantidade de defeitos espermáticos, resultados semelhantes aos encontrados em touros (GLORIA *et al.*, 2018). Em garanhões e cães foi demonstrado que animais férteis possuíam maior velocidade de fluxo quando comparados com animais inférteis (DE SOUZA *et al.*, 2015; ORTIZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2017; TRAUTWEIN *et al.*, 2020).

Todavia, os estudos na espécie felina são escassos. DE BRITO *et al.* (2015), no principal artigo publicado sobre o assunto, realizaram a Doppler velocimetria da artéria testicular em gatos, porém, não compararam os achados com dados de espermograma.

Além disso, outros parâmetros de avaliação reprodutiva de felinos também carecem de informações, como é o caso da análise histopatológica de degeneração testicular. Esta é a afecção mais comum dos testículos, mas ainda não foi padronizada nesta espécie, assim como já foi em cães (THOMÉ *et al.*, 2007), bem como não se sabe a real influência dos graus de degeneração na viabilidade espermática *in vivo*.

O exame padrão para avaliação do potencial reprodutivo dos machos é o exame andrológico, que consiste na avaliação de características físicas, como o tamanho dos testículos, até avaliações específicas como o espermograma (CBRA, 2013). O espermograma baseia-se na avaliação dos espermatozoides em características como a motilidade, vigor, concentração e morfologia, por meio da análise subjetiva. Porém, por meio de análises computadorizadas realizadas pelo sistema CASA, é possível avaliar individualmente a cinética de cada espermatozoide, quantificando o seu movimento e a sua velocidade (SCHNITZER *et al.*, 2019).

O estudo de biomarcadores reprodutivos se torna importante pois, além dos felinos domésticos serem uma espécie em ascensão nos domicílios brasileiros, são os principais modelos experimentais para programas de reprodução e restabelecimento de fauna em felídeos selvagens (LIMA, 2020). Além disso, a investigação sobre a hemodinâmica vascular dos testículos, o grau de lesões histológicas e a cinética espermática podem contribuir para a avaliação do potencial reprodutivo dos machos.

2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

A maioria dos organismos possui duas linhagens celulares – as células somáticas e as células germinativas. As células germinativas masculinas e femininas são produzidas durante a espermatogênese e oogênese, nos testículos e ovários, respectivamente (NISHIMURA e L'HERNAULT, 2017).

O estudo destas células, em especial o espermatozoide, é importante, visto que a infertilidade é um assunto de proporção mundial. Em humanos até 50% dos casos de infertilidade estão relacionados ao homem (IBTISHAM *et al.*, 2017).

A espermatogênese é um processo de divisão e diferenciação na qual o espermatozoide é produzido dentro dos testículos, nos túbulos seminíferos, que são compostos por células somáticas (células peritubulares e células de Sertoli) e células da linhagem germinativa (espermatogônias, espermatócitos e espermátides) (JOHNSON, 1995). Para a produção do espermatozoide, as espermatogônias se dividem em espermatócitos via mitose, na qual se dividem em espermátides haplóides via meiose. As espermátides dão origem aos espermatozoides por meio de um processo final chamado espermiogênese (NISHIMURA e L'HERNAULT, 2017).

A espermatogênese pode ser dividida em três fases distintas: a mitótica, a meiótica e a espermiogênese. Durante a primeira fase uma célula tronco dá origem a outras duas células por meio de mitose, na qual uma serve para renovação da população das próprias células tronco e a outra entra no processo espermatogênico. Essas células darão origem às espermatogônias, que por sua vez entrarão em processo de meiose como espermatócitos. Ao final da fase de meiose ocorrerá a divisão reducional, gerando espermátides haploides. Por fim, as espermátides se diferenciam em espermatozoides, pelo processo chamado espermiogênese (COSTA e PAULA, 2003).

O tempo necessário para que ocorra todo esse processo é de 42-76 dias no homem (MISELL *et al.*, 2006) e, devido à alta complexidade, diversos fatores são necessários para que a espermatogênese ocorra adequadamente, como vários tipos celulares, hormônios, fatores parácrinos, genes regulares epigenéticos e redução no fluxo sanguíneo testicular (BERGH *et al.*, 2001; KOKOUA *et al.*, 2004; NETO *et al.*, 2016; HIRAI *et al.*, 2017).

Pequenas alterações em etapas deste processo podem levar à infertilidade do macho, especialmente aqueles relacionados a alterações na termorregulação (NETO *et al.*, 2016). Diversos meios diagnósticos são utilizados para avaliar a infertilidade e incapacidade de produzir espermatozoides saudáveis. Dentre eles, será abordado três: a ultrassonografia testicular, o diagnóstico histopatológico de degeneração testicular e a análise de sêmen.

4.2 ULTRASSONOGRAFIA DA ARTÉRIA TESTICULAR

Um exame auxiliar ao andrológico é a avaliação ultrassonográfica testicular. Por meio da análise ultrassonográfica é possível avaliar o parênquima e os contornos testiculares, bem como da bolsa testicular, em busca de informações acerca de varicoceles, degenerações, neoplasias, cálculos, torções, abscessos, criptorquidismo e isquemias (JOHNSON, 1995; FREITAS *et al.*, 2013; LU *et al.*, 2014; DE BRITO *et al.*, 2015; DE SOUZA *et al.*, 2015; SAMIR *et al.*, 2015; HIRAI *et al.*, 2017; JUNIOR *et al.*, 2018).

Dentre as causas de infertilidade, uma delas está associada à isquemia testicular (HIRAI *et al.*, 2017), sendo que a irrigação sanguínea do testículo

é realizada pela artéria testicular (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

A artéria testicular descende diretamente da aorta, passando pelo canal inguinal até inserir-se no cordão espermático e adquirir um padrão convoluto (MOSTAFA *et al.*, 2008). Neste momento ela entremeia-se com o plexo pampiniforme, para que seja realizada a regulação da temperatura sanguínea no vaso oxigenado (NOORDHUIZEN-STASSEN *et al.*, 1985).

Uma das funções da bolsa testicular é manter os testículos afastados do abdômen, diminuindo a temperatura do órgão entre 4 a 6° C abaixo da temperatura corpórea para que a espermatogênese ocorra normalmente (BOLLWEIN *et al.*, 2008; BIGLIARDI *et al.*, 2018). Fatores como a sudorese e ação do músculo cremaster também auxiliam nesta redução.

É nesta região onde acontece a troca de calor contracorrente na qual a artéria aproveita a menor temperatura do plexo pampiniforme para realizar a transferência de calor com a rede de vasos venosos, fazendo com que haja diminuição da temperatura sanguínea arterial (BARROS *et al.*, 2001).

Para que os testículos sejam oxigenados adequadamente é necessário que haja perfusão sanguínea constante, com baixa velocidade e resistividade de fluxo sanguíneo (TRAUTWEIN *et al.*, 2020). A artéria testicular causa uma pressão intratesticular menor do que em outros órgãos, a qual é um pouco maior que a própria pressão venosa. Por isso que distúrbios vasculares influenciam diretamente no funcionamento do órgão (BIGLIARDI *et al.*, 2018). Essa hemodinâmica é importante para que os testículos consigam realizar a troca gasosa entre o sangue e o parênquima do órgão (CARVALHO *et al.*, 2008).

O principal método utilizado para aferição do fluxo sanguíneo da artéria testicular em animais domésticos é a ultrassonografia Doppler (ENGLAND *et*

al., 2017; ORTIZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2017; TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

A ultrassonografia em modo B possibilita avaliar estruturas biológicas por meio do eco ultrassonográfico. Com o advento da ultrassonografia em modo Doppler, em associação ao modo B, foi possível realizar a análise de estruturas que se movem pelo corpo (BRITO, 2015). Em pequenos animais sua principal utilização é na avaliação da hemodinâmica de vasos sanguíneos, como a localização de estenoses luminais, avaliação de alterações cardíacas, detecção de batimentos cardíacos fetais, localização de embolias gasosas e monitoração da pressão arterial (BOUSSUGES *et al.*, 1999; BRITO, 2015; GIANNICO *et al.*, 2016; NUFFER *et al.*, 2017; BATISTA *et al.*, 2018).

Para a utilização da técnica do Doppler, nos aparelhos mais modernos há a sobreposição de uma imagem colorida acima da monitoração em tempo real realizada pelo modo B. A imagem colorida (aqui chamada de Doppler colorido), representa um mapeamento dos elementos móveis dentro de uma amostra selecionada (CARVALHO *et al.*, 2008). A sobreposição destas imagens também pode ser chamada de Doppler duplex, exemplificado na Figura 01.

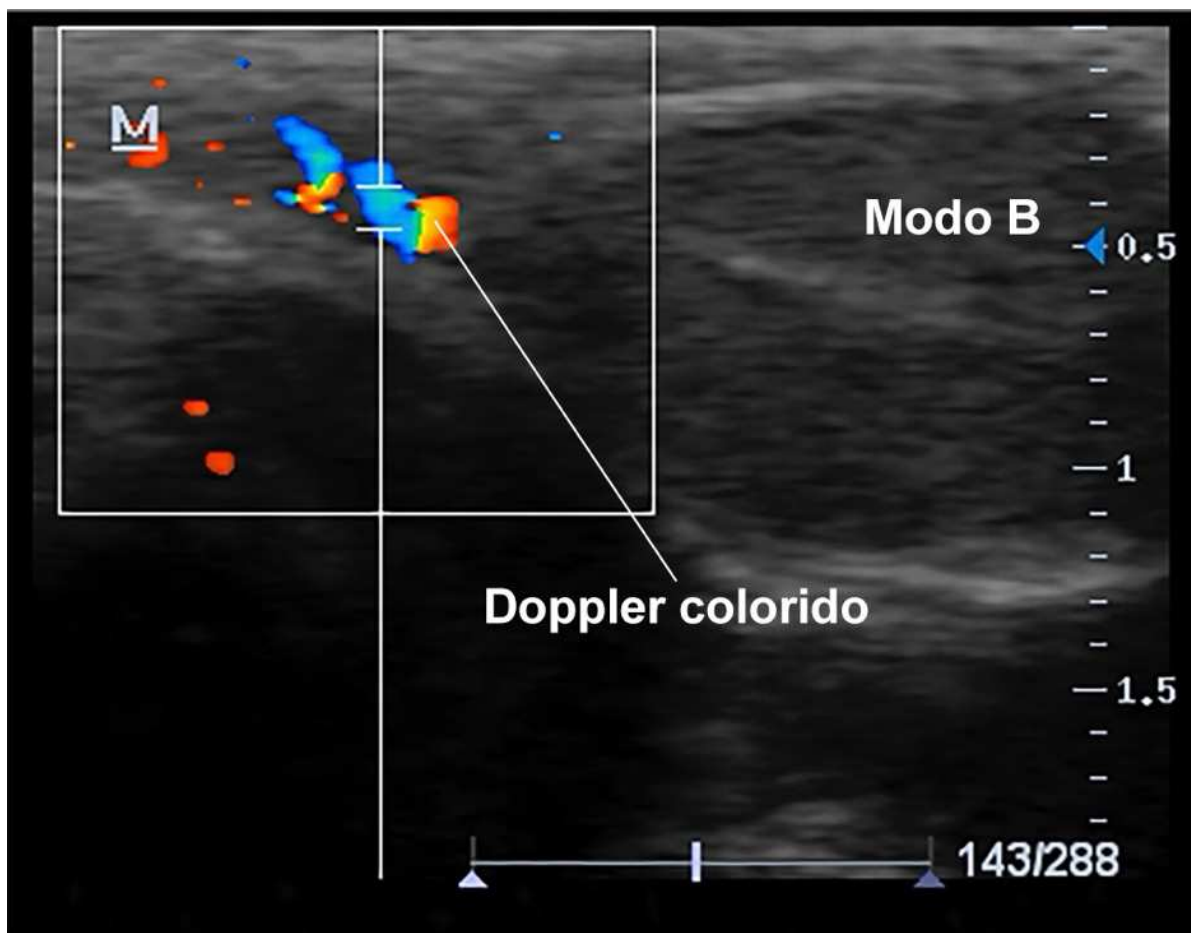


Figura 01. Doppler duplex da artéria testicular de um felino doméstico. O modo duplex é formado pelo modo B associado a uma sobreposição em tempo real do Doppler colorido. Fonte: arquivo pessoal

Com o Doppler colorido é possível visualizar bidimensionalmente o fluxo sanguíneo em tempo real, porém, não havia métodos quantitativos para avaliá-lo. Para que isso fosse possível foi desenvolvida a técnica de Doppler pulsado, na qual é possível mensurar a velocidade de fluxo sanguíneo em determinado ponto do vaso (SOUZA *et al.*, 2014).

Com a associação do modo B, do Doppler colorido e do Doppler pulsado tem-se o que é chamado de Doppler tríplex (Figura 02). Com esta ferramenta, a partir da localização do vaso sanguíneo pelo Doppler colorido, é adicionado um *gate*

acima do vaso, permitindo com que seja possível isolá-lo e determinar os parâmetros da sua Doppler velocimetria, ou seja, os parâmetros de velocidade sanguínea arterial ou venosa.

O máximo sinal Doppler é obtido quando o trajeto do objeto e o feixe são paralelos, sendo mínimo quando o trajeto e o feixe são perpendiculares. Portanto, objeto avaliado for oblíquo ou perpendicular é necessário realizar uma equação de ajuste da variação do ângulo (θ) com a função cosseno, cujo valor é máximo para o ângulo zero ($\cos 0^\circ = 1$) e mínimo para o ângulo reto ($\cos 90^\circ = 0$). Teoricamente, não ocorre desvio Doppler quando o transdutor é posicionado de modo perpendicular à direção do vaso. Sendo assim, das variáveis Doppler, o ângulo é a que mais exige a atenção do ultrassonografista, visto que variações em ângulos maiores que 60° implicam em erros enormes na estimativa da velocidade. Na prática 60° torna-se o limite aceitável para estimativas de velocidade (BRITO, 2015).

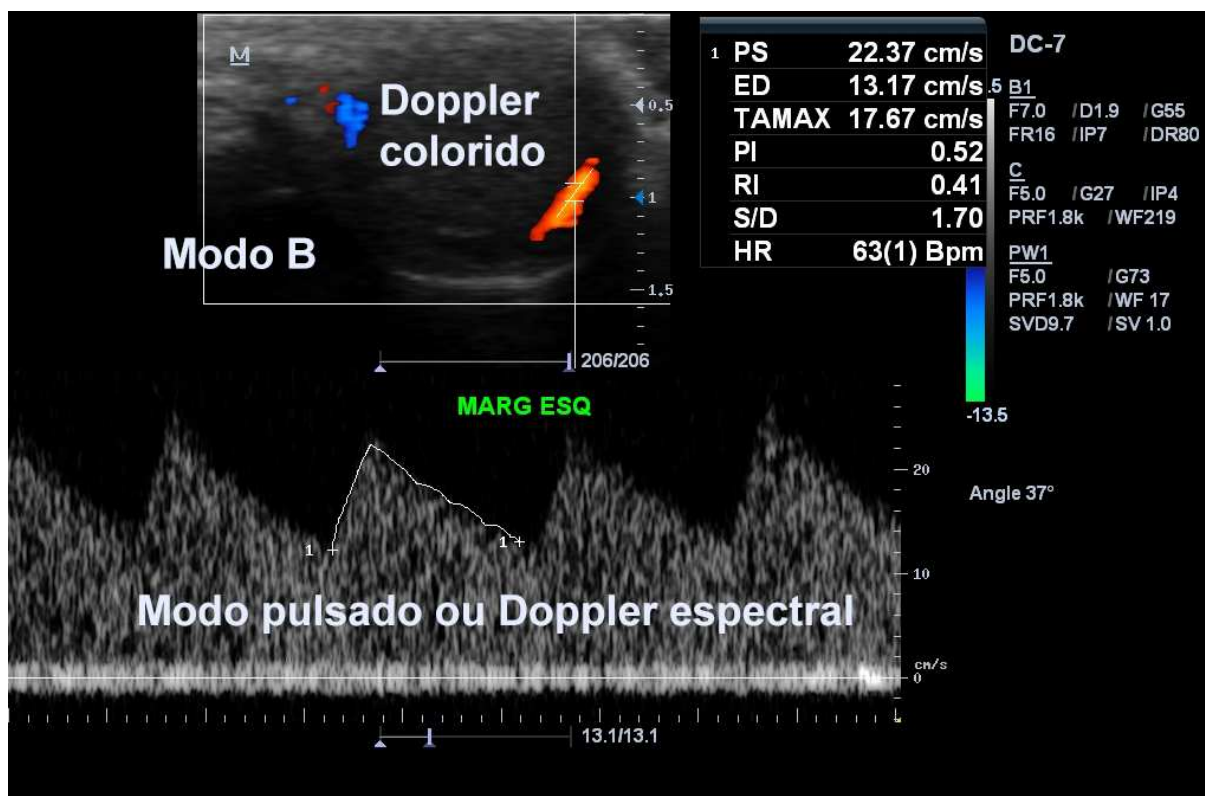


Figura 02. Doppler triplex da artéria testicular de um felino doméstico. O Doppler triplex é formado pela união dos modos B, Doppler colorido e Doppler pulsado ou espectral. Note a angulação de 37°, corrigida pelo software do aparelho ultrassonográfico. Fonte: arquivo pessoal.

O Doppler pulsado utiliza gráficos em formato de onda para mostrar a velocidade do fluxo sanguíneo durante um determinado tempo, como um espectro, por isso também é chamado de Doppler espectral (CARVALHO *et al.*, 2008). O gráfico é formado por dois eixos: o eixo x (horizontal) é referente ao tempo e o eixo y (vertical) é referente à velocidade do fluxo sanguíneo no local mensurado. Em artérias, durante a sístole há uma alta velocidade de fluxo, demonstrado por uma rápida deflexão positiva no eixo y, como demonstrado na Figura 03. Isso é seguido por um rápido declínio do fluxo durante a diástole (NUFFER *et al.*, 2017). Quando o ponto mais baixo da diástole é alto, há mais fluxo durante a diástole, caracterizando fluxo de baixa

resistividade. Se o fluxo é baixo ou nulo, há menos fluxo durante a diástole, caracterizando fluxos de alta resistividade (HOTTA *et al.*, 2015).

Por meio das informações obtidas pelo gráfico, é possível realizar a determinação de alguns parâmetros qualitativos – como o formato da onda – bem como quantitativos, de velocidades.

O pico de velocidade sistólica (PSV, do inglês *peak systolic velocity*) consiste na maior velocidade aferida naquele vaso durante a sístole. Logo após a contração do ventrículo e, conseqüentemente, durante a diástole, é aferida a velocidade diastólica final (EDV, *end diastolic velocity*), caracterizada como a menor velocidade no espectro.

Com base nestas duas velocidades é possível calcular o índice de resistividade (RI, *resistivity index*) e o índice de pulsatilidade (PI, *pulsatility index*). Estes índices permitem a comparação entre as duas velocidades do vaso e são utilizados na avaliação de estenoses, trombozes ou em vasos periféricos com resistência aumentada (CARVALHO *et al.*, 2008). Para o cálculo destes índices, utiliza-se as seguintes equações:

$$RI = \frac{PSV - EDV}{PSV}$$

$$PI = \frac{PSV - EDV}{\text{Velocidade média}}$$

Estes índices não sofrem interferência do ângulo de insonação, já que esse parâmetro é anulado nas fórmulas utilizadas para seu cálculo, o que é de muita valia na avaliação de artérias pequenas, onde o ângulo não pode ser posicionado de maneira adequada. Quanto menores esses índices, menor a resistência ao fluxo sanguíneo (HOTTA *et al.*, 2015).

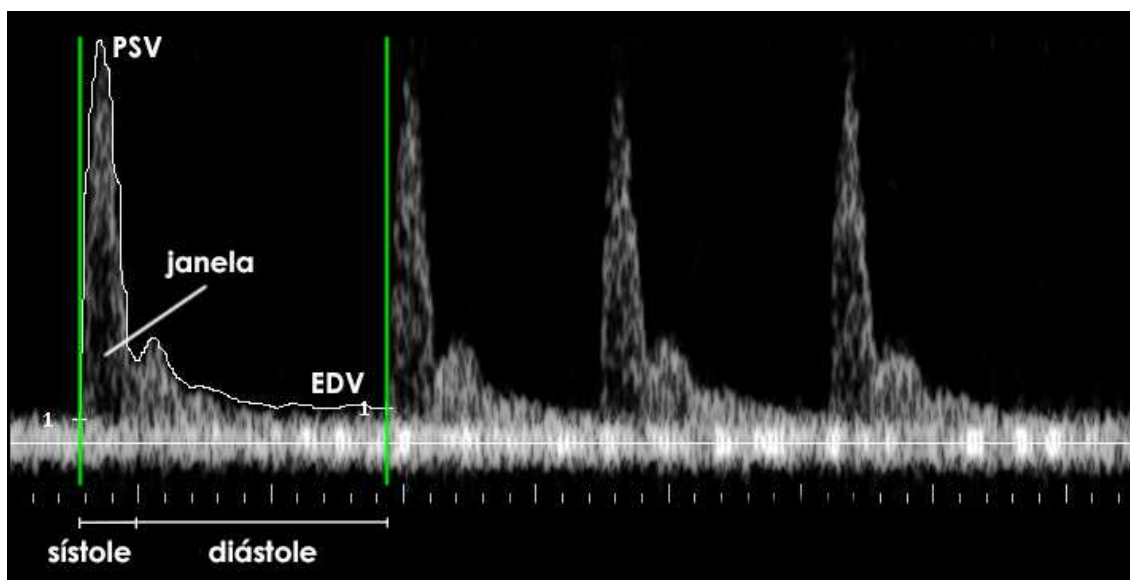


Figura 03. Gráfico de onda Doppler pulsada, dividido em sístole e diástole, exemplificado onde é realizada a mensuração do pico de velocidade sistólica (PSV), a velocidade sistólica final (EDV), bem como a janela de onda Doppler. Fonte: arquivo pessoal.

A ultrassonografia Doppler para detecção do fluxo sanguíneo testicular em humanos já é realidade desde os anos 70 (MILLERET, 1976). Porém, apenas nos anos 2000 começou a ser estudada em animais de companhia (GUMBSCH *et al.*, 2002).

No homem, além de uma maior casuística de torções testiculares, esta técnica é utilizada especialmente no diagnóstico de crianças e adolescentes com suspeitas de varicocele, possibilitando a detecção do fluxo venoso alterado (DUBINSKY *et al.*, 1998; SANCHEZ GUERRERO *et al.*, 2004; SCHNEBLE *et al.*, 2011; UR REHMAN *et al.*, 2017; COCUZZA *et al.*, 2020). Em animais domésticos a avaliação testicular Doppler já foi descrita em cães (GUMBSCH *et al.*, 2002; CARRILLO *et al.*, 2012; ZELLI *et al.*, 2013; DE SOUZA *et al.*, 2015; TRAUTWEIN *et al.*, 2019; TRAUTWEIN *et al.*, 2020); gatos (DE BRITO *et al.*, 2015); garanhões

(POZOR e MCDONNELL, 2004; BOLLWEIN *et al.*, 2008; ORTEGA-FERRUSOLA *et al.*, 2014; ORTIZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2017); asininos (GACEM *et al.*, 2020); touros (GUIDO *et al.*, 2014; GLORIA *et al.*, 2018; JUNIOR *et al.*, 2018); bodes (SAMIR *et al.*, 2015); e carneiros (BATISSACO *et al.*, 2013).

Devido à grande extensão da artéria testicular, é possível realizar a análise Doppler em diversas localizações da artéria, porém, usualmente após o anel inguinal. Em cães, por exemplo, foram descritas cinco regiões distintas com possibilidade de aferição (TRAUTWEIN *et al.*, 2019):

- a) Região suprategicular: referente à entremeação da artéria no cordão espermático e plexo pampiniforme, que por sua vez pode ser subdividida em três sub-regiões:
 - i. Região suprategicular proximal: é a localização mais próxima do anel inguinal, onde a artéria é menos convoluta;
 - ii. Região suprategicular média: localização ao centro entre o anel inguinal e o testículo
 - iii. Região suprategicular distal: localização mais próxima do testículo, antes que a artéria adentre ao órgão
- b) Região marginal: segue aposta ao epidídimo, lateralizada à margem do testículo e próxima à cápsula testicular, até o seu ramo terminal penetrar no parênquima testicular, onde segue próxima ao mediastino
- c) Região intrategicular: ao adentrar ao parênquima testicular por meio da região marginal, a artéria se ramifica em diversas porções

em direção ao centro do testículo.

Embora estas regiões tenham sido relatadas em cães, as suas localizações podem variar em outras espécies devido à própria variação de conformação anatômica. Em gatos, ao conhecimento dos autores, há apenas um artigo publicado e descrito até o momento, a aferição foi realizada apenas na porção suprategicular da artéria, sem especificar suas sub-regiões (DE BRITO *et al.*, 2015). É sabido que a descrição detalhada destas localizações é de extrema importância, visto que pequenas alterações no local de aferição podem influenciar nos resultados obtidos (TRAUTWEIN *et al.*, 2019). Na Tabela 01 é possível visualizar os valores do PSV da artéria testicular em diferentes espécies.

Tabela 01. Descrição das velocidades de pico sistólico (PSV) encontradas por diferentes autores, em diferentes espécies e condições. Modificado de TRAUTWEIN *et al.* (2019).

Autor	Espécie	Porte	N	PSV (cm/s) nas regiões aferidas								Observações		
				Suprategesticular proximal		Suprategesticular média		Suprategesticular distal		Marginal			Intrategesticular	
				Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo		Direito	Esquerdo
DE BRITO <i>et al.</i> (2015)	Fel	-	45	-	-	6,23	6,73	-	-	-	-	-	-	
GACEM <i>et al.</i> (2020)*	Asi	-	5	72,43	-	56,51	29,14	-	-	-	-	-	-	
TRAUTWEIN <i>et al.</i> (2019)	Can	variado	22	23,09	17,09	12,16	11,35	5,7	5,7	5,8	5,8	5,7	5,8	férteis
GLORIA <i>et al.</i> (2018)	Bov	-	18	-	-	14,1	13,8	6,3	6,5	5,7	5,8	5,7	5,8	férteis
ORTIZ-RODRIGUEZ <i>et al.</i> (2017)	Equ	-	7	-	-	24,96	-	-	-	10,08	-	10,08	-	férteis
ORTIZ-RODRIGUEZ <i>et al.</i> (2017)	Equ	-	3	-	-	26,91	-	-	-	8,09	-	8,09	-	subférteis
DE SOUZA <i>et al.</i> (2015a)	Can	grande	10	-	-	13,34	11,27	6,87	6,87	6,87	6,87	6,87	6,87	adultos
DE SOUZA <i>et al.</i> (2015a)	Can	grande	10	-	-	7,98	8,02	5,42	5,42	5,42	5,42	5,42	5,42	pré-púberes
DE SOUZA <i>et al.</i> (2015b)	Can	grande	10	-	-	12,82	13,82	10,96	2,89	7,09	6,57	7,09	6,57	férteis
DE SOUZA <i>et al.</i> (2015b)	Can	grande	10	-	-	10,3	11,27	8,8	8,96	6,25	6,23	6,25	6,23	Inférteis
SOUZA <i>et al.</i> (2014)	Can	pequeno	10	-	-	14,2	12,67	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	6,97	-
DE SOUZA <i>et al.</i> (2014)	Can	médio	21	-	-	12,26	12,9	12,58	12,89	-	-	-	-	férteis
SOUZA <i>et al.</i> (2014)	Can	grande	10	-	-	13,34	11,27	6,87	6,87	6,87	6,87	6,87	6,87	-
CARRILLO <i>et al.</i> (2012)	Can	médio	5	-	-	14,83	10,81	6,31	6,31	6,31	6,31	6,31	6,31	férteis
POZOR e MCDONNELL (2004)	Equ	-	52	-	-	26,1	22,2	-	-	-	-	-	-	férteis
GUMBSCH <i>et al.</i> (2002)	Can	variado	42	-	-	36	22	13	13	13	13	13	13	cães de diversos portes
GUNZEL-APEL <i>et al.</i> (2001)	Can	médio	5	-	-	31,8	39,97	-	-	-	-	-	-	testículos com neoplasia

*Autores trataram as regiões com diferente nomenclatura, porém, o local de aferição assemelha-se com as descrições clássicas de literatura
 Can: caninos; Fel: felinos; Equ: equinos; Asi: asininos; Bov: bovinos.

DEGENERAÇÃO TESTICULAR

Os testículos são os órgãos responsáveis pela produção de espermatozoides, bem como a produção de testosterona. São revestidos por uma cápsula fibrosa chamada túnica albugínea e seu interior é subdividido em região intersticial e região intratubular. A região intersticial é composta, essencialmente, pelas células de Leydig (responsáveis pela produção de testosterona), enquanto os túbulos seminíferos são revestidos por uma camada mioide e em seu interior encontram-se as células de Sertoli, que fornecem apoio, nutrientes e citocinas para a espermatogênese. As células de Sertoli também têm a função de barreira, chamada barreira hemato-testicular (FOSTER, 2013). A espermatogênese, por sua vez, é realizada pelas células-tronco germinativas, sendo dividida em três fases: proliferativa (com a mitose das espermatogônias), meiótica (com formação dos espermatócitos) e espermatogênica (formação das espermátides e espermatozoides) (NISHIMURA e L'HERNAULT, 2017).

Histologicamente, o parênquima testicular é constituído por túbulos seminíferos e tecido intersticial. Nos túbulos seminíferos encontram-se as células da linhagem germinativa, que culminam com a produção de espermatozoides, e as células de Sertoli, às quais por conta de sua morfologia, promovem a sustentação das outras linhagens celulares (Figura 04).

A degeneração testicular é caracterizada pela deterioração dos túbulos seminíferos, fazendo com que haja perda de função da linhagem germinativa (GARCIA, 2017). Essa é uma das principais causas de infertilidade em machos (THOMÉ *et al.*, 2007). Diversos fatores podem contribuir para que haja a degeneração testicular, como traumas testiculares, agentes infecciosos, fatores nutricionais, isquemia, causas medicamentosas, estresse térmico, irradiação entre outras (BERGH

et al., 2001; HASSAN *et al.*, 2004; RAZI *et al.*, 2012; KANTER *et al.*, 2013; ZOBELI *et al.*, 2013; PARRISH *et al.*, 2017; PUGGIONI *et al.*, 2018).

Inicialmente, a degeneração acontece pela perda e vacuolização das células germinativas. Com o avanço da lesão essa perda se intensifica, com o acúmulo destas células na luz do túbulo seminífero e redução na espessura do epitélio germinativo (GARCIA, 2017). Nos casos mais graves poderá haver a perda completa das células germinativas, restando apenas as células de Sertoli, responsáveis pela sustentação tubular (THOMÉ *et al.*, 2007). O avanço da lesão se dá, além da intensidade da injúria, pelo tempo de exposição ao agente causador. Em casos leves e na qual o agente causador é temporário a lesão pode se reverter, porém, nos casos mais graves ela pode tornar-se permanente (FOSTER, 2013).

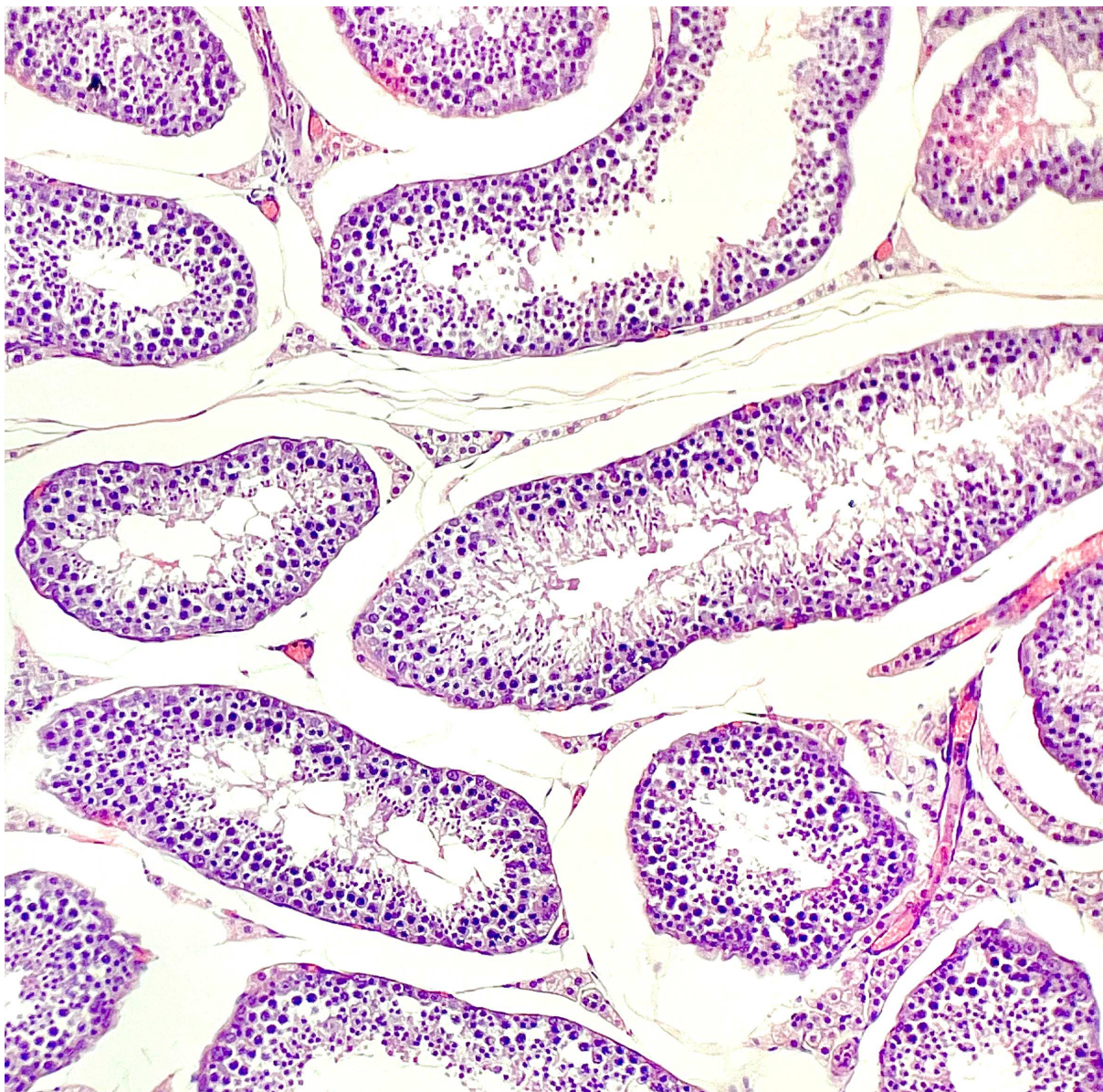


Figura 04. Corte histológico normal de testículo de gato. É possível observar todas as camadas celulares germinativas no túbulo seminífero. Fonte: arquivo pessoal (HE, 20x).

Macroscopicamente o testículo degenerado pode apresentar-se com diminuição de tamanho e macio à palpação. Em casos crônicos ele se apresentará firme, com áreas de mineralização. A degeneração poderá ser focal ou difusa, inclusive com a formação de “ilhas” de túbulos degenerados em casos de isquemia (FOSTER, 2013).

Inicialmente a degeneração causa a interrupção de uma ou mais fases do ciclo espermatogênico. Conforme ela progride a membrana basal se torna mais espessa, há a redução no número de células germinativas (Figura 05), com vacuolização das células de Sertoli, espermátides multinucleadas no lúmen do túbulo seminífero e, nos casos mais graves, fibrose intersticial (THOMÉ *et al.*, 2007).

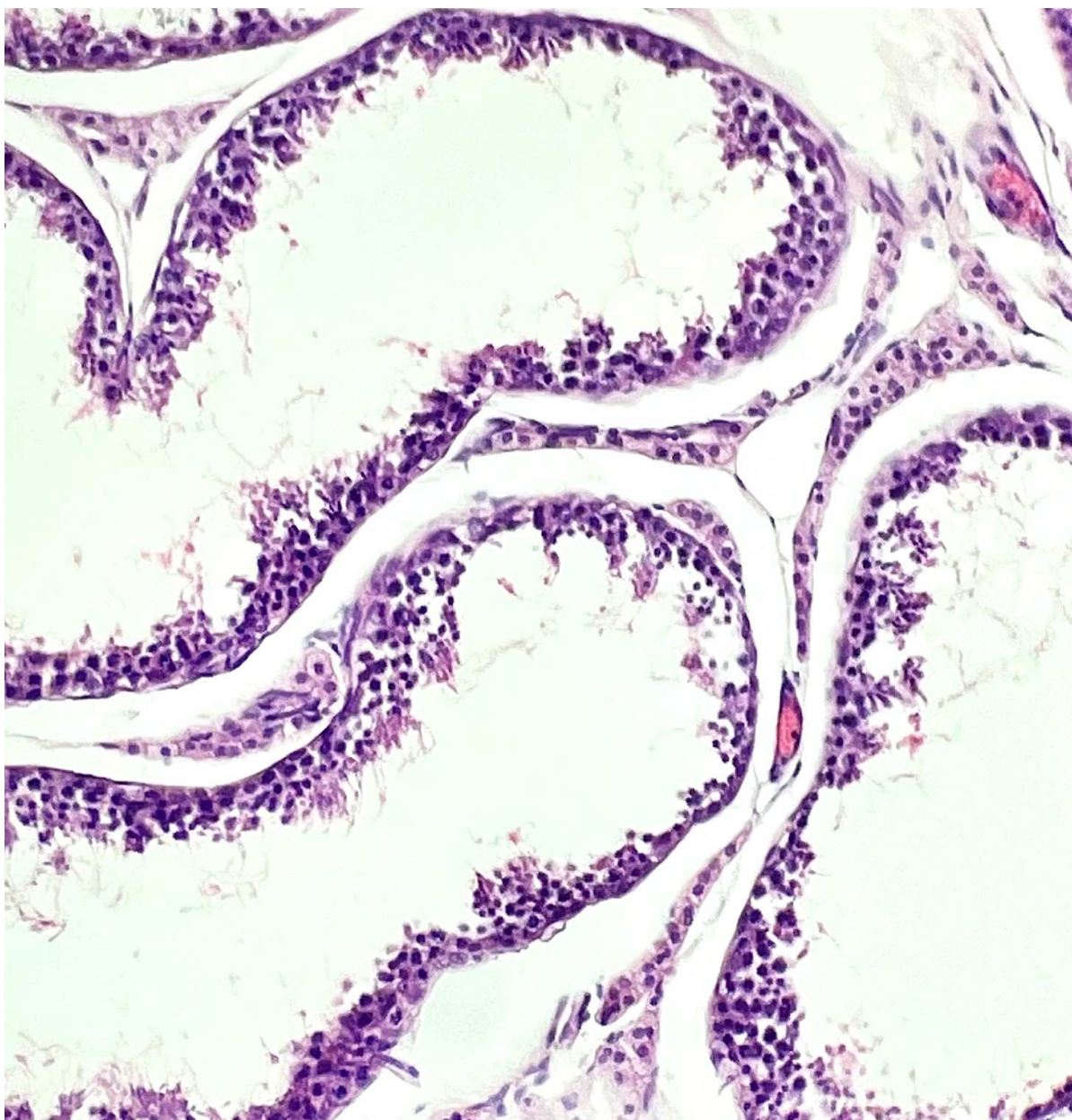


Figura 05. Túbulos seminíferos com degeneração moderada. Houve a perda da continuidade das camadas celulares germinativas nos túbulos seminíferos (HE, 40x).

Fonte: arquivo pessoal.

2.1 ANÁLISE ESPERMÁTICA

A avaliação desta função testicular geralmente é realizada por meio do exame andrológico, que inclui alguns parâmetros físicos como a concentração espermática (AMANN, 2010), volume e consistência testicular, morfologia dos espermatozoides, motilidade e vigor espermático (SOUZA, 2017), sendo estas duas últimas consideradas avaliações microscópicas subjetivas.

Com a avaliação microscópica do sêmen é possível visualizar os espermatozoides, alguns movendo-se rapidamente pelo campo em trajetória linear, enquanto outros podem possuir movimentos rápidos, porém circulares, ao passo que alguns permanecem lentos ou até mesmo estáticos. Devido a esse grande número de células agindo de forma diferente é de se esperar que seja uma análise complexa demais para ser avaliada subjetivamente (GALLAGHER *et al.*, 2018).

Sendo assim, o conceito do sistema de análise computadorizada de sêmen (sistema CASA, do inglês *computer-assisted sperm analysis*) foi desenvolvido para proporcionar uma análise acurada e precisa em relação à viabilidade, dinâmica e morfologia espermática (LU *et al.*, 2014). O sistema CASA permite uma análise precisa, rápida, objetiva e simultânea de diferentes parâmetros do sêmen, que não poderiam ser avaliados pela análise convencional (RIJSSELAERE *et al.*, 2012).

A avaliação computadorizada é realizada por um microscópio óptico acoplado a uma câmera e um computador (JOHNSON *et al.*, 1996). A análise com a maioria dos sistemas CASA baseia-se na avaliação do trajeto da cabeça do espermatozoide, sendo que alguns outros sistemas avaliam a presença de cauda, de

forma a auxiliar a exclusão de debris celulares da análise (GALLAGHER *et al.*, 2018).

A câmera acoplada ao microscópio fornece ao *software* entre 50 a 60 quadros por segundo. Com isso, o movimento dos espermatozoides é avaliado individualmente e o computador fornece informações sobre o posicionamento dos espermatozoides em cada quadro (AMANN e WABERSKI, 2014).

O processamento da imagem do sistema CASA fornece uma trajetória para cada espermatozoide com base na localização de sua cabeça (conectando os centróides a uma trajetória real, denominada caminho curvilíneo). Isso permite com que o sistema nos forneça uma série de variáveis quantitativas sobre o movimento celular.

A velocidade calculada no tempo ao longo desta trajetória é denominada velocidade curvilínea (VCL, aferida em $\mu\text{m/s}$). O caminho médio é calculado e a velocidade média ao longo desta trajetória é denominada velocidade média de trajetória (VAP, $\mu\text{m/s}$). Uma linha reta entre a primeira posição da cabeça e a última é desenhada, e a velocidade ao longo dessa trajetória é chamada de velocidade linear progressiva (VSL, $\mu\text{m/s}$). Para cada localização do centróide há um desvio de caminho, à qual denomina-se amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH, μm). Da mesma forma, existem pontos em que o caminho curvilíneo cruza o caminho médio e o número dessas interseções é denominado frequência de batimento flagelar cruzado (BCF, Hz) (AMANN e WABERSKI, 2014). A terminologia do sistema CASA pode ser melhor compreendida na Figura 06.

O sistema CASA também pode quantificar a porcentagem dos espermatozoides de acordo com o seu movimento em rápidos, médios, lentos ou estáticos. Nos últimos anos, interpretações dos resultados fornecidos pelo sistema CASA incluem a classificação em clusters de subpopulações espermáticas, novos

modelos matemáticos, bem como a avaliação dos movimentos flagelares (GALLAGHER *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2018).

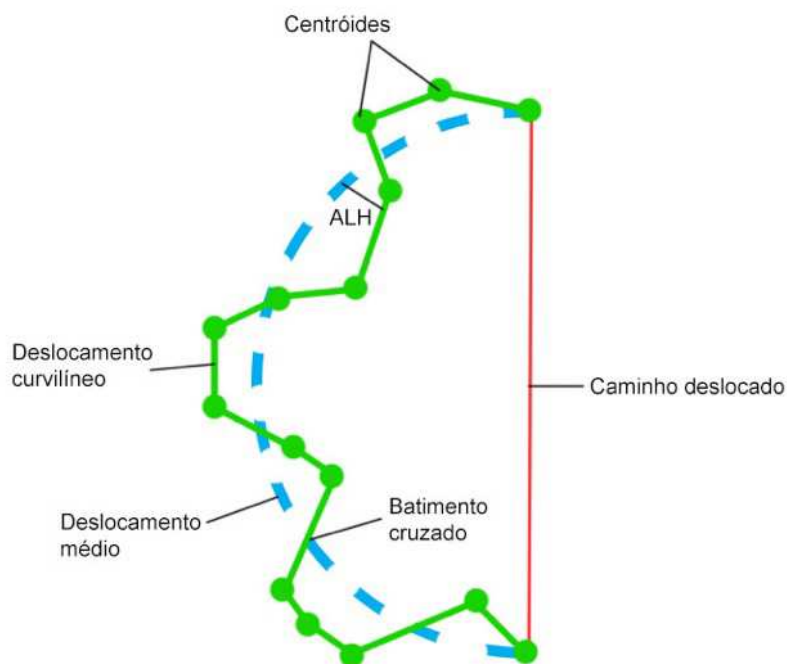


Figura 06 – Ilustração com a terminologia do sistema CASA demonstrando os centróides, o deslocamento curvilíneo, amplitude de deslocamento lateral de cabeça (ALH), caminho deslocado, deslocamento médio e batimento cruzado. Adaptado de AMANN e WABERSKI (2014).

Para avaliar a qualidade espermática também é fundamental a mensuração das características morfológicas dos espermatozoides, na qual poderão ser utilizados esfregaços corados em microscópio óptico ou preparação úmida, em microscópio de contraste de fase ou de interferência diferencial, associados ou não (CBRA, 2013).

Colorações podem ser utilizadas para visualização de estruturas específicas dos espermatozoides, como o Karras modificado ou a eosina-nigrosina

(PAPA *et al.*, 1988; DAUB *et al.*, 2016), com as quais é possível avaliar a taxa de defeitos na morfologia espermática, bem como se há lesões na membrana acrossomal. A avaliação morfológica é importante pois a taxa de fertilidade foi correlacionada positivamente com a porcentagem de espermatozoides normais na espécie canina (MICKELSEN *et al.*, 1993; OETTLE, 1993).

A análise do sêmen felino é desafiadora pelo seu baixo volume de ejaculado, que pode variar de dezenas a poucas centenas de μL (AXNÉR e LINDE FORSBERG, 2007), fazendo com que o sêmen torne-se mais concentrado, chegando a 300×10^6 espermatozoides por mL (LIMA *et al.*, 2016). Para a avaliação da concentração no sistema CASA é indicado que haja a concentração de 401 a 800 células por campo (SCHNITZER *et al.*, 2019).

Devido à complexidade inerente à espécie, novos métodos de diagnóstico relacionados à reprodução felina devem ser estudados, especialmente levando-se em consideração as espécies selvagens, na qual em projetos de reprodução assistida muitas vezes não há todo o suporte laboratorial presente a campo, necessitando de alternativas seguras e viáveis.

2.4 DEXMEDETOMIDINA E CETAMINA

Diversos medicamentos têm sido utilizados na reprodução de felídeos com o intuito de realizar sedação para a colheita de sêmen, em especial a dexmedetomidina e a cetamina (MADRIGAL-VALVERDE *et al.*, 2021).

A dexmedetomidina é um agonista α_2 -adrenérgico altamente seletivo, com efeitos sedativos e analgésicos, utilizada para sedações curtas a prolongadas (KEATING, 2015). Uma de suas características é uma sedação “cooperativa”, na qual

o paciente passa por uma tranquila transição do estado sedado para o acordado, semelhante ao sono natural (LEE, 2019).

Seu mecanismo de ação é baseado na supressão da descarga noradrenérgica no *locus cereleus* no tronco encefálico, que leva a uma perda da consciência através da ativação da via endógena promotora do sono (NACIF-COELHO *et al.*, 1994; NELSON *et al.*, 2003). A dose de ataque de dexmedetomidina causa um aumento transitório na pressão arterial e um reflexo de diminuição da frequência cardíaca devido à vasoconstrição periférica estimulada pelos receptores α -2B no músculo liso dos vasos sanguíneos. Todavia, uma hipotensão subsequente poderá acontecer quando os efeitos vasodilatadores dos receptores α -2A centrais predominarem (LEE, 2019).

A cetamina foi sintetizada em 1962 devido à necessidade de um composto menos alucinógeno que a fenciclidina, utilizada como sedativo dissociativo em campos de batalha e em crianças (DOMINO *at al.*, 1965a; DOMINO *et al.*, 1965b; PELTONIEMI *et al.*, 2016). Hoje, é o anestésico mais utilizado na medicina veterinária em todo o mundo (MORGAN e CURRAN, 2012)

Em altas doses a cetamina produz anestesia e analgesia e em baixas doses age como analgésico. Seus principais efeitos são mediados pelo antagonismo não-competitivo dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) no sistema nervoso central (PELTONIEMI *et al.*, 2016). Sua utilização poderá causar leve a moderado aumento de pressão arterial, frequência cardíaca e débito cardíaco devido ao aumento na atividade simpatomimética (GODDARD *et al.*, 2021).

O uso da dexmedetomidina e cetamina têm sido utilizado com sucesso na obtenção de ejaculados em felídeos domésticos e selvagens (PISU *et al.*, 2017; ARAUJO *et al.*, 2018; MADRIGAL-VALVERDE *et al.*, 2021). Estas técnicas,

além de contribuírem para o manejo de programas de restabelecimento de fauna, com a coleta de sêmen, podem auxiliar no desenvolvimento de novas metodologias de avaliação andrológica, como é caso da análise Doppler velocimétrica da artéria testicular.

REFERÊNCIAS

AMANN, R. P. Evaluating testis function non-invasively: how epidemiologist-andrologist teams might better approach this task. **Human Reproduction (Oxford, England)**, 25, n. 1, p. 22-28, 2010.

AMANN, R. P.; WABERSKI, D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. **Theriogenology**, 81, n. 1, p. 5-17.e11-13, 2014.

ARAUJO, G. R.; PAULA, T. A. R.; DECO-SOUZA, T.; MORATO, R. G.; BERGO, L. C. F.; SILVA, L. C.; COSTA, D. S.; BRAUD, S. Comparison of semen samples collected from wild and captive jaguars (*Panthera onca*) by urethral catheterization after pharmacological induction. **Animal Reproduction Science**, v. 195; p. 1-7, 2018.

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, n. 1, p. 49-54, 2001.

BATISSACO, L.; CELEGHINI, E. C. C.; PINAFFI, F. L. V.; OLIVEIRA, B. M. M.; ANDRADE, A. F. C.; RECALDE, E. C. S.; FERNANDES, C. B. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 50, n. 5, p. 384-395, 2013.

BATISTA, P. R.; GOBELLO, C.; RUBE, A.; BARRENA, J. P.; RE, N. E.; BLANCO, P. G. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. **Theriogenology**, 114, p. 81-84, 2018.

BERGH, A.; COLLIN, O.; LISSBRANT, E. Effects of acute graded reductions in testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. **Biology of Reproduction**, 64, n. 1, p. 13-20, 2001.

BIGLIARDI, E.; DENTI, L.; DE CESARIS, V. Colour Doppler ultrasound imaging of blood flows variations in neoplastic and non-neoplastic testicular lesions in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, 2018.

BOLLWEIN, H.; SCHULZE, J. J.; MIYAMOTO, A.; SIEME, H. Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in the stallion after the administration of human chorionic gonadotropin. **The Journal of reproduction and development**, 54, n. 5, p. 335-339, 2008.

BOUSSUGES, A.; MOLENAT, F.; CARTURAN, D.; GERBEAUX, P.; SAINTY, J. M. Venous gas embolism: detection with pulsed Doppler guided by two-dimensional echocardiography. **Acta anaesthesiologica Scandinavica**, 43, n. 3, p. 328-332, 1999.

BRITO, L. D. C. A Física do Doppler. *In*: ROMUALDO, A. P. (Ed.). **Doppler sem segredos**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. v. 1, p. 5-16.

CARRILLO, J. D.; SOLER, M.; LUCAS, X.; AGUT, A. Colour and pulsed Doppler ultrasonographic study of the canine testis. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47, n. 4, p. 655-659, 2012.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Physical principles of Doppler ultrasonography. **Ciência Rural**, 38, n. 3, p. 872-879, 2008.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COCUZZA, M. S.; TISEO, B. C.; SROUGI, V.; WOOD, G. J. A.; CARDOSO, J.; ESTEVES, S. C.; SROUGI, M. Diagnostic accuracy of physical examination compared with color Doppler ultrasound in the determination of varicocele diagnosis and grading: Impact of urologists' experience. **Andrology**, 8, n. 5, p. 1160-1166, 2020.

COSTA, S. D.; PAULA, T. A. R. Espermatogênese em mamíferos. **Scientia Vila Velha**, v. 4, n. 1/2, p. 53-72, 2003.

DAUB, L.; GEYER, A.; REESE, S.; BRAUN, J.; OTZDORFF, C. Sperm membrane integrity in fresh and frozen-thawed canine semen samples: a comparison of vital stains with the NucleoCounter SP-100. **Theriogenology**, 86, n. 2, p. 651-656, 2016.

DE BRITO, M.; FELICIANO, M.; COUTINHO, L. N.; USCATEGUI, R. R.; SIMÕES, A.; MARONEZI, M. C.; DE ALMEIDA, V. T.; CRIVELARO, R. M.; GASSER, B.; PAVAN, L.; RUSSIANO, W. R. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. **Reproduction in Domestic Animals**, 50, n. 5, p. 730-734, 2015.

DE SOUZA, M. B.; ENGLAND, G. C.; MOTA FILHO, A. C.; ACKERMANN, C. L.; SOUSA, C. V.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; OBA, E.; DA SILVA, L. D. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. **Theriogenology**, 84, n. 5, p. 805-810, 2015.

DUBINSKY, T. J.; CHEN, P.; MAKLAD, N. Color-flow and power Doppler imaging of the testes. **World journal of urology**, 16, n. 1, p. 35-40, 1998.

ENGLAND, G.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; SILVA, L.; MOXON, R. Canine reproductive ultrasound examination for predicting future sperm quality. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 52 Suppl 2, p. 202-207, 2017.

FREITAS, L. A.; PINTO, J. N.; SILVA, H. V.; UCHOA, D. C.; MOTA FILHO, A. C.; SILVA, L. D. M. Doppler e ecobiometria prostática e testicular em cães da raça

Boxer. **Acta Scientiae Veterinariae**, 41, n. 1121, p. 1-9, 2013.

GACEM, S.; PAPAS, M.; CATALAN, J.; MIRÓ, J. Examination of jackass (*Equus asinus*) accessory sex glands by B-mode ultrasound and of testicular artery blood flow by colour pulsed-wave Doppler ultrasound: Correlations with semen production. **Reproduction in Domestic Animals**, 55, n. 2, p. 181-188, 2020.

GALLAGHER, M. T.; SMITH, D. J.; KIRKMAN-BROWN, J. C. CASA: tracking the past and plotting the future. **Reproduction, Fertility, and Development**, 2018.

GIANNICO, A. T.; GARCIA, D. A.; GIL, E. M.; SOUSA, M. G.; FROES, T. R. Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches. **Theriogenology**, 86, n. 7, p. 1654-1661, 2016.

GLORIA, A.; CARLUCCIO, A.; WEGHER, L.; ROBBE, D.; VALORZ, C.; CONTRI, A. Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 9, p. 14, 2018.

GODDARD, K.; SAMPSON, C.; BEDY, S.; GHADBAN, R.; STILLEY, J. Effect of ketamine on cardiovascular function during procedural sedation of adults. **Cureus**, v. 13, n. 3, epub, 2021.

GUIDO, S. I.; GUIDO, F. C. L.; SANTOS FILHO, A. S.; WISCHRAL, A. Correlation between spermatic concentration and vascular characteristics of testis using doppler ultrasonography in young Holstein bulls. **Animal Reproduction**, 11, n. 3, p. 305, 2014.

GUMBSCH, P.; GABLER, C.; HOLZMANN, A. Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. **The Veterinary record**, 151, n. 5, p. 140-144, 2002.

HIRAI, S.; HATAYAMA, N.; NAITO, M.; NAGAHORI, K.; KAWATA, S.; HAYASHI, S.; QU, N.; TERAYAMA, H.; SHOJI, S.; ITOH, M. Pathological effect of arterial ischaemia and venous congestion on rat testes. **Scientific Reports**, 7, n. 1, p. 5422, 2017.

IBTISHAM, F.; WU, J.; XIAO, M.; AN, L.; BANKER, Z.; NAWAB, A.; ZHAO, Y.; LI, G. Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. **Oncotarget**, 8, n. 39, p. 66709-66727, 2017.

JOHNSON, J. E.; BOONE, W. R.; BLACKHURST, D. W. Manual versus computer-automated semen analyses. Part II. Determination of the working range of a computer-automated semen analyzer. **Fertility and Sterility**, 65, n. 1, p. 156-159, 1996.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis. **Microscopy research and technique**, 32, n. 5, p. 385-422, 1995.

JUNIOR, F. A. B.; JUNIOR, C. K.; FAVARO, P. D. C.; PEREIRA, G. R.; MOROTTI, F.; MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; SENEDA, M. M.

Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, 118, p. 16-21, 2018.

KEATING, G. M. Dexmedetomidine: a review of its use for sedation in the intensive care setting. **Drugs**, v.75, p. 1119-1130, 2015.

KOKOUA, A.; TRE YAVO, M.; SANTOS, K. A.; HOMSY, Y.; MOBIOT, M. L.; GNANAZAN BI N'GUESSAN, G. [Importance of the testicular artery: histo-functional approach and comparison between juvenile and adult rats]. **Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes**, 88, n. 280, p. 31-34, 2004.

LEE, S. Dexmedetomidine: present and future directions. **Korean Journal of Anesthesiology**, v. 72, n. 4, p.323-330, 2019.

LU, J. C.; HUANG, Y. F.; LU, N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future. **Andrologia**, 46, n. 4, p. 329-338, 2014.

MADRIGAL-VALVERDE, M.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. D.; BARBOSA, V. F.; VIEIRA, C. A.; ROMÃO, E. A.; CARNEIRO, I. B.; AZEVEDO, M. C.; ARAUJO, G. R. Quality of domestic cat semen collected by urethral catheterization after the use of different alpha 2-adrenergic agonists. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 23, n. 8, p. 745-750, 2021.

MICKELSEN, W. D.; MEMON, M. A.; ANDERSON, P. B.; FREEMAN, D. A. The relationship of semen quality to pregnancy rate and litter size following artificial insemination in the bitch. **Theriogenology**, 39, n. 2, p. 553-560, 1993.

MILLERET, R. Doppler ultrasound diagnosis of testicular cord torsion. **Journal of clinical ultrasound : JCU**, 4, n. 6, p. 425-427, 1976.

MISELL, L. M.; HOLOCHWOST, D.; BOBAN, D.; SANTI, N.; SHEFI, S.; HELLERSTEIN, M. K.; TUREK, P. J. A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. **The Journal of urology**, 175, n. 1, p. 242-246; discussion 246, 2006.

MORGAN, C. J. A.; CURRAN, H. V. Ketamine use: a review. **Addiction**, v. 107, n. 1, p. 27-38, 2012.

MOSTAFA, T.; LABIB, I.; EL-KHAYAT, Y.; EL-RAHMAN EL-SHAHAT, A.; GADALLAH, A. Human testicular arterial supply: gross anatomy, corrosion cast, and radiologic study. **Fertility and sterility**, 90, n. 6, p. 2226-2230, 2008.

NACIF-COELHO, C.; CORREA-SALES, C.; CHANG, L. L.; MAZE, M. Perturbation of ion channel conductance alter the hypnotic response to the alpha 2-adrenergic agonist dexmedetomidine in the locus coeruleus of the rat. **Anesthesiology**, v. 81, 1527-1534, 1994.

NELSON, L. E.; LU, J.; GUO, T.; SAPER, C. B.; FRANKS, N. P.; MAZE, M. The alpha2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converger on an endogenous

sleep-promoting pathway to exert its sedative effects. **Anesthesiology**, v. 98, p. 428-436, 2003.

NETO, F. T.; BACH, P. V.; NAJARI, B. B.; LI, P. S.; GOLDSTEIN, M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. **Seminars in cell & developmental biology**, 59, p. 10-26, 2016.

NISHIMURA, H.; L'HERNAULT, S. W. Spermatogenesis. **Current biology : CB**, 27, n. 18, p. R988-r994, 2017l.

NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; CHARBON, G. A.; DE JONG, F. H.; WENSING, C. J. Functional arterio-venous anastomoses between the testicular artery and the pampiniform plexus in the spermatic cord of rams. **Journal of reproduction and fertility**, 75, n. 1, p. 193-201, 1985.

NUFFER, Z.; RUPASOV, A.; BEKAL, N.; MURTHA, J.; BHATT, S. Spectral Doppler ultrasound of peripheral arteries: a pictorial review. **Clinical imaging**, 46, p. 91-97, 2017.

OETTLE, E. E. Sperm morphology and fertility in the dog. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, 47, p. 257-260, 1993.

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 Suppl 4, p. 88-96, 2014.

ORTIZ-RODRIGUEZ, J. M.; ANEL-LOPEZ, L.; MARTIN-MUNOZ, P.; ALVAREZ, M.; GAITSKELL-PHILLIPS, G.; ANEL, L.; RODRIGUEZ-MEDINA, P.; PENA, F. J.; ORTEGA FERRUSOLA, C. Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **PLoS One**, 12, n. 5, p. e0175878, 2017.

PAPA, F.; ALVARENGA, M.; CARVALHO, I.; BICUDO, S.; RAMIRES, P.; LOPES, M. Coloração espermática segundo Karras modificado pelo emprego de Barbatimão (*Stryphnodendrum barbatiman*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 40, p. 115-123, 1988.

PISU, M. C.; PONZIO, P.; ROVELLA, C.; BARAVALLE, M.; VERONESI, M. C. Usefulness of na injectable anaesthetic protocol for semen collection through urethral catheterisation in domestic cats. **Journal of Feline and Medicine and Surgery**, v. 19, n. 10, p. 1087-1090, 2017.

PELTONIEMI, M. A.; HAGELBERG, N. M.; OLKKOLA, K. T.; SAARI, T. I. Ketamine: a review of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics in anesthesia and pain therapy. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 55, n. 9, p. 1059-1077, 2016.

DOMINO, E. F. Taming the ketamine tiger. **Anesthesiology**, v. 113, p. 678-684, 1965a.

DOMINO, E. F., CHODOFF, P., CORSSSEN G. Pharmacologic effects of CI-581, a new dissociative anesthetic, in man. **Clinical Pharmacology Therapy**, v. 6, p.279-291, 1965b.

POZOR, M. A.; MCDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, 61, n. 5, p. 799-810, Apr 1 2004.

PUKAZHENTHI, B. S.; NEUBAUER, K.; JEWGENOW, K.; HOWARD, J.; WILDT, D. E. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. **Theriogenology**, 66, n. 1, p. 112-121, 2006.

RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A.; MAES, D.; NIZANSKI, W. Computer-assisted sperm analysis in dogs and cats: an update after 20 years. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47 Suppl 6, p. 204-207, 2012.

SAMIR, H.; SASAKI, K.; AHMED, E.; KAREN, A.; NAGAOKA, K.; EL SAYED, M.; TAYA, K.; WATANABE, G. Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. **The Journal of veterinary medical science**, 77, n. 5, p. 549-556, 2015.

SANCHEZ GUERRERO, A.; VILLOR ESNAL, R.; PAMPLONA CASAMAYOR, M. [Radiological diagnosis: scrotal ultrasound and Doppler ultrasound in the diagnosis of male infertility]. **Archivos Espanoles de Urologia**, 57, n. 9, p. 905-920, 2004.

SCHNEBLE, F.; POHLMANN, T.; SEGERER, H.; MELTER, M. [Scrotal ultrasound in children and adolescents with duplex Doppler analysis of intratesticular arteries]. **Ultraschall in der Medizin** 32 Suppl 2, p. E51-56, 2011.

SOUZA, A. K.; TRAUTWEIN, L. G. C.; PARANZINI, C. S.; PERENCIN, F. M.; CARDOSO, G. S.; MARTINS, M. I. M. Influence of cooling temperature in sperm subpopulations of domestic cats. **Anim Reprod Sci**, 189, p. 1-10, 2018.

SOUZA, F. F., 2017, Corumbá. **Crêterios para exame andrológico em cães**. ABRAA. 23-24.

SOUZA, M. B.; MOTA FILHO, A. C.; SOUSA, C. V. S.; MONTEIRO, C. L. B.; CARVALHO, G. G.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C. S.; SILVA, L. D. M. Triplex Doppler evaluation of the testes in dogs of different sizes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 34, p. 1135-1140, 2014.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; CARDOSO, G. S.; DA COSTA FLAIBAN, K. K. M.; DE OLIVEIRA DEARO, A. C.; MARTINS, M. I. M. Correlation of testicular artery Doppler velocimetry with kinetics and morphologic characteristics of epididymal sperm in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, 55, n. 6, p. 720-725, Jun 2020.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 54, n. 4, p. 687-695, 2019.

UR REHMAN, K.; QURESHI, A. B.; NUMAN, A.; ZANEB, H.; YOUSAF, M. S.; RABBANI, I.; REHMAN, H. Pressure flow pattern of varicocele veins and its correlation with testicular blood flow and semen parameters. **Andrologia**, Aug 2 2017.

ZELLI, R.; TROISI, A.; ELAD NGONPUT, A.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in veterinary science**, 95, n. 2, p. 632-637, 2013.

3 HIPÓTESES

Gatos sedados com dexmedetomidina e cetamina realizam vasoconstrição periférica e, conseqüentemente, há aumento da velocidade sanguínea na artéria testicular quando comparado com gatos não sedados, assim como há correlação negativa entre o fluxo sanguíneo na artéria testicular e a cinética espermática.

O grau e a extensão da lesão de degeneração testicular influenciam negativamente as características de movimento e cinética espermática nos felinos domésticos.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAIS

- Comparar as variáveis Dopplervelocimétricas da artéria testicular de gatos sedados e não sedados, bem como correlacionar o fluxo sanguíneo e a análise seminal computadorizada com o grau de degeneração testicular e a extensão da lesão histológica.

4.2 Específicos

- Determinar as alterações provocadas pela administração de dexmedetomidina e cetamina na Dopplervelocimetria de diferentes regiões da artéria testicular de gatos.
- Caracterizar as velocidades e índices Doppler nas regiões supratesticular distal e marginal da artéria testicular de gatos.
- Correlacionar as variáveis Dopplervelocimétricas (pico de velocidade sistólica, velocidade diastólica final, índice de resistividade e índice de pulsatilidade) com a avaliação da cinética espermática no sistema CASA, morfologia espermática e permeabilidade de membrana de espermatozoides epididimários de gatos.
- Associar a avaliação ultrassonográfica em modo Doppler como biomarcador do exame andrológico de gatos.

- Categorizar os diferentes graus de lesão degenerativa do epitélio tubular seminífero de gatos.
- Comparar as variáveis de cinética, morfologia e integridade de membrana espermática de espermatozoides epididimários em relação aos diferentes graus e extensões de lesão degenerativa do epitélio tubular seminífero nos gatos.
- Comparar as variáveis Dopplervelocimétricas com os diferentes graus e extensões de lesão degenerativa do epitélio tubular seminífero nos gatos.

5 MANUSCRITOS

Durante o período do doutorado, foram realizados estudos experimentais, cujos resultados propiciaram a geração dos manuscritos a seguir, os quais estão com a indicação de periódicos a serem publicados, portanto já elaborados em suas normativas.

5.1 MANUSCRITO 01

Nome: Testicular artery Doppler velocimetric evaluation of sedated and non-sedated cats and correlation with sperm kinetics

Revista: Reproduction in Domestic Animals

Situação: a ser submetido

Testicular artery Doppler velocimetric evaluation of sedated and non-sedated cats and correlation with sperm kinetics

Luiz Guilherme Corsi Trautwein

Myrian Megumi Hidalgo

Ana Beatriz Marques de Oliveira

Jamile Haddad Neta

Guilherme Schiess Cardoso

Karina Keller Marques da Costa Flaiban

Maria Isabel Mello Martins

Abstract

The testicles blood perfusion is performed by testicular artery and Doppler ultrasound can mensurate its blood flow. Several studies have demonstrated the correlation between Doppler velocimetric parameters with semen quality, although feline data are scarce. The aim was to correlate the Doppler velocimetry of testicular artery with sperm kinetics assessed by CASA system in cats sedated and non-sedated. Twenty-seven mongrel adult cats were used and allocated into two groups: sedated (SG; n=20) with dexmedetomidine (10 µm/kg) and ketamine (12 mg/kg) IM, and non-sedated (NSG; control group; n=7). All animals were submitted to ultrasound Doppler velocimetry evaluation of distal suprastesticular and marginal region of the testicular artery and then orchiectomized. The epididymal tail sperm were recovered and analyzed at CASA system, morphology and sperm membrane integrity. The Mann-Whitney test was used to compare the Doppler variables of the two regions of the testicular artery and the hemodynamic values of SG and NSG. The Spearman correlation test was used to correlate Doppler velocimetric and kinetics variables. A significance level of 5% was used. The SG presented higher blod flow on the two regions of testicular artery (PSV 7.42 cm/s and 11.51 cm/s; EDV 4.42 cm/s and 7.72 cm/s) when compared to NSG (PSV 5.52 cm/s and 5.75 cm/s; EDV 2.62 cm/s and 3.76 cm/s). The percentage of rapid sperm of SG was correlated with PSV and EDV of marginal region ($r = -0.382$; $r = -0.314$); and VCL of NSG was correlated with EDV of suprastesticular region ($r = -0.565$). Sedated cats had faster blood flow in the marginal region due to peripheral vasoconstriction caused by dexmedetomidine associated with ketamine. There was a weak correlation between some variables of the feline testicular artery Doppler velocimetry and the sperm kinetics of epididymal tail spermatozoa assessed by the CASA system.

Key-words: ultrasound, testicles, feline, CASA system, spermatozoa

Introduction

Testicular function assessment is performed through the andrological exam, which includes physical evaluation of the testicles and seminal analysis, which can be performed subjectively or through computerized sperm analysis in the CASA system. CASA system performs an objective analysis of sperm kinetics, including the assessment of each spermatozoa's individual viability.

The testicle needs constant blood perfusion for correct spermatogenesis to occur, performed through the testicular artery. Different methods for assessing testicular

artery blood flow have been described, but Doppler ultrasonography has been effectively used in the last decade (CARRILLO *et al.*, 2012; ZELLI *et al.*, 2013; TRAUTWEIN *et al.*, 2019). Doppler velocimetry is an ultrasound technique used to detect and quantify blood flow in vessels. This technique consists of the use of three combined ultrasound modalities: B-mode ultrasonography associated with color and pulsed-wave Doppler. Various parameters can be evaluated, as the peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), resistivity index (RI), and pulsatility index (PI) (CARVALHO *et al.*, 2008).

In domestic animals, Doppler ultrasonography can be used to assess the blood flow quality of various arteries and veins, such as the renal vessels (BRAGATO *et al.*, 2017), prostatic artery (MOXON *et al.*, 2015), uterine artery (BLANCO *et al.*, 2018), aorta (MATRE e SEGADAL, 1988) and the heart (VEZZOSI e SCHOBBER, 2019). Recently, several authors have studied the Doppler velocimetric parameters of the testicular artery of dogs (DE SOUZA *et al.*, 2015; DE SOUZA *et al.*, 2015; BIGLIARDI *et al.*, 2018; TRAUTWEIN *et al.*, 2019), bulls (GLORIA *et al.*, 2018; JUNIOR *et al.*, 2018), stallions (ORTIZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2017) and rams (BATISSACO *et al.*, 2013), since ischemia is a major cause of infertility in males.

TRAUTWEIN *et al.* (2020) studied the influence of testicular artery blood flow of dogs on seminal quality and found important correlations between Doppler velocimetric parameters and sperm kinetics, as such similar results were found in other species, including humans (HILLELSOHN *et al.*, 2013; ZELLI *et al.*, 2013; ORTEGA-FERRUSOLA *et al.*, 2014; ORTIZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2017; UR REHMAN *et al.*, 2017). However, literature comparing these findings in cats is scarce. There is, by the knowledge of the authors, only one paper describing the Doppler variables of the testicular artery (DE BRITO *et al.*, 2015).

Furthermore, in the past decade several authors have demonstrated the effective use of alpha-2 agonists associated with ketamine for pharmacological semen collection in cats and wild felids, with good response to the drugs (MADRIGAL-VALVERDE *et al.*, 2021). However, it remains unknown the effect of these sedations on the vascular hemodynamics of testicular artery.

Therefore, the aim was to compare Doppler velocimetry of the testicular artery of sedated and non-sedated cats and correlate it with sperm kinetics assessed by the CASA system.

Material and methods

This study was evaluated and approved by the institutional Animal Use Ethics Committee under the number 15521.2018.80.

Twenty-seven adult healthy mixed-breed tomcats, weighing between 2.5 to 5.1 kg (mean 3.8 kg), were used in this experiment. The cats were from non-governmental organizations that promote the rescue of abandoned animals. A complete physical examination of the animals was performed to detect any concomitant diseases and confirm the presence of both testicles in the testicular pouch. Cryptorchids animals or with other concomitant diseases were not

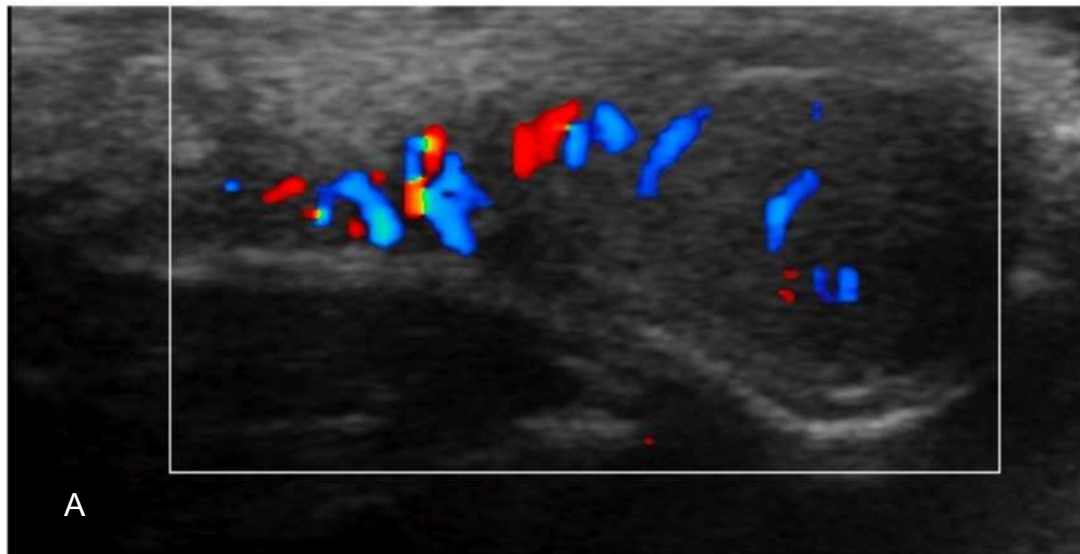
included in the experiment. Cats that, eventually, presented testicular alterations were not included in the study.

The animals were allocated into two groups: sedated group (SG; n=20) and non-sedated group (NSG; control group; n=7).

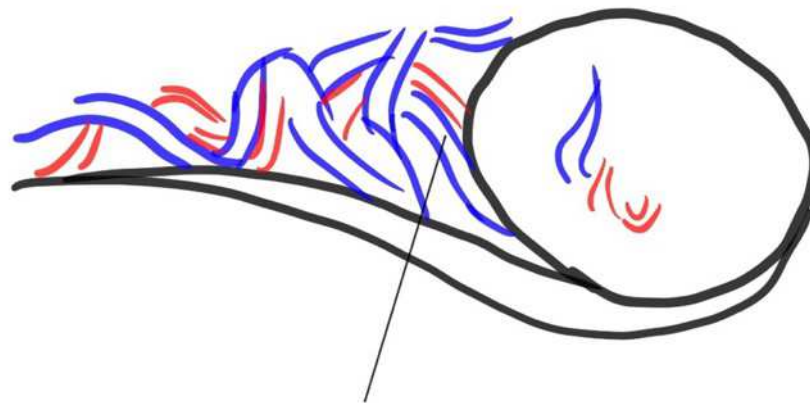
The cats of SG were sedated with dexmedetomidine (10 µg/kg, Dexdormitor, Zoetis, São Paulo, Brazil) and ketamine (12 mg/kg, Quetamina, Vetnil, São Paulo, Brazil), intramuscularly. After ten minutes they were positioned in ventrodorsally decubitus for scrotal trichotomy. Animals of NSG were kept in ventrodorsally decubitus using cat-friendly handling containment techniques, such as the use of blankets covering the whole body (except for the scrotum region); relaxing music in the background (RelaxMyCat.com); and pheromone diffusers were used during all the examinations (Feliway Friends, Ceva, Brazil).

Ultrasound gel was applied over the scrotum and B-mode was realized using a 7Mhz-linear probe (DC7, Mindray, China). B-mode parameters as contours, echogenicity and echotexture of the testicles were performed to evaluate testicular lesions, such as orchitis, epididymitis or neoplasms.

A triplex Doppler analysis of the testicular artery from both testicles was performed in the distal suprastesticular and marginal regions, in an adaptation of the technique described previously in dogs (TRAUTWEIN *et al.*, 2019). Testicular volume was measured in B-mode using length, width and height, and calculated directly by the ultrasound device. For the distal suprastesticular measurement, the probe was positioned over the scrotum in the cranial pole of the testicle. The spermatic cord was found using colored Doppler (Figure 1). The pulse repetition frequency (PRF) was adjusted individually to visualize the artery without aliasing. The pulsed wave analysis was performed in the last portion of the artery, before entering the testicle. For the marginal region, the probe was moved caudally, and the artery was located in the caudal region of the testicle (Figure 2). The insonation angle was adjusted in parallel with the direction of the artery, always less than 60°. The gate size was 2/3 the total diameter of the vessel and always positioned in the middle of the artery. The pulsed wave Doppler parameters peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), resistivity index (RI) and pulsatility index (PI) were measured in each region and in both testicles. For that, at least three similar Doppler waves were used.



A



B

**Distal suprastesticular region
of testicular artery**

Figure 1. A) B-mode and color Doppler ultrasound of the feline testicle. It is possible to visualize the spermatic cord and the distal suprastesticular region of the testicular artery of the cat. B) Schematic drawing of the distal suprastesticular region of testicular artery. Font: personal archive

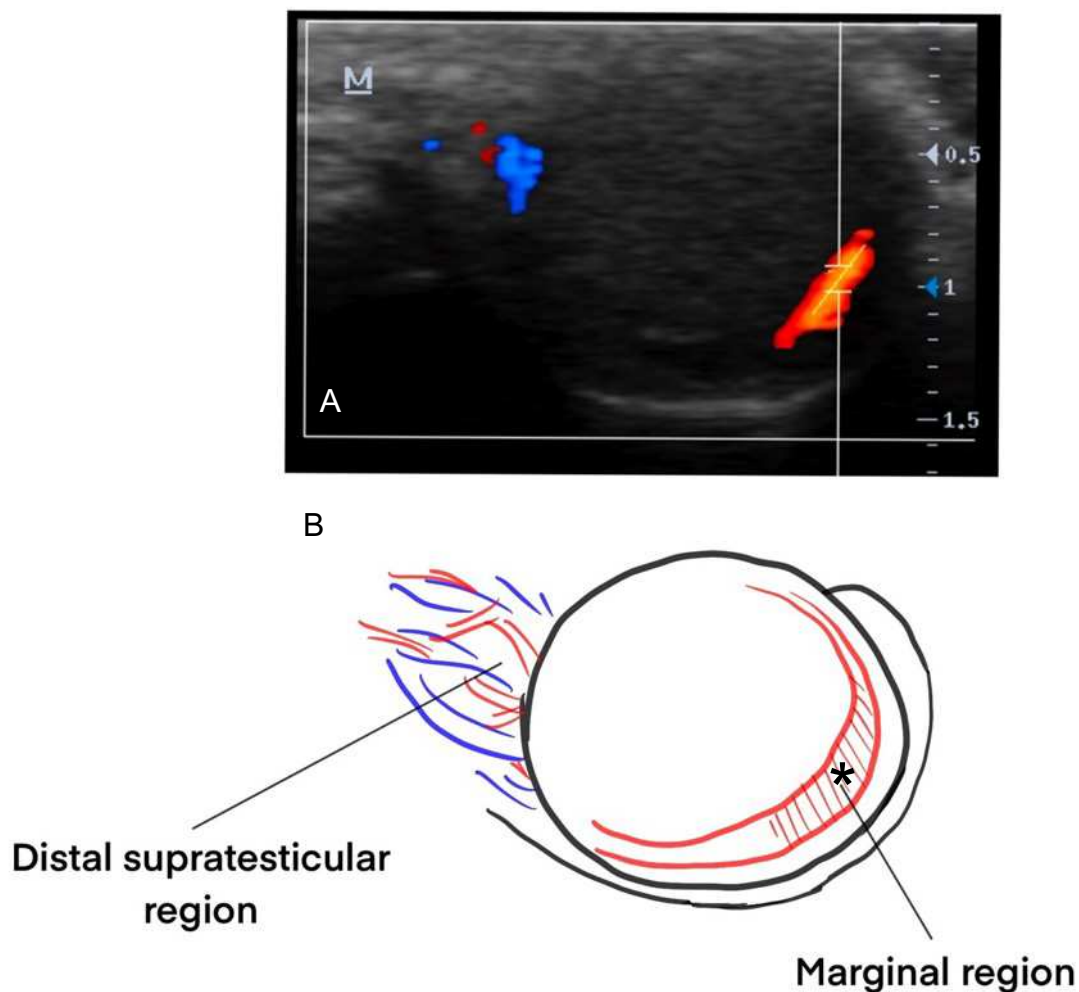


Figure 2. A) Marginal region of the feline testicular artery. Note the curve made by the artery (at the *), which after enters the testicular parenchyma and branches into several intratesticular arteries. B) Schematic drawing of the marginal region of testicular artery. Font: personal archive.

Forty-eight hours after the ultrasound exam, all cats were taken to the operating room, submitted to inhalation anesthesia with isoflurane and underwent orchietomy. Cats of NSG received pre-anesthetic medication (morphine, 0.5 mg/kg, IM). The spermatic cords were clamped after excision. Epididymal tail spermatozoa were recovered according to the technique described by MARTINS *et al.* (2009). The vas deferens were dissected from the pampiniform plexus and its blood vessels. The epididymis tail was pressed and the vas deferens were squeezed. The spermatozoa were placed in a petri dish containing 100 μ L of NaCl 0,9% solution. The contents were aspirated with a pipette and inserted into a 1 mL plastic tube. The petri dish was washed with 100 μ L of NaCl 0,9%, which was also recovered and inserted into the same tube.

The spermatozoa recovered were analyzed in the CASA system (Ivos II, Hamilton Thorne, USA), using the setup for cats: Cell-Vu[®] chamber with 37° C of temperature; frame rate of 60 Hz; Frames: 5; Minimum contrast: 4; Minimum cell size: 6; Straightness (STR) limit of 70%; Average path velocity (VAP) cut-off

of 30 $\mu\text{m/s}$; Progressive minimum average path velocity (VAP) of 60 $\mu\text{m/s}$; Straight-line velocity (VSL) cut-off value of 20 $\mu\text{m/s}$; Cellular intensity 20; and Magnification of 1,90.

The variables motility; progressive motility; percentage of fast, medium, slow and static spermatozoa; average path velocity (VAP); straight-line velocity (VSL); curvilinear velocity (VCL); lateral head amplitude (ALH); beat-cross frequency (BCF); straightness (STR); linearity (LIN) were recorded. For the sperm velocity index (SVI) and sperm movement index (SMI) were used the formulas reported by NÚÑEZ-MARTÍNEZ *et al.* (2006). In addition to the kinetic variables, sperm morphology and membrane integrity were performed in a smear stained by eosin-nigrosine, with 200 cells counted in a optical microscope (40x).

Sigmaplot 12.0 for Windows (Leadtools, Germany) was used for the statistical analysis. The Mann-Whitney Rank Sum Test was used to compare the Doppler variables of the two regions of the testicular artery and SG with NSG. T-test was used to compare the volume of the right and left testis. The Spearman correlation test was used to correlate Doppler velocimetric and kinetics variables. A significance level of 5% were used for all analysis.

Results

All testicles showed fibroelastic patterns and mobile in the scrotum. The tomcats showed no pain or irritation at palpation. At the B-mode ultrasound exam, the testicles presented regular contours, hypoechoogenic parenchyma in relation to the mediastinum and homogeneous echotexture. There was no difference between the volume of right (mean 0.96 cm^3) and left (mean 0.99 cm^3) testicles ($P = 0.709$).

It was possible to measure Dopplervelocimetric parameters at two regions of the testicular artery: distal suprastesticular and marginal. The analysis has been performed on all animals. Each cat took about 15 minutes to be evaluated, with exception of animals from NSG that needed around 5 to 10 minutes to adapt to the environment. The pulsed wave Doppler morphology showed a single-phase pattern of low resistivity, with the presence of large and continuous systolic peaks and high flow speed in diastole (CARVALHO *et al.*, 2008) (Figure 3). The Doppler velocimetric values and comparison between the two different regions and the groups are described in Table 1.

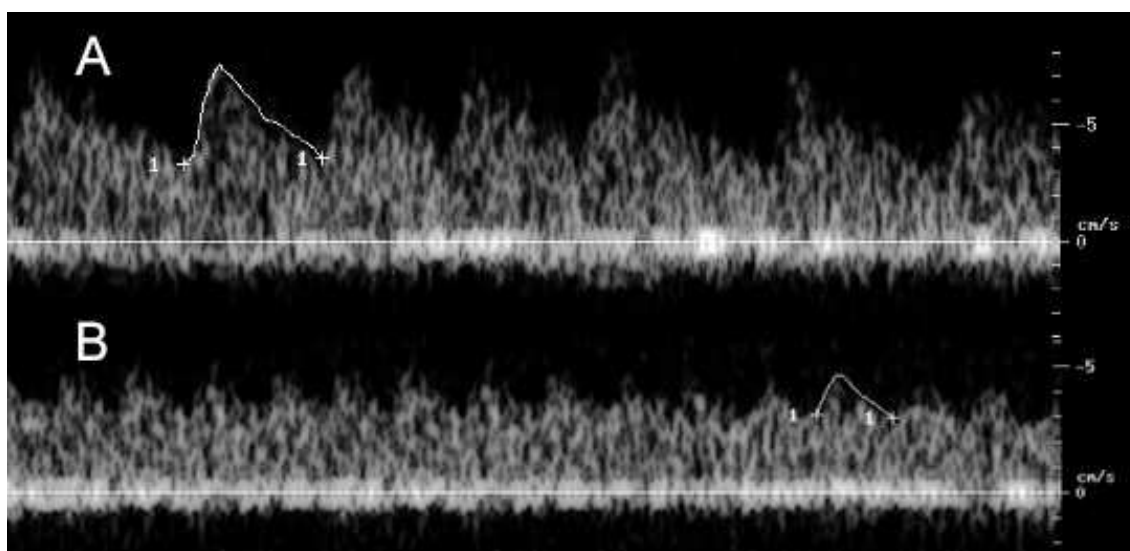


Figure 3. Doppler waveform morphology of the marginal region of the testicular artery in domestic cats sedated with dexmedetomidine (10µg/kg) and ketamine (12 mg/kg) in A; and non-sedated in B. Besides both waveform patterns shows lower resistivity blood flow characteristics, attributes of organs that need constant blood perfusion, it is important to note the lower waveform amplitude of B, with higher heart rate frequency.

Table 1. Doppler velocimetric values and comparison between the groups sedated with dexmedetomidine and ketamine and non-sedated. The p-value in the lines refers to the comparison between supratesticular and marginal regions of the same group. The p-value in the columns refers to the comparison of the same region of the testicular artery, but between groups.

Doppler velocimetric variables	Group	Supratesticular region of testicular artery (median)	Marginal region of testicular artery (median)	<i>P</i> -value
PSV (cm/s)	SG	7.42	11.51	< 0.001*
	NSG	5.52	5.75	0.550
	<i>P</i> -value	0.002*	< 0.001*	
EDV (cm/s)	SG	4.42	7.72	< 0.001*
	NSG	2.62	3.76	0.005*
	<i>P</i> -value	< 0.001*	< 0.001*	
PI	SG	0.5	0.41	< 0.001*
	NSG	0.81	0.41	< 0.001*
	<i>P</i> -value	< 0.001*	0.759	
RI	SG	0.4	0.34	< 0.001*
	NSG	0.43	0.33	0.001*
	<i>P</i> -value	0.082	0.906	

All cats of SG had an adequate level of sedation for ultrasound examinations. There was no need to supplement anesthetic applications during the experiment, except for maintaining inhaled anesthesia with isoflurane for the orchiectomy.

There were no surgical complications and the cats were released on the same day with a non-steroidal anti-inflammatory prescription (Meloxicam, 0.1 mg/kg SID for 3 days).

Correlations were found between some variables of Doppler ultrasound and CASA system analysis. The percentage of rapid sperm of SG was correlated with PSV and EDV of marginal region of testicular artery ($P = 0.015$, $r = -0.382$ and $P = 0.048$, $r = -0.314$ respectively). In the NSG the sperm curvilinear velocity (VCL) was correlated with EDV of suprastesticular region ($P = 0.035$, $r = -0.565$) (Figure 4).

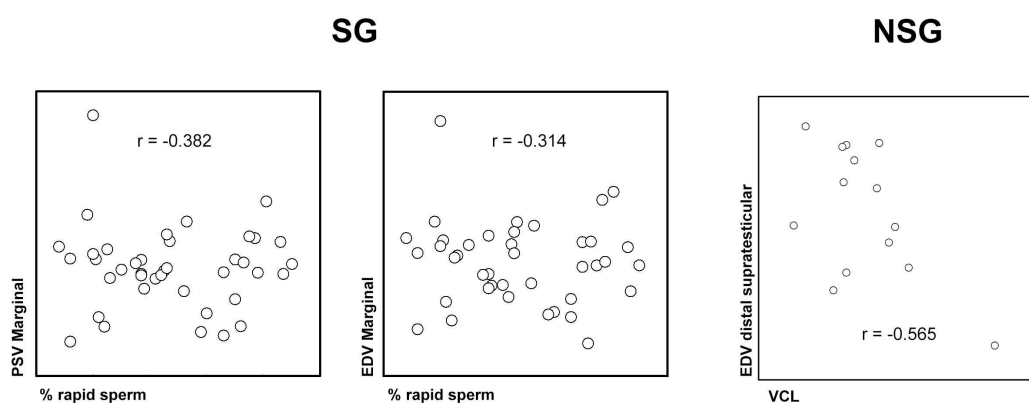


Figure 4. Scatterplot of testicular Doppler velocimetric evaluation and CASA system sperm variables of sedated and non-sedated group of cats.

Discussion

In this study, it was observed differences between the testicular artery Doppler velocimetric values of sedated and non-sedated cats, demonstrating the influence of sedative medication on the vascular hemodynamics of the vessel.

The normal testis must have a homogeneous echotexture, with echogenicity similar to the spleen (hypoechoic in relation to adjacent tissue), regular contours in an ovoid shape, in addition to a hyperechoic mediastinal line in relation to the parenchyma (DAVIDSON e BAKER, 2009). In this study, all tomcats presented hypoechoic testicular parenchyma, with hyperechoic mediastinum. Therefore, it was not possible to perform the correlation between these parameters and the seminal characteristics of the evaluated males. Several authors reported the influence of male reproductive capacity on B-mode testicular ultrasonography in different species (PECHMAN e EILTS, 1987; ENGLAND, 1991; GUNZEL-APEL *et al.*, 2001; DE SOUZA *et al.*, 2015; MOXON *et al.*, 2015; SCHULZE *et al.*, 2020; LEITE *et al.*, 2021). Hyperechoic testes were observed in infertile dogs (DE SOUZA *et al.*, 2015), such as heterogeneity (anechoic parenchyma and prominent echogenic stippling) was correlated with total sperm output (MOXON *et al.*, 2015).

Some authors reported that the left testicle has a greater volume than the right testicle in other species (DE SOUZA *et al.*, 2015; SCHULZE *et al.*, 2020), but it was not possible to confirm this statement in this study with felines, corroborating the findings previously described in dogs (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

By the knowledge of the authors, only one article was published with domestic cats (DE BRITO *et al.*, 2015), which characterized the PSV, EDV and RI of testicular artery of non-sedated cats (PSV left testicle 6.74 cm/s, right testicle 6.23 cm/s; EDV left testicle 2.8 cm/s, right testicle 2.77 cm/s; RI left testicle 0.54, right testicle 0.53). These results were similar to those found in this study in the distal suprastesticular region of the testicular artery, especially for non-sedated cats, except for RI, which was smaller in our study (0.42). This variation can be explained by the exact location of the measurement site. Although the cited authors measured in the suprastesticular region, it may not have been performed as close as possible to the testis, which may have increased the RI compared with our study, where we measured this location. As the artery approaches the testicle, there is a tendency for the vessel resistivity to decrease (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

To the authors' knowledge, this is also the first study characterizing Doppler velocities and indices of the marginal region of the testicular artery in domestic cats. There was no difference between PSV of the distal suprastesticular and marginal region of the testicular artery on the NSG ($p = 0.550$), while there was an increase in EDV, probably due to the decrease in RI in the marginal region. These results differ from those found in dogs (TRAUTWEIN *et al.*, 2019), in which there was also a decrease in PSV as the artery enters the testicle. This may have occurred due to the smaller caliber of the artery in felines, not expressing an evident statistical decrease.

In addition, it was also possible to characterize, in an unprecedented way, the Doppler velocimetry of sedated cats and compare it with non-sedated cats. Unlike other species, such as dogs, collecting semen from cats by spontaneous ejaculation requires an extensive training program of the male, which can take several months (ACKERMANN e LOPES, 2020). Thus, anesthetic protocols were created to perform semen collection by methods such as electroejaculation (ZAMBELLI *et al.*, 2007), ejaculation via pharmacological induction (MADRIGAL-VALVERDE *et al.*, 2020), or even epididymal spermatozoa collection (TEBET *et al.*, 2006). These methods even make it possible to extrapolate these data to wildlife conservation programs for wild felids, which similar anesthetic protocols are also used (SCHMEHL e GRAHAM, 1989; KHEIRKHAH *et al.*, 2017; AMSTISLAVSKY *et al.*, 2018).

Dexmedetomidine is a highly selective α_2 -adrenergic agonist with sedative and analgesic effects, used for short to long-term sedation (KEATING, 2015). One of its features is a "cooperative" sedation, in which the patient undergoes a smooth transition from the sedated to the awake state, similar to natural sleep (LEE, 2019). Its mechanism of action is based on the suppression of noradrenergic discharge at the *locus cereleus* in the brainstem, which leads to a loss of consciousness through the activation of the endogenous sleep-promoting pathway (NACIF-COELHO *et al.*, 1994; NELSON *et al.*, 2003). The loading dose of dexmedetomidine causes a transient increase in blood pressure and a slow heart rate reflex due to peripheral vasoconstriction stimulated by α_2B receptors on the blood vessels. However, subsequent hypotension may occur when the vasodilatory effects of central α_2A receptors predominate (LEE, 2019).

Ketamine was synthesized in 1962 due to the need for a less hallucinogenic compound than phencyclidine, used as a dissociative sedative in battlefields and in children (DOMINO et al., 1965a; DOMINO et al., 1965b; PELTONIEMI et al., 2016). Today, it is the most used anesthetic in veterinary medicine worldwide (MORGAN and CURRAN, 2012). In high doses ketamine produces anesthesia and analgesia and in low doses it acts as an analgesic. Its main effects are mediated by the non-competitive antagonism of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in the central nervous system (PELTONIEMI et al., 2016). Its use may cause a mild to moderate increase in blood pressure, heart rate and cardiac output due to an increase in sympathomimetic activity (GODDARD et al., 2021).

The use of α 2-adrenergic agonists has been shown great value in cat andrology to semen collection by urethral catheterization, especially the use of dexmedetomidine (25 μ g/kg IM) associated with ketamine (50 mg/kg IM) (MADRIGAL-VALVERDE *et al.*, 2020). In our experience, the use of doses of α 2-adrenergic agonists usually used for semen collection promotes intense peripheral vasoconstriction, which makes the Doppler ultrasound exam unfeasible. Therefore, when performing Doppler ultrasonography and semen collection, we developed this methodology in which the application of lower doses of sedative is made 10 minutes before the exam (10 μ g/kg of dexmedetomidine and 12 mg/kg of ketamine) and the desired full dosage is supplemented after the ultrasound evaluation for subsequent semen collection, otherwise it may not be possible to perform testicular artery Doppler velocimetry. Dexmedetomidine is known by the peripheral vasoconstriction associated with concomitant increases in the intra-arterial blood pressure (TALKE e ANDERSON, 2018), which may have led to observing a difference between the Doppler velocities PSV and EDV in the SG and NSG. Interestingly, although there was an increase in PSV in the marginal region in sedated cats, there was no increase in RI. This was probably due to the concomitant increase in EDV. In a study with bitches, researchers have observed a decrease in blood velocity (PSV and EDV, but not RI) in the ovarian artery after administration of dexmedetomidine (NICOLÁS-BARCELÓ *et al.*, 2021).

It was possible to successfully collect epididymal tail spermatozoa from all analyzed cats, as well as analyze spermatozoa kinetics at the CASA system. Epididymal tail spermatozoa have already proved to be an important tool in the reproduction of felines, especially in genetic material storage from animals that have died (TEBET *et al.*, 2006). CASA system demonstrated relevant importance in the evaluation of sperm kinetics due to its characteristics of objective and individual analysis of each sperm (AMANN e WABERSKI, 2014).

To the author's knowledge, this is the first study correlating Doppler velocimetric variables and sperm kinetics assessed by the CASA system. For the last decade, researchers started to look at Doppler ultrasound as an additional tool to the andrological exam (VELASCO e RUIZ, 2020). PINGGERA *et al.* (2008) found that men with RI higher than 0.6 could be suggestive of lower seminal quality, with a higher number of total sperm defects. In dogs, DE SOUZA *et al.* (2015), concluded that infertile dogs have lower PSV and EDV in some regions of the testicular artery when compared with fertile dogs. TRAUTWEIN *et al.* (2020) also

reported that there was a positive correlation between PSV and automated semen analysis variables (CASA system), as SVI, VAP and VCL in dogs.

In the present study, correlations were observed with Doppler velocimetry of the suprastesticular distal region of the testicular artery and a few CASA system variables. Besides these correlations being considered weak, the influence of blood flow on sperm movement capacity was notorious, in which the percentage of fast spermatozoa was negatively correlated with higher blood flow velocities in the marginal region of the testicular artery of SG, as well there was a negative correlation between VCL and EDV of the suprastesticular region in NSG. This corroborates the fact that it is necessary a continuous low resistivity blood flow in testicular artery for correct parenchyma perfusion of the testis and spermatogenesis occur properly. In dogs there is a high resistivity in the proximal regions of the testicular artery, with a sharp drop from the moment that artery enter the testicles, resulting in a low resistivity flow (TRAUTWEIN *et al.*, 2020). In cats, although it was not possible to measure blood flow in the proximal regions of the artery, it seems that this flow is already of low resistivity in these regions, since there was no difference between Doppler velocimetry of the distal suprastesticular and marginal region in this species.

It is important to emphasize that the ultrasound analysis in non-sedated feline patients requires patience, in addition to a calm and relaxed environment, to avoid stress and alteration of the species' physiological parameters. Although it is a subjective perception, we recommend that the cats should be brought to performing the examination room 10 minutes early so that they can be located and feel safe. The use of pheromones can help in the ambiance of the animals, as well as cat-friendly handling methods, such as the use of blankets and calm music, made the exams could be performed without interruptions. After positioning, it is recommended to use a trichotomy machine with low noise to avoid stress to the animals.

Conclusion

There was a difference in the vascular hemodynamics of the testicular artery in sedated and non-sedated cats. Sedated cats had faster blood flow in the marginal region due to peripheral vasoconstriction caused by dexmedetomidine associated with ketamine. There was a weak correlation between some variables of the feline testicular artery Doppler velocimetry and the sperm kinetics of epididymal tail spermatozoa assessed by the CASA system.

Acknowledgments: To the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior for granting the doctorate scholarship. To Zoetis for making dexmedetomidine available to our experiment; and to Totalvet by the availability of ketamine. We would also like to express our gratitude to professor Cibele Carvalho and professor Fábio Nelson Gava for helping with the Doppler study.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

References

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ACKERMANN, C. L.; LOPES, M. D. Training tom cats for semen collection using an artificial vagina: a retrospective study. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 22, n. 12, p. 1155-1159, Dec 2020.

AMANN, R. P. Evaluating testis function non-invasively: how epidemiologist-andrologist teams might better approach this task. **Human Reproduction (Oxford, England)**, 25, n. 1, p. 22-28, Jan 2010.

AMANN, R. P.; WABERSKI, D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. **Theriogenology**, 81, n. 1, p. 5-17.e11-13, Jan 01 2014.

AMSTISLAVSKY, S.; BRUSENTSEV, E.; KIZILOVA, E.; MOKROUSOVA, V.; KOZHEVNIKOVA, V.; ABRAMOVA, T.; ROZHKOVA, I.; NAIDENKO, S. Sperm cryopreservation in the Far-Eastern wildcat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). **Reproduction in Domestic Animals**, 53, n. 5, p. 1219-1226, Oct 2018.

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, n. 1, p. 49-54, 2001.

BARTH, A.; KASTELIC, J. P. Testicular degeneration. *In*: HOPPER, R. M. (Ed.). **Bovine Reproduction**. Second Edition ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2021. cap. 13, p. 144-150.

BATISSACO, L.; CELEGHINI, E. C. C.; PINAFFI, F. L. V.; OLIVEIRA, B. M. M.; ANDRADE, A. F. C.; RECALDE, E. C. S.; FERNANDES, C. B. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 50, n. 5, p. 384-395, 2013.

BATISTA, P. R.; GOBELLO, C.; RUBE, A.; BARRENA, J. P.; RE, N. E.; BLANCO, P. G. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. **Theriogenology**, 114, p. 81-84, Jul 1 2018.

BERGH, A.; COLLIN, O.; LISSBRANT, E. Effects of acute graded reductions in

testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. **Biology of reproduction**, 64, n. 1, p. 13-20, Jan 2001.

BIGLIARDI, E.; DENTI, L.; DE CESARIS, V. Colour Doppler ultrasound imaging of blood flows variations in neoplastic and non-neoplastic testicular lesions in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, Aug 14 2018.

BLANCO, P. G.; RUBE, A.; LÓPEZ MERLO, M.; BATISTA, P. R.; ARIONI, S.; LÓPEZ KNUDSEN, I.; TÓRTORA, M.; GOBELLO, C. Uterine two-dimensional and Doppler ultrasonographic evaluation of feline pyometra. **Reproduction in Domestic Animals**, 53 Suppl 3, p. 70-73, Nov 2018.

BOLLWEIN, H.; SCHULZE, J. J.; MIYAMOTO, A.; SIEME, H. Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in the stallion after the administration of human chorionic gonadotropin. **The Journal of reproduction and development**, 54, n. 5, p. 335-339, Oct 2008.

BOUSSUGES, A.; MOLENAT, F.; CARTURAN, D.; GERBEAUX, P.; SAINTY, J. M. Venous gas embolism: detection with pulsed Doppler guided by two-dimensional echocardiography. **Acta anaesthesiologica Scandinavica**, 43, n. 3, p. 328-332, Mar 1999.

BRAGATO, N.; BORGES, N. C.; FIORAVANTI, M. C. S. B-mode and Doppler ultrasound of chronic kidney disease in dogs and cats. **Veterinary Research Community**, 41, n. 4, p. 307-315, Dec 2017.

BRITO, L. D. C. A Física do Doppler. *In*: ROMUALDO, A. P. (Ed.). **Doppler sem segredos**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. v. 1, p. 5-16.

CARRILLO, J. D.; SOLER, M.; LUCAS, X.; AGUT, A. Colour and pulsed Doppler ultrasonographic study of the canine testis. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47, n. 4, p. 655-659, Aug 2012.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Physical principles of Doppler ultrasonography. **Ciência Rural**, 38, n. 3, p. 872-879, 2008.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia, **Ciência Rural**. 38, p. 872-879, 2008.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COCUZZA, M. S.; TISEO, B. C.; SROUGI, V.; WOOD, G. J. A.; CARDOSO, J.; ESTEVES, S. C.; SROUGI, M. Diagnostic accuracy of physical examination compared with color Doppler ultrasound in the determination of varicocele diagnosis and grading: Impact of urologists' experience. **Andrology**, 8, n. 5, p. 1160-1166, Sep 2020.

DAUB, L.; GEYER, A.; REESE, S.; BRAUN, J.; OTZDORFF, C. Sperm membrane integrity in fresh and frozen-thawed canine semen samples: a

comparison of vital stains with the NucleoCounter SP-100. **Theriogenology**, 86, n. 2, p. 651-656, Jul 15 2016.

DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. Reproductive ultrasound of the dog and tom. **Topics in Companion Animal Medicine**, 24, n. 2, p. 64-70, May 2009.

DE BRITO, M.; FELICIANO, M.; COUTINHO, L. N.; USCATEGUI, R. R.; SIMOES, A.; MARONEZI, M. C.; DE ALMEIDA, V. T.; CRIVELARO, R. M.; GASSER, B.; PAVAN, L.; RUSSIANO, W. R. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 50, n. 5, p. 730-734, Oct 2015.

DE BRITO, M.; FELICIANO, M.; COUTINHO, L. N.; USCATEGUI, R. R.; SIMÕES, A.; MARONEZI, M. C.; DE ALMEIDA, V. T.; CRIVELARO, R. M.; GASSER, B.; PAVAN, L.; RUSSIANO, W. R. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. **Reproduction in Domestic Animals**, 50, n. 5, p. 730-734, Oct 2015.

DE SOUZA, M. B.; BARBOSA, C. C.; ENGLAND, G. C.; MOTA FILHO, A. C.; SOUSA, C. V.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; SILVA, L. D. Regional differences of testicular artery blood flow in post pubertal and pre-pubertal dogs. **BMC veterinary research**, 11, p. 47, Mar 4 2015.

DE SOUZA, M. B.; DA CUNHA BARBOSA, C.; PEREIRA, B. S.; MONTEIRO, C. L.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; DA SILVA, L. D. Doppler velocimetric parameters of the testicular artery in healthy dogs. **Research in veterinary science**, 96, n. 3, p. 533-536, Jun 2014.

DE SOUZA, M. B.; ENGLAND, G. C.; MOTA FILHO, A. C.; ACKERMANN, C. L.; SOUSA, C. V.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; OBA, E.; DA SILVA, L. D. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. **Theriogenology**, 84, n. 5, p. 805-810, Sep 15 2015.

DIAGONE, K. V.; FELICIANO, M. A.; PACHECO, M. R.; VICENTE, W. R. Histology and morphometry of the testes of adult domestic cats (*Felis catus*). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 14, n. 2, p. 124-130, Feb 2012.

DUBINSKY, T. J.; CHEN, P.; MAKLAD, N. Color-flow and power Doppler imaging of the testes. **World journal of urology**, 16, n. 1, p. 35-40, 1998.

ENGLAND, G.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; SILVA, L.; MOXON, R. Canine reproductive ultrasound examination for predicting future sperm quality. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 52 Suppl 2, p. 202-207, Apr 2017.

ENGLAND, G. C. W. Relationship between ultrasonographic appearance, testicular size, spermatozoal output and testicular lesions in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, 32, n. 6, p. 306-311, 1991.

FOSTER, R. A. Sistema Reprodutor do Macho. *In*: ZACHARY, J. F. e MCGAVIN, M. D. (Ed.). **Bases da Patologia em Veterinária**. Segunda edição ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. cap. Capítulo 19, p. 3669.

FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biology of Reproduction**, 68, n. 5, p. 1554-1561, May 2003.

FREITAS, L. A.; PINTO, J. N.; SILVA, H. V.; UCHOA, D. C.; MOTA FILHO, A. C.; SILVA, L. D. M. Doppler e ecobiometria prostática e testicular em cães da raça Boxer. **Acta Scientiae Veterinariae**, 41, n. 1121, p. 1-9, 2013.

GACEM, S.; PAPAS, M.; CATALAN, J.; MIRÓ, J. Examination of jackass (*Equus asinus*) accessory sex glands by B-mode ultrasound and of testicular artery blood flow by colour pulsed-wave Doppler ultrasound: Correlations with semen production. **Reproduction in Domestic Animals**, 55, n. 2, p. 181-188, Feb 2020.

GALLAGHER, M. T.; SMITH, D. J.; KIRKMAN-BROWN, J. C. CASA: tracking the past and plotting the future. **Reproduction, Fertility, and Development**, May 29 2018.

GARCIA, A. R. Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 41, n. 1, p. 33-39, 2017.

GIANNICO, A. T.; GARCIA, D. A.; GIL, E. M.; SOUSA, M. G.; FROES, T. R. Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches. **Theriogenology**, 86, n. 7, p. 1654-1661, Oct 15 2016.

GLORIA, A.; CARLUCCIO, A.; WEGHER, L.; ROBBE, D.; VALORZ, C.; CONTRI, A. Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 9, p. 14, 2018.

GUIDO, S. I.; GUIDO, F. C. L.; SANTOS FILHO, A. S.; WISCHRAL, A. Correlation between spermatic concentration and vascular characteristics of testis using doppler ultrasonography in young Holstein bulls. **Animal Reproduction**, 11, n. 3, p. 305, 2014.

GUMBSCH, P.; GABLER, C.; HOLZMANN, A. Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. **The Veterinary record**, 151, n. 5, p. 140-144, Aug 03 2002.

GUNZEL-APEL, A. R.; MOHRKE, C.; POULSEN NAUTRUP, C. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 36, n. 5, p. 236-240, Oct 2001.

HASSAN, M. E.; SMITH, G. W.; OTT, R. S.; FAULKNER, D. B.; FIRKINS, L. D.; EHRHART, E. J.; SCHAEFFER, D. J. Reversibility of the reproductive toxicity of gossypol in peripubertal bulls. **Theriogenology**, 61, n. 6, p. 1171-1179, Apr 15

2004.

HILLELSOHN, J. H.; CHUANG, K. W.; GOLDENBERG, E.; GILBERT, B. R. Spectral Doppler sonography: a noninvasive method for predicting dyspermia. **Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine**, 32, n. 8, p. 1427-1432, Aug 2013.

HIRAI, S.; HATAYAMA, N.; NAITO, M.; NAGAHORI, K.; KAWATA, S.; HAYASHI, S.; QU, N.; TERAYAMA, H.; SHOJI, S.; ITOH, M. Pathological effect of arterial ischaemia and venous congestion on rat testes. **Scientific Reports**, 7, n. 1, p. 5422, Jul 14 2017.

IBTISHAM, F.; WU, J.; XIAO, M.; AN, L.; BANKER, Z.; NAWAB, A.; ZHAO, Y.; LI, G. Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. **Oncotarget**, 8, n. 39, p. 66709-66727, Sep 12 2017.

IMIG, C. J.; THOMSON, J. D.; HINES, H. M. Testicular Degeneration as a Result of Microwave Irradiation. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 69, n. 2, p. 382-386, 1948/11/01 1948.

JOHNSON, J. E.; BOONE, W. R.; BLACKHURST, D. W. Manual versus computer-automated semen analyses. Part II. Determination of the working range of a computer-automated semen analyzer. **Fertility and Sterility**, 65, n. 1, p. 156-159, Jan 1996.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis. **Microscopy research and technique**, 32, n. 5, p. 385-422, Dec 1 1995.

JUNIOR, F. A. B.; JUNIOR, C. K.; FAVARO, P. D. C.; PEREIRA, G. R.; MOROTTI, F.; MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; SENEDA, M. M. Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, 118, p. 16-21, Sep 15 2018.

KANTER, M.; AKTAS, C.; ERBOGA, M. Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. **Toxicology and Industrial Health**, 29, n. 2, p. 99-113, Mar 2013.

KHAN, M.; SINHA, P.; HAZARIKA, S.; PERUMAL, P. Study on sperm motility and velocity parameters of freshly collected mithun semen through computer-assisted sperm analyser (CASA). **Indian Journal of Animal Sciences**, 87, n. 3, p. 293-296, 2017.

KHEIRKHAH, M. S.; MOLLAPOUR SISAKHT, M.; MOHAMMADSADEGH, M.; MOSLEMI, H. R. Sperm evaluation of Jungle Cat (*Felis chaus*) obtained by urethral catheterization (CT) after medetomidine administration. **Theriogenology**, 91, p. 17-20, Mar 15 2017.

KOKOUA, A.; TRE YAVO, M.; SANTOS, K. A.; HOMSY, Y.; MOBIOT, M. L.; GNANAZAN BI N'GUESSAN, G. [Importance of the testicular artery: histo-

functional approach and comparison between juvenile and adult rats]. **Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes**, 88, n. 280, p. 31-34, Apr 2004.

LANNING, L. L.; CREASY, D. M.; CHAPIN, R. E.; MANN, P. C.; BARLOW, N. J.; REGAN, K. S.; GOODMAN, D. G. Recommended approaches for the evaluation of testicular and epididymal toxicity. **Toxicologic Pathology**, 30, n. 4, p. 507-520, Jul-Aug 2002.

LEITE, R. F.; DE AGOSTINI LOSANO, J. D.; DE SOUZA RAMOS ANGRIMANI, D.; SOUSA, R. G. B.; DE MIRANDA ALVES, Á.; CAVALLIN, M. D.; KAWAI, G. K. V.; CORTADA, C. N. M.; ZUGE, R. M.; NICHI, M. Reproductive parameters of *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls during different seasons in tropical conditions: focus on an alternative approach to testicular assessments using ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, 225, p. 106668, Feb 2021.

LIMA, S. L. G. **CONGELAÇÃO E VITRIFICAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*): Estabelecimento de protocolos para felinos selvagens ameaçados de extinção**. 2020. 77 f. Doutorado (Doutora) - Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

LU, J. C.; HUANG, Y. F.; LU, N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future. **Andrologia**, 46, n. 4, p. 329-338, May 2014.

MADRIGAL-VALVERDE, M.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. D.; BARBOSA, V. F.; VIEIRA, C. A.; ROMÃO, E. A.; CARNEIRO, I. B.; AZEVEDO, M. C.; ARAÚJO, G. R. Quality of domestic cat semen collected by urethral catheterization after the use of different alpha 2-adrenergic agonists. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1098612x20973183, Nov 18 2020.

MARTINS, M. I.; PADILHA, L. C.; SOUZA, F. F.; LOPES, M. D. Fertilizing capacity of frozen epididymal sperm collected from dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, 44 Suppl 2, p. 342-344, Jul 2009.

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

MATRE, K.; SEGADAL, L. Simultaneous measurement of velocity, diameter, flow and pressure in the ascending aorta of cats. Evaluation of an extractable Doppler ultrasound probe for continuous monitoring of aortic blood flow. **Cardiovascular Research**, 22, n. 12, p. 855-863, Dec 1988.

MICKELSEN, W. D.; MEMON, M. A.; ANDERSON, P. B.; FREEMAN, D. A. The relationship of semen quality to pregnancy rate and litter size following artificial insemination in the bitch. **Theriogenology**, 39, n. 2, p. 553-560, Feb 1993.

MILLERET, R. Doppler ultrasound diagnosis of testicular cord torsion. **Journal of clinical ultrasound : JCU**, 4, n. 6, p. 425-427, Dec 1976.

MISELL, L. M.; HOLOCHWOST, D.; BOBAN, D.; SANTI, N.; SHEFI, S.; HELLERSTEIN, M. K.; TUREK, P. J. A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. **The Journal of urology**, 175, n. 1, p. 242-246; discussion 246, Jan 2006.

MOSTAFA, T.; LABIB, I.; EL-KHAYAT, Y.; EL-RAHMAN EL-SHAHAT, A.; GADALLAH, A. Human testicular arterial supply: gross anatomy, corrosion cast, and radiologic study. **Fertility and sterility**, 90, n. 6, p. 2226-2230, Dec 2008.

MOXON, R.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; DA SILVA, L. D.; ENGLAND, G. C. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. **Animal Reproduction Science**, 160, p. 112-119, Sep 2015.

MOXON, R.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; DA SILVA, L. D.; ENGLAND, G. C. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. **Animal Reproduction Science**, 160, p. 112-119, Sep 2015.

NAKATA, H.; WAKAYAMA, T.; SONOMURA, T.; HONMA, S.; HATTA, T.; ISEKI, S. Three-dimensional structure of seminiferous tubules in the adult mouse. **Journal of Anatomy**, 227, n. 5, p. 686-694, Nov 2015.

NETO, F. T.; BACH, P. V.; NAJARI, B. B.; LI, P. S.; GOLDSTEIN, M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. **Seminars in cell & developmental biology**, 59, p. 10-26, Nov 2016.

NICOLÁS-BARCELÓ, P.; FACCHIN, M.; MARTÍNEZ-TABOADA, F.; BARRERA, R.; CRISTÓBAL, J. I.; GONZÁLEZ, M. A.; DURÁN-GALEA, Á.; MACÍAS-GARCÍA, B.; DUQUE, F. J. Effects of Sedation with Medetomidine and Dexmedetomidine on Doppler Measurements of Ovarian Artery Blood Flow in Bitches. **Animals (Basel)**, 11, n. 2, Feb 19 2021.

NISHIMURA, H.; L'HERNAULT, S. W. Spermatogenesis. **Current biology : CB**, 27, n. 18, p. R988-r994, Sep 25 2017. Curr Biol.

NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; CHARBON, G. A.; DE JONG, F. H.; WENSING, C. J. Functional arterio-venous anastomoses between the testicular artery and the pampiniform plexus in the spermatic cord of rams. **Journal of reproduction and fertility**, 75, n. 1, p. 193-201, Sep 1985.

NOVOTNY, R.; VITASEK, R.; BARTOSKOVA, A.; CIZEK, P.; PRINOSILOVA, P.; NOVAKOVA, K. Azoospermia with variable testicular histology after 7 months of treatment with a deslorelin implant in toms. **Theriogenology**, 83, n. 7, p. 1188-1193, Apr 15 2015.

NUFFER, Z.; RUPASOV, A.; BEKAL, N.; MURTHA, J.; BHATT, S. Spectral Doppler ultrasound of peripheral arteries: a pictorial review. **Clinical imaging**, 46, p. 91-97, Nov - Dec 2017.

NÚÑEZ-MARTÍNEZ, I.; MORAN, J. M.; PEÑA, F. J. A three-step statistical procedure to identify sperm kinematic subpopulations in canine ejaculates: changes after cryopreservation. **Reproduction in Domestic Animals**, 41, n. 5, p. 408-415, Oct 2006.

OETTLE, E. E. Sperm morphology and fertility in the dog. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, 47, p. 257-260, 1993.

ORISTAGLIO TURNER, R. M. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. **Clinical Techniques in Equine Practice**, 6, n. 4, p. 278-284, 2007/12/01/ 2007.

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 Suppl 4, p. 88-96, Oct 2014.

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 = Zuchthygiene**, 49 Suppl 4, p. 88-96, Oct 2014.

ORTIZ-RODRIGUEZ, J. M.; ANEL-LOPEZ, L.; MARTIN-MUNOZ, P.; ALVAREZ, M.; GAITSKELL-PHILLIPS, G.; ANEL, L.; RODRIGUEZ-MEDINA, P.; PENA, F. J.; ORTEGA FERRUSOLA, C. Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **PLoS One**, 12, n. 5, p. e0175878, 2017.

PAPA, F.; ALVARENGA, M.; CARVALHO, I.; BICUDO, S.; RAMIRES, P.; LOPES, M. Coloração espermática segundo Karras modificado pelo emprego de Barbatimão (*Stryphnodendrum barbatiman*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 40, p. 115-123, 1988.

PARRISH, J. J.; WILLENBURG, K. L.; GIBBS, K. M.; YAGODA, K. B.; KRAUTKRAMER, M. M.; LOETHER, T. M.; MELO, F. Scrotal insulation and sperm production in the boar. **Molecular Reproduction and Development**, 84, n. 9, p. 969-978, Sep 2017.

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

PERUMAL, P.; SELVARAJU, S.; SELVAKUMAR, S.; BARIK, A. K.; MOHANTY, D. N.; DAS, S.; DAS, R. K.; MISHRA, P. C. Effect of pre-freeze addition of cysteine hydrochloride and reduced glutathione in semen of crossbred Jersey bulls on sperm parameters and conception rates. **Reproduction in Domestic Animals**, 46, n. 4, p. 636-641, Aug 2011.

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, n. 6, p. 722-726, Mar 2008.

POZOR, M.; MORRISSEY, H.; ALBANESE, V.; KHOUZAM, N.; DERIBERPREY, A.; MACPHERSON, M. L.; KELLEMAN, A. A. Relationship between echotextural and histomorphometric characteristics of stallion testes. **Theriogenology**, 99, p. 134-145, Sep 1 2017.

POZOR, M. A.; MCDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, 61, n. 5, p. 799-810, Apr 1 2004.

PUGGIONI, G.; PINTUS, D.; MELZI, E.; MELONI, G.; ROCCHIGIANI, A. M.; MAESTRALE, C.; MANUNTA, D.; SAVINI, G.; DATTENA, M.; OGGIANO, A.; PALMARINI, M.; LIGIOS, C. Testicular Degeneration and Infertility following Arbovirus Infection. **Journal of Virology**, 92, n. 19, Oct 1 2018.

PÜHSE, G.; HENSE, J.; BERGMANN, M.; KLIESCH, S. Bilateral histological evaluation of exocrine testicular function in men with obstructive azoospermia: condition of spermatogenesis and andrological implications? **Human Reproduction**, 26, n. 10, p. 2606-2612, Oct 2011.

PUKAZHENTHI, B. S.; NEUBAUER, K.; JEWGENOW, K.; HOWARD, J.; WILDT, D. E. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. **Theriogenology**, 66, n. 1, p. 112-121, Jul 1 2006.

RAZI, M.; SADRKHANLOO, R. A.; MALEKINEJAD, H.; SARRAFZADEH-REZAEI, F. Testicular biohistochemical alterations following experimental varicocele in rats. **Iranian Journal of Reproductive Medicine**, 10, n. 3, p. 209-218, May 2012.

RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A.; MAES, D.; NIZANSKI, W. Computer-assisted sperm analysis in dogs and cats: an update after 20 years. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47 Suppl 6, p. 204-207, Dec 2012.

ROHLÄNDER, M.; OTZEN, H.; RODE, K.; JUNG, K.; SCHMICKE, M.; HARBORTH, T.; LANGEHEINE, M.; BREHM, R.; BAJCSY Á, C. Histological Comparison of Testicular Needle Biopsy and En Bloc Samples in Abattoir Calves. **Animals (Basel)**, 10, n. 5, May 25 2020.

SAKAMOTO, H.; SAITO, K.; SHICHIZYO, T.; ISHIKAWA, K.; IGARASHI, A.; YOSHIDA, H. Color Doppler ultrasonography as a routine clinical examination in male infertility. **International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association**, 13, n. 8, p. 1073-1078, Aug 2006.

SAMIR, H.; SASAKI, K.; AHMED, E.; KAREN, A.; NAGAOKA, K.; EL SAYED, M.; TAYA, K.; WATANABE, G. Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. **The**

Journal of veterinary medical science, 77, n. 5, p. 549-556, May 2015.

SANCHEZ GUERRERO, A.; VILLOR ESNAL, R.; PAMPLONA CASAMAYOR, M. [Radiological diagnosis: scrotal ultrasound and Doppler ultrasound in the diagnosis of male infertility]. **Archivos Espanoles de Urologia**, 57, n. 9, p. 905-920, Nov 2004.

SCHMEHL, M. L.; GRAHAM, E. F. Ultrastructure of the domestic tom cat (*Felis domestica*) and tiger (*Panthera tigris altaica*) spermatozoa. **Theriogenology**, 31, n. 4, p. 861-874, Apr 1989.

SCHNEBLE, F.; POHLMANN, T.; SEGERER, H.; MELTER, M. [Scrotal ultrasound in children and adolescents with duplex Doppler analysis of intratesticular arteries]. **Ultraschall in der Medizin** 32 Suppl 2, p. E51-56, Dec 2011.

SCHULZE, M.; BEYER, S.; BEYER, F.; BORTFELDT, R.; RIESENBECK, A.; LEIDING, C.; JUNG, M.; KLEVE-FELD, M. Relationship between pubertal testicular ultrasonographic evaluation and future reproductive performance potential in Piétrain boars. **Theriogenology**, 158, p. 58-65, Dec 2020.

SIDIBÉ, M.; FRANCO, L. A.; FREDRIKSSON, G.; MADEJ, A.; MALMGREN, L. Effects on testosterone, LH and cortisol concentrations, and on testicular ultrasonographic appearance of induced testicular degeneration in bulls. **Acta Vet Scand**, 33, n. 3, p. 191-196, 1992.

SILVA, C. A. O.; PERRI, S. H. V.; KOIVISTO, N. B.; SILVA, A. M.; CARVALHO, R. G.; MONTEIRO, C. M. R. Aspectos histológicos e morfométricos dos testículos de gatos domésticos (*Felis catus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29, n. 4, p. 312-316, 2009.

SOARES, J. M.; BELETTI, M. E.; MACHADO, E. R.; SILVA, M. Histomorfometria de testículos de gatos (*Felis domestica*) utilizando-se três diferentes fixadores. **Bioscience Journal**, 22, p. 175-181, 2006.

SOUZA, A. K.; TRAUTWEIN, L. G. C.; PARANZINI, C. S.; PERENCIN, F. M.; CARDOSO, G. S.; MARTINS, M. I. M. Influence of cooling temperature in sperm subpopulations of domestic cats. **Anim Reprod Sci**, 189, p. 1-10, Feb 2018.

SOUZA, F. F., 2017, Corumbá. **Critérios para exame andrológico em cães**. ABRAA. 23-24.

SOUZA, M. B.; MOTA FILHO, A. C.; SOUSA, C. V. S.; MONTEIRO, C. L. B.; CARVALHO, G. G.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C. S.; SILVA, L. D. M. Triplex Doppler evaluation of the testes in dogs of different sizes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 34, p. 1135-1140, 2014.

TALKE, P.; ANDERSON, B. J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine-induced vasoconstriction in healthy volunteers. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 84, n. 6, p. 1364-1372, Jun 2018.

TEBET, J. M.; MARTINS, M. I.; CHIRINEA, V. H.; SOUZA, F. F.; CAMPAGNOL, D.; LOPES, M. D. Cryopreservation effects on domestic cat epididymal versus electroejaculated spermatozoa. **Theriogenology**, 66, n. 6-7, p. 1629-1632, Oct 2006.

THOMÉ, H. E.; DI SANTIS, G. W.; MOURA, V. M. B. D.; AMORIM, R. L.; BANDARRA, E. P. Avaliação histopatológica testicular e epididimária em cães adultos e sem raça definida (SRD) da região de São João da Boa Vista, SP. **Ciência Animal Brasileira**, 8, n. 4, p. 745-755, 2007.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; CARDOSO, G. S.; DA COSTA FLAIBAN, K. K. M.; DE OLIVEIRA DEARO, A. C.; MARTINS, M. I. M. Correlation of testicular artery Doppler velocimetry with kinetics and morphologic characteristics of epididymal sperm in dogs. **Reproduction Domestic Animals**, 55, n. 6, p. 720-725, Jun 2020.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in Domestic Animals**, 54, n. 4, p. 687-695, Apr 2019.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 54, n. 4, p. 687-695, Apr 2019.

UR REHMAN, K.; QURESHI, A. B.; NUMAN, A.; ZANEB, H.; YOUSAF, M. S.; RABBANI, I.; REHMAN, H. Pressure flow pattern of varicocele veins and its correlation with testicular blood flow and semen parameters. **Andrologia**, Aug 2017.

VELASCO, A.; RUIZ, S. New Approaches to Assess Fertility in Domestic Animals: Relationship between Arterial Blood Flow to the Testicles and Seminal Quality. **Animals (Basel)**, 11, n. 1, Dec 23 2020.

VEZZOSI, T.; SCHOBBER, K. E. Doppler-derived echocardiographic evidence of pulmonary hypertension in cats with left-sided congestive heart failure. **Journal of Veterinary Cardiology**, 23, p. 58-68, Jun 2019.

ZAMBELLI, D.; CUNTO, M.; PRATI, F.; MERLO, B. Effects of ketamine or medetomidine administration on quality of electroejaculated sperm and on sperm flow in the domestic cat. **Theriogenology**, 68, n. 5, p. 796-803, Sep 15 2007.

ZELLI, R.; TROISI, A.; ELAD NGONPUT, A.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in veterinary science**, 95, n. 2, p. 632-637, Oct 2013.

ZOBEIRI, F.; SADRKHANLOU, R. A.; SALAMI, S.; MARDANI, K. Long-term effect of ciprofloxacin on testicular tissue: evidence for biochemical and

histochemical changes. **International Journal of Fertility and Sterility**, 6, n. 4, p. 294-303, Jan 2013.

5.2 MANUSCRITO 02

Nome: Testicular degeneration degree and epididymal tail kinetics in domestic cats

Revista: Reproduction in Domestic Animals

Situação: a ser submetido

Doppler velocimetry of testicular artery and epididymal sperm kinetics compared with testicular histological degeneration in domestic cats

Luiz Guilherme Corsi Trautwein
Myrian Megumi Hidalgo
Ana Beatriz Marques de Oliveira
Guilherme Schiess Cardoso
Giovana Wingeter Di Santis
Maria Isabel Mello Martins

Abstract

Seminiferous epithelium degeneration is the most important cause of infertility in males of domestic species, but fewer authors aborded this injury in domestic cats, specially comparing *in vivo* evaluations as spermogram, morphology and sperm membrane integrity. The aim was to evaluate the degeneration degree of the cat`s testicular parenchyma and compare it with epididymal tail sperm kinetics assessed by CASA system, morphology, membrane integrity and Doppler velocimetry of testicular artery. Twenty-five adult mongrel cats were used. The cats underwent Doppler ultrasound analysis of testicular artery and, then, orchiectomy. The sperm from epididymis tail was recovered and analyzed at CASA system, as well sperm morphology and membrane integrity. The testicles were fixed for histology and evaluated by two aspects: degree of degeneration and lesion extension, and it was compared with sperm quantitative analysis. One way analysis of variance test was used for comparing the testicular degenerarion degree and lesion extension with the quantitative variables of spermatozoa kinetics, sperm morphology, membrane integrity and Doppler ultrasound. There were difference only in the lateral head amplitude displacement (ALH) and linearity with the focal lesion extension, however, focal and multifocal lesions, as well as mild and moderate testicular degeneration, do not seems to influence sperm quality or testicular artery blood flow in domestic cats.

Introduction

The male`s reproductive potential is assessed by the andrological examination, which includes anamnesis, physical examination of the reproductive system and spermogram (CBRA, 2013). Spermogram includes the analysis of the semen and is routinely made by the evaluation of seminal parameters as motility, vigor, sperm defects and acrosomal membrane integrity in an optical microscope. However, there may be variations of up to 60% due to subjectivity assessment (MATOS *et al.*, 2008). Therefore the automated sperm analysis made by the CASA system has become popular as an objective tool for individual spermatozoa movement and trajectory evaluation (GALLAGHER *et al.*, 2018).

In addition to the andrological assessment, it is possible to evaluate the spermatozoa production and morphology of seminiferous tubules directly at the testicular parenchyma, when the male is orchiectomized or by incisional biopsy. Seminiferous epithelium degeneration is the most important cause of infertility in males of domestic species (THOMÉ *et al.*, 2007). This alteration may be subjectively evaluated *in vivo* by testicular palpation and ultrasonography (SIDIBÉ *et al.*, 1992; POZOR *et al.*, 2017), but the definitive diagnosis is made only through histopathology. By testicular ultrasound is possible to evaluate the

testicular parenchyma and the hemodynamic flow of testicular artery with Doppler ultrasonography (DE BRITO *et al.*, 2015; TRAUTWEIN *et al.*, 2020).

In men, many articles are approaching testicular histology, including the correlation of degeneration scores with seminal quality (PÜHSE *et al.*, 2011). However, there are few papers about testicular histology in the feline species (FRANÇA e GODINHO, 2003; DIAGONE *et al.*, 2012), and, by the knowledge of the authors, none comparing alterations in the parenchyma as the different degrees of testicular degeneration with seminal analysis. Consequently, it is not possible to quantify the extension of testicular parenchyma histological lesions in cats and especially compare it with *in vivo* results through sperm analysis.

Therefore, the objective of this study was to evaluate the degeneration degree and lesion extension of the cat's testicular parenchyma and compare it with epididymal spermatozoa kinetics assessed by the CASA system, morphology, sperm membrane integrity and the Doppler velocimetry of testicular artery.

Material and Methods

This study was evaluated and approved by the institutional Animal Use Ethics Committee under the number 15521.2018.80.

Twenty-five adult, mongrel, not castrated and healthy cats were used. The animals were provenient from philanthropic institutions that rescue homeless animals, with unknown reproductive history.

The cats were sedated with dexmedetomidine (10 µg/kg, IM) and ketamine (12 mg/kg, IM). They underwent Doppler ultrasound analysis in two regions of the testicular artery: distal supratesticular and marginal. The parameters of peak systolic velocity (PSV), end-diastolic velocity (EDV), pulsatility index (PI) and resistivity index (RI) of each side of the testicles were evaluated according TRAUTWEIN *et al.* (2019).

After 48 hours the cats were pre-medicated with acepromazine (0.03 mg/kg, IM) and morphine (0.5 mg/kg, IM), and then submitted to anesthesia induction with propofol intravenously (dose-dependent) and maintained with inhalation anesthesia with isoflurane. The elective orchiectomy was conducted by institutional surgical techniques, with clamping of the spermatic cord. The vas deferens were dissected from the pampiniform plexus and its blood vessels (MARTINS *et al.*, 2009). The epididymis tail was pressed and the vas deferens were squeezed in a Petry dish containing 100 µL of saline solution (NaCl 0,9%). After the spermatozoa collection in a plastic tube, the Petry dish was washed with more 100 µL of saline solution. The pressure under the epididymis tail was performed gently, to not damage the testicular parenchyma for further histological analysis.

The spermatozoa recovered were analyzed in the CASA system (Ivos II, Hamilthon Thorne, USA), using the setup for cats: Cell-Vu® chamber with 37° C of temperature; frame rate of 60 Hz; Frames: 5; Minimum contrast: 4; Minimum cell size: 6; Straightness (STR) limit of 70%; Average path velocity (VAP) cut-off

of 30 $\mu\text{m/s}$; Progressive minimum average path velocity (VAP) of 60 $\mu\text{m/s}$; Straight-line velocity (VSL) cut-off value of 20 $\mu\text{m/s}$; Cellular intensity 20; and Magnification of 1.90.

The variables motility; progressive motility; percentage of fast, medium, slow and static spermatozoa; average path velocity (VAP); straight-line velocity (VSL); curvilinear velocity (VCL); lateral head amplitude (ALH); beat-cross frequency (BCF); straightness (STR); linearity (LIN) were recorded. The sperm velocity index (SVI) and sperm movement index (SMI) were used in the formulas reported by NÚÑEZ-MARTÍNEZ *et al.* (2006). In addition to the kinetic variables, sperm morphology and membrane integrity were performed in a smear stained by eosin-nigrosine.

After recovery of spermatozoa from the epididymis tail, the testicles were fixed in 10% neutral buffered formalin for 48 hours and then maintained at 70% ethanol. The testicles were transversely 5 mm thick sectioned, in the middle part of the organ, and stored in histology cassettes. Then, for histological processing, they were dehydrated with alcohol (80% to absolute), diaphanized in xylene, and embedded in histological paraffin. The 5 μm thick sections were placed on glass slides and stained with hematoxylin and eosin stain (HE).

The testicles were evaluated at an optical microscope (CX31, Olympus) and characterized in two variables: degeneration severity by a modified method of Thomé, Di Santis [4] and lesion extension. Normal testicles were recognized, and degeneration severity was graded as mild, moderate, and severe (Table 1). The lesion extension was classified as focal (seminiferous tubules involved in the same region with little extension), multifocal (seminiferous tubules affected in more than one region, with normal tissue presence between them), or diffuse (seminiferous tubules affected throughout the testicular parenchyma).

Table 1. Histological classification of testicular degeneration degree of domestic cats, modified from THOMÉ *et al.* (2007).

Classification of testicular degeneration	Histopathological characteristics
Normal (Seminiferous tubules with normal spermatogenic activity)	All layers of cells responsible for spermatogenesis: spermatogonia, spermatocytes, spermatids and spermatozoa, in the entire circumference of the tubule.
Mild degeneration (Mildly reduced spermatogenic activity)	Presence of all cell layers; segmental or circumferential reduction in the number of spermatozooids and spermatids. Spermatogonia may present intracytoplasmatic vacuoles.*
Moderate degeneration (Severely reduced spermatogenic activity)	Absence of spermatozooids and spermatids. There may be cells of germinal epithelium in the tubular lumen.*
Severe degeneration (Arresting of spermatogenic activity)	Presence of Sertoli cells only or in association with solitary spermatogonia. The presence of germinal epithelial cells in the tubular lumen may occur.

*Multinucleated cells in the tubular lumen may occur due to failure to complete the spermatocyte meiosis mechanism. In all degrees may be the presence of sperm produced throughout the tubules.

The testicular degeneration degree and the lesion extension were compared with the quantitative variables of spermatozoa kinetics evaluated by the CASA system, sperm morphology and membrane integrity. The one-way analysis of variance test was used (all pairwise multiple comparison procedures Holm-Sidak method), with the normality (Shapiro-Wilk) and equality (Brown-Forsythe) tested, by SigmaPlot for Windows 14.0 (Systat Software Inc ©, Germany).

Results

All testicles showed fibroelastic patterns at physical palpation and were mobile in the scrotum, without pain or irritation. Doppler ultrasound analysis was performed on all animals. Epididymal tail spermatozoa were recovered from all testicles and then analyzed at the CASA system.

It was possible to evaluate all histology slides at an optical light microscope. Because of the recovery of spermatozoa from epididymis tail, it was not possible to evaluate epididymis nor the spermatic cord at histology. It is important to emphasize that, even with careful dissection of the spermatic cord and epididymal tail, the act of compressing the structures for sperm recovery caused some artifacts in the testicular periphery parenchyma in all testicles evaluated, similar to moderate degenerations. Therefore, the parenchyma periphery was not considered in the evaluation of testicles.

At the histologic examination, sixteen testicles showed no degeneration at all. For degeneration degree, twenty-six presented mild degeneration; six moderate; and two severe degeneration. Four testicles presented focal lesion extension; twenty-eight multifocal. Only two testis showed diffuse lesion extension and, therefore, were excluded from the analysis of variance, and their analysis was performed only by descriptive statistics, as well as the two testicles with severe degeneration. Figure 1 exemplifies the different types of degeneration.

There were differences only in the group of lesion extension when compared with spermatozoa kinetics: ALH and linearity. No difference was found regarding the degree of testicular degeneration, spermatozoa morphology or acrosomal membrane integrity.

For Doppler ultrasound analysis, there were no difference between Doppler velocimetric parameters of the testicular artery and the testicular degeneration degree or parenchyma lesion extension (Table 3).

Table 2. Spermatozoa kinetics assessed by CASA system, morphology and membrane integrity of adult cat's testicles and its comparison against histological degeneration degree and parenchyma lesion extension observed by optical microscope.

Degeneration degree	N	Motility (%)		Progressive motility (%)		Rapid (%)		Slow (%)		VAP (µm/s)		VSL (µm/s)		VCL (µm/s)		ALH (µm)		BCF (Hz)	
		mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd
Normal	16	45.8	27.7	21.9	14.9	40.9	26.6	35.4	21.6	140.2	26.5	108.6	23.8	232.6	28.1	7.8	0.9	34.2	8.2
Mild degeneration	25	54.9	24.1	28.2	12.9	49.3	41.8	32.7	15.6	145.8	33.4	115.1	25.0	226.7	47.0	7.0	1.6	34.6	7.6
Moderate degeneration	6	48.3	30.1	28.5	21.6	41.8	30.7	32.5	24.8	138.6	26.2	113.8	23.4	211.6	30.4	7.1	0.8	35.1	2.3
Severe degeneration*	2	41.5	3.5	24.0	1,4	36.0	1.4	52.5	6.4	152.5	3.3	125.3	4.2	248.8	11.9	8.0	0.1	36.8	0.6
P value		0.542		0.382		0.516		0.879		0.463		0.442		0.365		0.202		0.870	
Lesion extension																			
Normal	16	45,8	27,7	21,9	14,9	40,9	26,6	35,4	21,6	140,2	26,5	108,6	23,8	232,6	28,1	7,83a	0,9	34,2	8,2
Focal	4	52,0	33,9	33,0	23,9	46,5	35,3	40,5	32,7	144,5	27,2	120,4	23,4	207,6	34,7	6,2b	0,3	35,8	3,7
Multifocal	27	53,5	24,1	27,5	13,2	48,1	23,5	31,8	14,8	148,2	37,4	117,0	21,1	231,9	35,4	7,3ab	1,3	35,3	6,2
Diffuse*	2	40,0	1,4	24,5	2,1	36,0	1,4	48,5	12,0	100,3	70,6	84,8	53,1	168,5	125,4	5,2	3,9	25,5	15,5
P value		0,625		0,305		0,644		0,579		0,668		0,454		0,386		0,045		0,861	
Membrane integrity - injured (%)																			
Degeneration degree	N	STR (%)		LIN (%)		SVI		SMI		Minor defects (%)		Major defects (%)		Total defects (%)		Membrane integrity - injured (%)			
		mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd	mean	sd		
Normal	16	76.4	3.9	47.0	6.4	418.3	63.0	336.5	27.3	13.6	11.4	20.5	19.5	34.1	15.5	18.2	10.8		
Mild degeneration	25	72.9	16.6	48.4	11.2	422.5	87.4	337.3	54.8	14.2	10.7	15.0	12.4	29.2	15.1	16.1	9.2		
Moderate degeneration	6	81.0	4.3	55.3	9.0	401.8	64.8	344.5	26.5	11.8	6.6	24.7	21.7	36.5	23.2	15.5	10.2		
Severe degeneration*	2	81.0	0.0	50.5	2.1	456.2	4.2	351.5	4.5	10.5	0.7	21.0	7.1	31.5	6.4	29.5	2.1		
P value		0.400		0.114		0.538		0.783		0.832		0.377		0.583		0.783			
Lesion extension																			
Normal	16	76.4	3.9	47a	6.4	418.3	63.0	336.5	27.3	13.6	11.4	20.5	19.5	34.1	15.5	18.2	10.8		
Focal	4	83.2	3.2	60,7b	5.4	407.9	71.8	356.0	19.7	10.0	5.9	15.8	12.4	25.8	17.6	19.3	9.5		
Multifocal	27	75.5	11.5	49.5a	8.5	430.8	68.0	343.0	40.9	14.6	10.2	17.3	15.0	31.9	16.3	16.1	9.5		
Diffuse*	2	48.5	46.0	31.5	24.7	306.1	216.6	255.4	131.4	7.0	4.2	15.5	14.8	22.5	19.1	22.0	12.7		
P value		0.093		0.011		0.756		0.616		0.697		0.797		0.660		0.630			

*Severe and diffuse degeneration were not included in the statistics and were described for comparison purposes only. Different letters denote a statistically significant difference. Variables with no letters means that there was no statistical difference.

VAP = average path velocity; VSL = straight line velocity; VCL = curvilinear velocity; ALH = amplitude of lateral head displacement; BCF = beat cross frequency; STR = straightness; LIN = linearity; SVI = sperm velocity index ; SMI = sperm movement index.

Table 3. Cat's testicular artery Doppler velocimetry and its comparison against histological degeneration degree and parenchyma lesion extension observed by optical microscope.

Degeneration degree	N	PSV		EDV Supratesticular		PI		RI		PSV marginal		EDV Marginal		PI Marginal		RI Marginal	
		Supratesticular		mean	sd	mean	sd	mean	Sd	mean	Sd	mean	Sd	mean	Sd	Mean	sd
Normal	16	7.9	1.9	4.7	1.3	0.54	0.17	0.41	0.09	11.5	3.4	7.4	2.4	0.45	0.14	0.36	0.08
Mild degeneration	25	7.2	1.6	4.1	1.3	0.58	0.17	0.44	0.09	11.3	2.4	7.4	1.9	0.42	0.12	0.35	0.08
Moderate degeneration	6	6.6	1.7	4.0	1.2	0.50	0.04	0.39	0.02	10.0	3.4	6.3	1.8	0.43	0.08	0.35	0.05
Severe degeneration*	2	9.5	0.8	6.0	0.3	0.46	0.03	0.37	0.03	11.5	0.6	6.7	0.5	0.54	0.00	0.42	0.01
P value		0.264		0.340		0.481		0.367		0.531		0.484		0.852		0.923	
Lesion extension																	
Normal	16	7.9	1.9	4.7	1.3	0.54	0.17	0.41	0.09	11.5	3.4	7.4	2.4	0.45	0.14	0.36	0.08
Focal	4	6.0	1.9	3.5	1.3	0.52	0.06	0.41	0.04	9.3	3.3	6.2	1.9	0.38	0.06	0.32	0.04
Multifocal	27	7.3	1.6	4.1	1.3	0.58	0.17	0.44	0.09	11.3	2.5	7.3	1.9	0.43	0.12	0.35	0.08
Diffuse*	2	8.7	1.9	5.3	1.2 ^a	0.49	0.01	0.40	0.01	11.5	0.5	7	0	0.50	0.06	0.39	0.03
P value		0.130		0.241		0.721		0.644		0.403		0.589		0.657		0.764	

*Severe and diffuse degeneration were not included in the statistics and were described for comparison purposes only. Variables with no letters means that there was no statistical difference. PSV = Peak systolic velocity; EDV = End-diastolic velocity; PI = Pulsatility index; RI = Resistivity index.

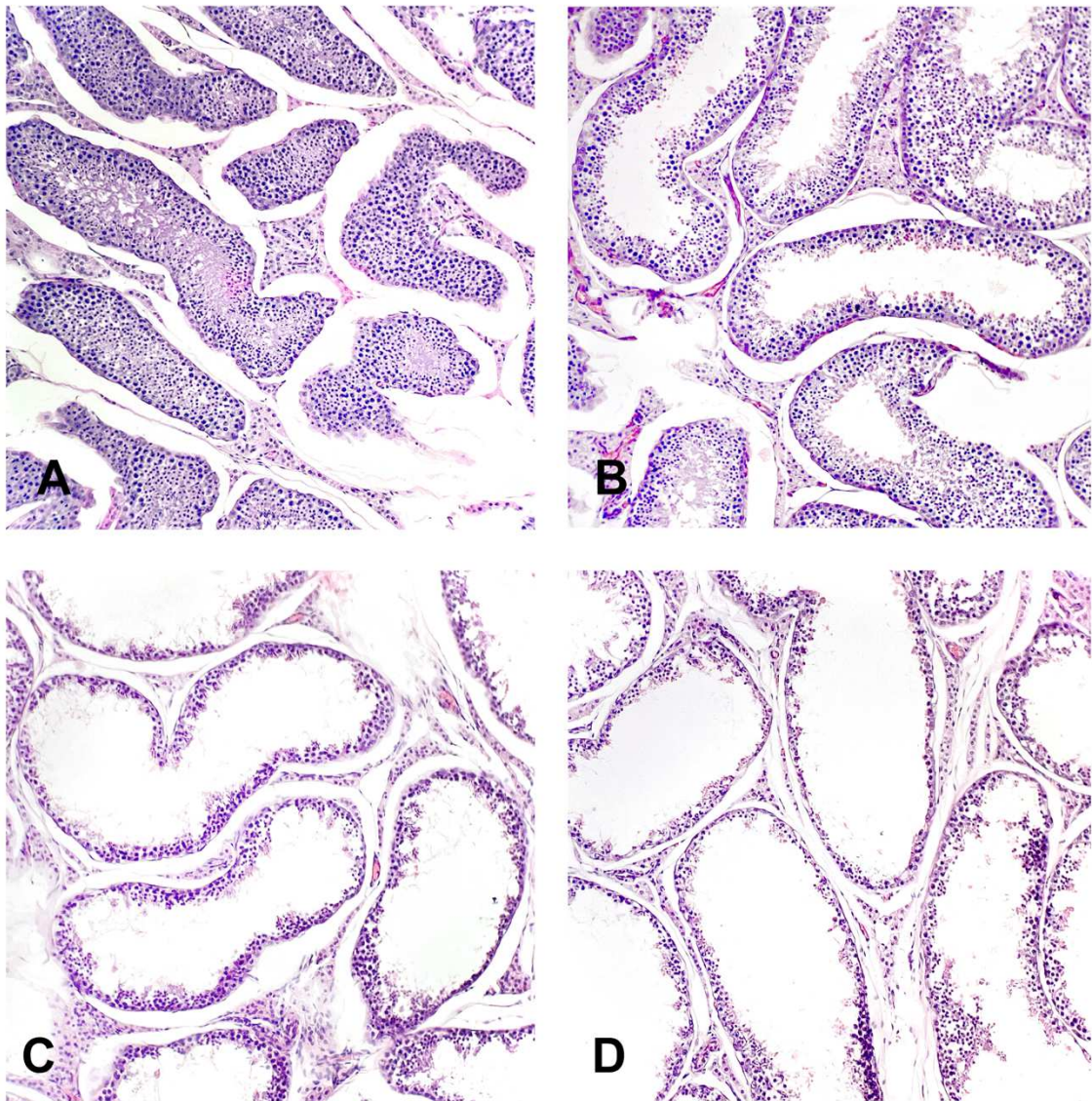


Figure 1. Domestic cat, testicle, histological findings. A) Normal parenchyma. Seminiferous tubules are lined by all cell layers of spermatogenesis, including spermatozoa (HE). B) Mild degeneration; circumferential reduction in the number of spermatozoa and spermatids (HE). C) Moderate degeneration; severe reduction of spermatogenic activity with lack of the complete spermatogenesis cell layers (HE). D) No spermatogenic activity; absence of the complete spermatogenesis cell layers, only Sertoli cells and few spermatogonia promoting tubular morphological support. A few spermatozoa can be seen in the tubular lumen, probably from another non-degenerated segment of the same tubule. (HE).

Discussion

Through this study, it was possible to compare the degree and extent of histological degeneration of the testicular parenchyma and Doppler velocimetric values of testicular artery with the sperm quality and kinetics of domestic cats. It was observed that focal and multifocal lesions, as well as mild and moderate degenerative lesions

showed no influence in the hemodynamic flow of testicular artery or sperm quality.

The testicular degeneration is characterized by the deterioration of testis structure, with a consequent loss of function, and is one of the main causes of infertility in males. It could be caused by several reasons, including traumas, heat, toxins, ischemia, nutritional deficiencies, infections and others (IMIG *et al.*, 1948; BERGH *et al.*, 2001; ORISTAGLIO TURNER, 2007; PUGGIONI *et al.*, 2018). If the main cause is not treated, the tendency is for the damage to epithelium gone worsen and the lesion to become irreversible. With the removal of the primary cause, Sertoli cells and spermatogonia tend to recover and the seminiferous tubule can start producing sperm again (BARTH e KASTELIC, 2021).

The evaluation of testicular degeneration by histology is one of the routine exams performed in men with infertility and includes even scores for evaluation of the lesion progression (PÜHSE *et al.*, 2011). But, in domestic animals, although several articles are reporting the histological characteristics of the testes (FRANÇA e GODINHO, 2003; SOARES *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2009; NOVOTNY *et al.*, 2015; ROHLÄNDER *et al.*, 2020). The comparison between histological findings and seminal analysis is even more scarce in the literature, especially in domestic cats.

Thirty-two percent of the evaluated testicles were normal, while 68% showed some degree of degeneration. In dogs from birth control campaigns, the prevalence reached 82,7% (THOMÉ *et al.*, 2007). Although the presence of testicular degeneration is an important finding, it did not reflect on the sperm quality, probably because the lesion may have been local and the seminiferous tubules have a great extension, up to 1.5 meters (NAKATA *et al.*, 2015). On the other hand, there was a difference in the sperm evaluation when compared to the extent of the degenerative lesions. Reductions in sperm movement parameters were only related to diffuse lesions, including ALH, STR, LIN and SMI.

The amplitude of lateral head displacement (ALH) is the distance that the sperm head moves, and it is related to the sperm's capacity to penetrate zona pellucida through its hyperactivation [22]. The linearity (LIN) are related to the capacity of the sperm to perform its movement in a straight line, and it is correlated to better fertility [23]. Although there were statistical differences in these variables, it is worth noting that in the vast majority of variables related to sperm kinetics, there was no difference either in the extent of the lesion or in the degree of degeneration. However, in variables such as motility and percentage of fast spermatozoa, it was possible to observe that severe and diffuse degenerations presented lower values than the others, even though they were not included in the statistics due to the smaller number of samples evaluated. The same happened in the Doppler ultrasound analysis of the testicular artery, in which there was no difference in any of the hemodynamic variables when related to the degree of degeneration or the parenchymal lesion extension.

The findings regarding these variables demonstrate that focal or multifocal degenerations may not influence the final sperm quality or testicular vascular hemodynamics, since, while these segments of the seminiferous tubules may not be producing sperm, the other segments of the tubules will probably compensate for the production.

Conclusion

In domestic cats there was no influence of the testicular degeneration degree and parenchymal lesion extension in the quantitative variables of the spermogram or in the Doppler velocimetric evaluation of testicular artery. Focal or multifocal degenerative lesions do not appear to influence the kinetics of final sperm movement, as well as sperm morphology, membrane integrity and testicular artery blood flow. Further studies may be able to evaluate the influence of extensive and diffuse testicular degenerative lesions in these variables.

Acknowledgments

To the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior for granting the doctorate scholarship. To Zoetis for making dexmedetomidine available to our experiment; and to Totalvet by the availability of ketamine.

Conflict of interest statement

The authors declare no conflict of interest.

References

ACKERMANN, C. L.; LOPES, M. D. Training tom cats for semen collection using an artificial vagina: a retrospective study. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 22, n. 12, p. 1155-1159, Dec 2020.

AMANN, R. P. Evaluating testis function non-invasively: how epidemiologist-andrologist teams might better approach this task. **Human Reproduction (Oxford, England)**, 25, n. 1, p. 22-28, Jan 2010.

AMANN, R. P.; WABERSKI, D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. **Theriogenology**, 81, n. 1, p. 5-17.e11-13, Jan 01 2014.

AMSTISLAVSKY, S.; BRUSENTSEV, E.; KIZILOVA, E.; MOKROUSOVA, V.; KOZHEVNIKOVA, V.; ABRAMOVA, T.; ROZHKOVA, I.; NAIDENKO, S. Sperm cryopreservation in the Far-Eastern wildcat (*Prionailurus bengalensis euptilurus*). **Reproduction in Domestic Animals**, 53, n. 5, p. 1219-1226, Oct 2018.

AXNÉR, E.; LINDE FORSBERG, C. Sperm morphology in the domestic cat, and its relation with fertility: a retrospective study. **Reproduction in Domestic Animals**, 42, n. 3, p. 282-291, Jun 2007.

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, n. 1, p. 49-54, 2001.

BARTH, A.; KASTELIC, J. P. Testicular degeneration. *In*: HOPPER, R. M. (Ed.). **Bovine Reproduction**. Second Edition ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2021. cap. 13, p. 144-150.

BATISSACO, L.; CELEGHINI, E. C. C.; PINAFFI, F. L. V.; OLIVEIRA, B. M. M.; ANDRADE, A. F. C.; RECALDE, E. C. S.; FERNANDES, C. B. Correlations between testicular hemodynamic and sperm characteristics in rams. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 50, n. 5, p. 384-395, 2013.

BATISTA, P. R.; GOBELLO, C.; RUBE, A.; BARRENA, J. P.; RE, N. E.; BLANCO, P. G. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. **Theriogenology**, 114, p. 81-84, Jul 1 2018.

BERGH, A.; COLLIN, O.; LISSBRANT, E. Effects of acute graded reductions in

testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. **Biology of Reproduction**, 64, n. 1, p. 13-20, Jan 2001.

BIGLIARDI, E.; DENTI, L.; DE CESARIS, V. Colour Doppler ultrasound imaging of blood flows variations in neoplastic and non-neoplastic testicular lesions in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, Aug 14 2018.

BLANCO, P. G.; RUBE, A.; LÓPEZ MERLO, M.; BATISTA, P. R.; ARIONI, S.; LÓPEZ KNUDSEN, I.; TÓRTORA, M.; GOBELLO, C. Uterine two-dimensional and Doppler ultrasonographic evaluation of feline pyometra. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 53 Suppl 3, p. 70-73, Nov 2018.

BOLLWEIN, H.; SCHULZE, J. J.; MIYAMOTO, A.; SIEME, H. Testicular blood flow and plasma concentrations of testosterone and total estrogen in the stallion after the administration of human chorionic gonadotropin. **The Journal of Reproduction and Development**, 54, n. 5, p. 335-339, Oct 2008.

BOUSSUGES, A.; MOLENAT, F.; CARTURAN, D.; GERBEAUX, P.; SAINTY, J. M. Venous gas embolism: detection with pulsed Doppler guided by two-dimensional echocardiography. **Acta anaesthesiologica Scandinavica**, 43, n. 3, p. 328-332, Mar 1999.

BRAGATO, N.; BORGES, N. C.; FIORAVANTI, M. C. S. B-mode and Doppler ultrasound of chronic kidney disease in dogs and cats. **Veterinary Research Communications**, 41, n. 4, p. 307-315, Dec 2017.

BRITO, L. D. C. A Física do Doppler. *In*: ROMUALDO, A. P. (Ed.). **Doppler sem segredos**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. v. 1, p. 5-16.

CARRILLO, J. D.; SOLER, M.; LUCAS, X.; AGUT, A. Colour and pulsed Doppler ultrasonographic study of the canine testis. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47, n. 4, p. 655-659, Aug 2012.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Physical principles of Doppler ultrasonography. **Ciência Rural**, 38, n. 3, p. 872-879, 2008.

CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia %J *Ciência Rural*. 38, p. 872-879, 2008.

CBRA. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COCUZZA, M. S.; TISEO, B. C.; SROUGI, V.; WOOD, G. J. A.; CARDOSO, J.; ESTEVES, S. C.; SROUGI, M. Diagnostic accuracy of physical examination compared with color Doppler ultrasound in the determination of varicocele diagnosis and grading: Impact of urologists' experience. **Andrology**, 8, n. 5, p. 1160-1166, Sep 2020.

DAUB, L.; GEYER, A.; REESE, S.; BRAUN, J.; OTZDORFF, C. Sperm membrane integrity in fresh and frozen-thawed canine semen samples: a comparison of vital stains with the NucleoCounter SP-100. **Theriogenology**, 86, n. 2, p. 651-656, Jul 15

2016.

DAVIDSON, A. P.; BAKER, T. W. Reproductive ultrasound of the dog and tom. **Topics in Companion Animal Medicine**, 24, n. 2, p. 64-70, May 2009.

DE BRITO, M.; FELICIANO, M.; COUTINHO, L. N.; USCATEGUI, R. R.; SIMÕES, A.; MARONEZI, M. C.; DE ALMEIDA, V. T.; CRIVELARO, R. M.; GASSER, B.; PAVAN, L.; RUSSIANO, W. R. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 50, n. 5, p. 730-734, Oct 2015.

DE SOUZA, M. B.; BARBOSA, C. C.; ENGLAND, G. C.; MOTA FILHO, A. C.; SOUSA, C. V.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; SILVA, L. D. Regional differences of testicular artery blood flow in post pubertal and pre-pubertal dogs. **BMC veterinary research**, 11, p. 47, Mar 4 2015.

DE SOUZA, M. B.; ENGLAND, G. C.; MOTA FILHO, A. C.; ACKERMANN, C. L.; SOUSA, C. V.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C.; OBA, E.; DA SILVA, L. D. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. **Theriogenology**, 84, n. 5, p. 805-810, Sep 15 2015.

DIAGONE, K. V.; FELICIANO, M. A.; PACHECO, M. R.; VICENTE, W. R. Histology and morphometry of the testes of adult domestic cats (*Felis catus*). **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 14, n. 2, p. 124-130, Feb 2012.

DUBINSKY, T. J.; CHEN, P.; MAKLAD, N. Color-flow and power Doppler imaging of the testes. **World journal of urology**, 16, n. 1, p. 35-40, 1998.

ENGLAND, G.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; SILVA, L.; MOXON, R. Canine reproductive ultrasound examination for predicting future sperm quality. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 52 Suppl 2, p. 202-207, Apr 2017.

ENGLAND, G. C. W. Relationship between ultrasonographic appearance, testicular size, spermatozoal output and testicular lesions in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, 32, n. 6, p. 306-311, 1991.

FOSTER, R. A. Sistema Reprodutor do Macho. In: ZACHARY, J. F. e MCGAVIN, M. D. (Ed.). **Bases da Patologia em Veterinária**. Segunda edição ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. cap. Capítulo 19, p. 3669.

FRANÇA, L. R.; GODINHO, C. L. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (*Felis catus*). **Biology of Reproduction** 68, n. 5, p. 1554-1561, May 2003.

FREITAS, L. A.; PINTO, J. N.; SILVA, H. V.; UCHOA, D. C.; MOTA FILHO, A. C.; SILVA, L. D. M. Doppler e ecobiometria prostática e testicular em cães da raça Boxer. **Acta Scientiae Veterinariae**, 41, n. 1121, p. 1-9, 2013.

GACEM, S.; PAPAS, M.; CATALAN, J.; MIRÓ, J. Examination of jackass (*Equus asinus*) accessory sex glands by B-mode ultrasound and of testicular artery blood flow by colour pulsed-wave Doppler ultrasound: Correlations with semen production. **Reproduction in Domestic Animals**, 55, n. 2, p. 181-188, Feb 2020.

GALLAGHER, M. T.; SMITH, D. J.; KIRKMAN-BROWN, J. C. CASA: tracking the past and plotting the future. **Reproduction, Fertility, and Development**, May 29 2018.

GARCIA, A. R. Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, 41, n. 1, p. 33-39, 2017.

GIANNICO, A. T.; GARCIA, D. A.; GIL, E. M.; SOUSA, M. G.; FROES, T. R. Assessment of umbilical artery flow and fetal heart rate to predict delivery time in bitches. **Theriogenology**, 86, n. 7, p. 1654-1661, Oct 15 2016.

GLORIA, A.; CARLUCCIO, A.; WEGHER, L.; ROBBE, D.; VALORZ, C.; CONTRI, A. Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 9, p. 14, 2018.

GUIDO, S. I.; GUIDO, F. C. L.; SANTOS FILHO, A. S.; WISCHRAL, A. Correlation between spermatic concentration and vascular characteristics of testis using doppler ultrasonography in young Holstein bulls. **Animal Reproduction**, 11, n. 3, p. 305, 2014.

GUMBSCH, P.; GABLER, C.; HOLZMANN, A. Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. **The Veterinary Record**, 151, n. 5, p. 140-144, Aug 03 2002.

GUNZEL-APEL, A. R.; MOHRKE, C.; POULSEN NAUTRUP, C. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 36, n. 5, p. 236-240, Oct 2001.

HASSAN, M. E.; SMITH, G. W.; OTT, R. S.; FAULKNER, D. B.; FIRKINS, L. D.; EHRHART, E. J.; SCHAEFFER, D. J. Reversibility of the reproductive toxicity of gossypol in peripubertal bulls. **Theriogenology**, 61, n. 6, p. 1171-1179, Apr 15 2004.

HILLELSOHN, J. H.; CHUANG, K. W.; GOLDENBERG, E.; GILBERT, B. R. Spectral Doppler sonography: a noninvasive method for predicting dyspermia. **Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine**, 32, n. 8, p. 1427-1432, Aug 2013.

HIRAI, S.; HATAYAMA, N.; NAITO, M.; NAGAHORI, K.; KAWATA, S.; HAYASHI, S.; QU, N.; TERAYAMA, H.; SHOJI, S.; ITOH, M. Pathological effect of arterial ischaemia and venous congestion on rat testes. **Scientific Reports**, 7, n. 1, p. 5422, Jul 14 2017.

HOTTA, V. T.; MANCUSO, F. J. N.; ROMUALDO, A. P. Hemodinâmica aplicada ao estudo Doppler. *In*: ROMUALDO, A. P. (Ed.). **Doppler sem segredos**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. v. 1, p. 45-64.

IBTISHAM, F.; WU, J.; XIAO, M.; AN, L.; BANKER, Z.; NAWAB, A.; ZHAO, Y.; LI, G.

Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. **Oncotarget**, 8, n. 39, p. 66709-66727, Sep 12 2017.

IMIG, C. J.; THOMSON, J. D.; HINES, H. M. Testicular Degeneration as a Result of Microwave Irradiation. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 69, n. 2, p. 382-386, 1948/11/01 1948.

JOHNSON, J. E.; BOONE, W. R.; BLACKHURST, D. W. Manual versus computer-automated semen analyses. Part II. Determination of the working range of a computer-automated semen analyzer. **Fertility and Sterility**, 65, n. 1, p. 156-159, Jan 1996.

JOHNSON, L. Efficiency of spermatogenesis. **Microscopy Research and Technique**, 32, n. 5, p. 385-422, Dec 1 1995.

JUNIOR, F. A. B.; JUNIOR, C. K.; FAVARO, P. D. C.; PEREIRA, G. R.; MOROTTI, F.; MENEGASSI, S. R. O.; BARCELLOS, J. O. J.; SENEDA, M. M. Effect of breed on testicular blood flow dynamics in bulls. **Theriogenology**, 118, p. 16-21, Sep 15 2018.

KANTER, M.; AKTAS, C.; ERBOGA, M. Heat stress decreases testicular germ cell proliferation and increases apoptosis in short term: an immunohistochemical and ultrastructural study. **Toxicology and Industrial Health**, 29, n. 2, p. 99-113, Mar 2013.

KHEIRKHAH, M. S.; MOLLAPOUR SISAKHT, M.; MOHAMMADSADEGH, M.; MOSLEMI, H. R. Sperm evaluation of Jungle Cat (*Felis chaus*) obtained by urethral catheterization (CT) after medetomidine administration. **Theriogenology**, 91, p. 17-20, Mar 15 2017.

KOKOUA, A.; TRE YAVO, M.; SANTOS, K. A.; HOMSY, Y.; MOBIOT, M. L.; GNANAZAN BI N'GUESSAN, G. [Importance of the testicular artery: histo-functional approach and comparison between juvenile and adult rats]. **Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes**, 88, n. 280, p. 31-34, Apr 2004.

LEITE, R. F.; DE AGOSTINI LOSANO, J. D.; DE SOUZA RAMOS ANGRIMANI, D.; SOUSA, R. G. B.; DE MIRANDA ALVES, Á.; CAVALLIN, M. D.; KAWAI, G. K. V.; CORTADA, C. N. M.; ZUGE, R. M.; NICHI, M. Reproductive parameters of *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls during different seasons in tropical conditions: focus on an alternative approach to testicular assessments using ultrasonography. **Animal reproduction science**, 225, p. 106668, Feb 2021.

LIMA, D. B. C.; SILVA, T. F. P.; AQUINO CORTEZ, A.; PINTO, J. N.; MAGALHÃES, F. F.; CALDINI, B. N.; SILVA, L. D. M. Recovery of sperm after epididymal refrigeration from domestic cats using ACP-117c and Tris extenders. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 68, n. 4, p. 873-881, 2016.

LIMA, S. L. G. **CONGELAÇÃO E VITRIFICAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMÁRIOS DE GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*): Estabelecimento de protocolos para felinos selvagens ameaçados de extinção**. 2020. 77 f. Doutorado (Doutora) - Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

LU, J. C.; HUANG, Y. F.; LU, N. Q. Computer-aided sperm analysis: past, present and future. **Andrologia**, 46, n. 4, p. 329-338, May 2014.

MADRIGAL-VALVERDE, M.; BITTENCOURT, R. F.; RIBEIRO FILHO, A. D.; BARBOSA, V. F.; VIEIRA, C. A.; ROMÃO, E. A.; CARNEIRO, I. B.; AZEVEDO, M. C.; ARAUJO, G. R. Quality of domestic cat semen collected by urethral catheterization after the use of different alpha 2-adrenergic agonists. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, p. 1098612x20973183, Nov 18 2020.

MARTINS, M. I.; PADILHA, L. C.; SOUZA, F. F.; LOPES, M. D. Fertilizing capacity of frozen epididymal sperm collected from dogs. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 44 Suppl 2, p. 342-344, Jul 2009.

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

MATRE, K.; SEGADAL, L. Simultaneous measurement of velocity, diameter, flow and pressure in the ascending aorta of cats. Evaluation of an extractable Doppler ultrasound probe for continuous monitoring of aortic blood flow. **Cardiovascular Research**, 22, n. 12, p. 855-863, Dec 1988.

MICKELSEN, W. D.; MEMON, M. A.; ANDERSON, P. B.; FREEMAN, D. A. The relationship of semen quality to pregnancy rate and litter size following artificial insemination in the bitch. **Theriogenology**, 39, n. 2, p. 553-560, Feb 1993.

MILLERET, R. Doppler ultrasound diagnosis of testicular cord torsion. **Journal of clinical ultrasound : JCU**, 4, n. 6, p. 425-427, Dec 1976.

MISELL, L. M.; HOLOCHWOST, D.; BOBAN, D.; SANTI, N.; SHEFI, S.; HELLERSTEIN, M. K.; TUREK, P. J. A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. **The Journal of Urology**, 175, n. 1, p. 242-246; discussion 246, Jan 2006.

MOSTAFA, T.; LABIB, I.; EL-KHAYAT, Y.; EL-RAHMAN EL-SHAHAT, A.; GADALLAH, A. Human testicular arterial supply: gross anatomy, corrosion cast, and radiologic study. **Fertility and Sterility**, 90, n. 6, p. 2226-2230, Dec 2008.

MOXON, R.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; DA SILVA, L. D.; ENGLAND, G. C. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. **Animal Reproduction Science**, 160, p. 112-119, Sep 2015.

MOXON, R.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; DE SOUZA, M. B.; DA SILVA, L. D.; ENGLAND, G. C. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. **Animal reproduction science**, 160, p. 112-119, Sep 2015.

NAKATA, H.; WAKAYAMA, T.; SONOMURA, T.; HONMA, S.; HATTA, T.; ISEKI, S. Three-dimensional structure of seminiferous tubules in the adult mouse. **Journal of**

Anatomy, 227, n. 5, p. 686-694, Nov 2015.

NETO, F. T.; BACH, P. V.; NAJARI, B. B.; LI, P. S.; GOLDSTEIN, M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, 59, p. 10-26, Nov 2016.

NICOLÁS-BARCELÓ, P.; FACCHIN, M.; MARTÍNEZ-TABOADA, F.; BARRERA, R.; CRISTÓBAL, J. I.; GONZÁLEZ, M. A.; DURÁN-GALEA, Á.; MACÍAS-GARCÍA, B.; DUQUE, F. J. Effects of Sedation with Medetomidine and Dexmedetomidine on Doppler Measurements of Ovarian Artery Blood Flow in Bitches. **Animals (Basel)**, 11, n. 2, Feb 19 2021.

NISHIMURA, H.; L'HERNAULT, S. W. Spermatogenesis. **Current Biology : CB**, 27, n. 18, p. R988-r994, Sep 25 2017. *Curr Biol*.

NOORDHUIZEN-STASSEN, E. N.; CHARBON, G. A.; DE JONG, F. H.; WENSING, C. J. Functional arterio-venous anastomoses between the testicular artery and the pampiniform plexus in the spermatic cord of rams. **Journal of reproduction and fertility**, 75, n. 1, p. 193-201, Sep 1985.

NOVOTNY, R.; VITASEK, R.; BARTOSKOVA, A.; CIZEK, P.; PRINOSILOVA, P.; NOVAKOVA, K. Azoospermia with variable testicular histology after 7 months of treatment with a deslorelin implant in toms. **Theriogenology**, 83, n. 7, p. 1188-1193, Apr 15 2015.

NUFFER, Z.; RUPASOV, A.; BEKAL, N.; MURTHA, J.; BHATT, S. Spectral Doppler ultrasound of peripheral arteries: a pictorial review. **Clinical imaging**, 46, p. 91-97, Nov - Dec 2017.

NÚÑEZ-MARTÍNEZ, I.; MORAN, J. M.; PEÑA, F. J. A three-step statistical procedure to identify sperm kinematic subpopulations in canine ejaculates: changes after cryopreservation. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 41, n. 5, p. 408-415, Oct 2006.

OETTLE, E. E. Sperm morphology and fertility in the dog. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, 47, p. 257-260, 1993.

ORISTAGLIO TURNER, R. M. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. **Clinical Techniques in Equine Practice**, 6, n. 4, p. 278-284, 2007/12/01/ 2007.

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 = Zuchthygiene**, 49 Suppl 4, p. 88-96, Oct 2014.

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 Suppl 4, p. 88-96, Oct 2014.

ORTIZ-RODRIGUEZ, J. M.; ANEL-LOPEZ, L.; MARTIN-MUNOZ, P.; ALVAREZ, M.;

GAITSKELL-PHILLIPS, G.; ANEL, L.; RODRIGUEZ-MEDINA, P.; PENA, F. J.; ORTEGA FERRUSOLA, C. Pulse Doppler ultrasound as a tool for the diagnosis of chronic testicular dysfunction in stallions. **PLoS One**, 12, n. 5, p. e0175878, 2017.

PAPA, F.; ALVARENGA, M.; CARVALHO, I.; BICUDO, S.; RAMIRES, P.; LOPES, M. Coloração espermática segundo Karras modificado pelo emprego de Barbatimão (*Stryphnodendrum barbatiman*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 40, p. 115-123, 1988.

PARRISH, J. J.; WILLENBURG, K. L.; GIBBS, K. M.; YAGODA, K. B.; KRAUTKRAMER, M. M.; LOETHER, T. M.; MELO, F. Scrotal insulation and sperm production in the boar. **Molecular Reproduction and Development**, 84, n. 9, p. 969-978, Sep 2017.

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

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, n. 6, p. 722-726, Mar 2008.

POZOR, M.; MORRISSEY, H.; ALBANESE, V.; KHOUZAM, N.; DERIBERPREY, A.; MACPHERSON, M. L.; KELLEMAN, A. A. Relationship between echotextural and histomorphometric characteristics of stallion testes. **Theriogenology**, 99, p. 134-145, Sep 1 2017.

POZOR, M. A.; MCDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, 61, n. 5, p. 799-810, Apr 1 2004.

PUGGIONI, G.; PINTUS, D.; MELZI, E.; MELONI, G.; ROCCHIGIANI, A. M.; MAESTRALE, C.; MANUNTA, D.; SAVINI, G.; DATTENA, M.; OGGIANO, A.; PALMARINI, M.; LIGIOS, C. Testicular Degeneration and Infertility following Arbovirus Infection. **Journal of Virology**, 92, n. 19, Oct 1 2018.

PÜHSE, G.; HENSE, J.; BERGMANN, M.; KLIESCH, S. Bilateral histological evaluation of exocrine testicular function in men with obstructive azoospermia: condition of spermatogenesis and andrological implications? **Human Reproduction** 26, n. 10, p. 2606-2612, Oct 2011.

RAZI, M.; SADRKHANLOO, R. A.; MALEKINEJAD, H.; SARRAFZADEH-REZAEI, F. Testicular biohistochemical alterations following experimental varicocele in rats. **Iran Journal of Reproductive Medicine**, 10, n. 3, p. 209-218, May 2012.

RIJSSELAERE, T.; VAN SOOM, A.; MAES, D.; NIZANSKI, W. Computer-assisted sperm analysis in dogs and cats: an update after 20 years. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 47 Suppl 6, p. 204-207, Dec 2012.

ROHLÄNDER, M.; OTZEN, H.; RODE, K.; JUNG, K.; SCHMICKE, M.; HARBORTH, T.; LANGEHEINE, M.; BREHM, R.; BAJCSY Á, C. Histological Comparison of

Testicular Needle Biopsy and En Bloc Samples in Abattoir Calves. **Animals (Basel)**, 10, n. 5, May 25 2020.

SAMIR, H.; SASAKI, K.; AHMED, E.; KAREN, A.; NAGAOKA, K.; EL SAYED, M.; TAYA, K.; WATANABE, G. Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. **The Journal of Veterinary Medical Science**, 77, n. 5, p. 549-556, May 2015.

SANCHEZ GUERRERO, A.; VILLOR ESNAL, R.; PAMPLONA CASAMAYOR, M. [Radiological diagnosis: scrotal ultrasound and Doppler ultrasound in the diagnosis of male infertility]. **Archivos Espanoles de Urologia**, 57, n. 9, p. 905-920, Nov 2004.

SCHMEHL, M. L.; GRAHAM, E. F. Ultrastructure of the domestic tom cat (*Felis domestica*) and tiger (*Panthera tigris altaica*) spermatozoa. **Theriogenology**, 31, n. 4, p. 861-874, Apr 1989.

SCHNEBLE, F.; POHLMANN, T.; SEGERER, H.; MELTER, M. [Scrotal ultrasound in children and adolescents with duplex Doppler analysis of intratesticular arteries]. **Ultraschall in der Medizin** 32 Suppl 2, p. E51-56, Dec 2011.

SCHNITZER, J. D. F.; HIDALGO, M. M. T.; TRAUTWEIN, L. G. C.; ALMEIDA, A. B. M. D.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Determination of cat sperm concentration using the CASA system. **Brazilian Journal of Development**, 5, n. 11, p. 22791-22806, 2019.

SCHULZE, M.; BEYER, S.; BEYER, F.; BORTFELDT, R.; RIESENBECK, A.; LEIDING, C.; JUNG, M.; KLEVE-FELD, M. Relationship between pubertal testicular ultrasonographic evaluation and future reproductive performance potential in Piétrain boars. **Theriogenology**, 158, p. 58-65, Dec 2020.

SIDIBÉ, M.; FRANCO, L. A.; FREDRIKSSON, G.; MADEJ, A.; MALMGREN, L. Effects on testosterone, LH and cortisol concentrations, and on testicular ultrasonographic appearance of induced testicular degeneration in bulls. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 33, n. 3, p. 191-196, 1992.

SILVA, C. A. O.; PERRI, S. H. V.; KOIVISTO, N. B.; SILVA, A. M.; CARVALHO, R. G.; MONTEIRO, C. M. R. Aspectos histológicos e morfométricos dos testículos de gatos domésticos (*Felis catus*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29, n. 4, p. 312-316, 2009.

SOARES, J. M.; BELETTI, M. E.; MACHADO, E. R.; SILVA, M. Histomorfometria de testículos de gatos (*Felis domestica*) utilizando-se três diferentes fixadores. **Bioscience Journal**, 22, p. 175-181, 2006.

SOUZA, A. K.; TRAUTWEIN, L. G. C.; PARANZINI, C. S.; PERENCIN, F. M.; CARDOSO, G. S.; MARTINS, M. I. M. Influence of cooling temperature in sperm subpopulations of domestic cats. **Animal Reproduction Science**, 189, p. 1-10, Feb 2018.

SOUZA, F. F., 2017, Corumbá. **Critérios para exame andrológico em cães**. ABRAA.

23-24.

SOUZA, M. B.; MOTA FILHO, A. C.; SOUSA, C. V. S.; MONTEIRO, C. L. B.; CARVALHO, G. G.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C. S.; SILVA, L. D. M. Triplex Doppler evaluation of the testes in dogs of different sizes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 34, p. 1135-1140, 2014.

TALKE, P.; ANDERSON, B. J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of dexmedetomidine-induced vasoconstriction in healthy volunteers. **Br J Clin Pharmacol**, 84, n. 6, p. 1364-1372, Jun 2018.

TEBET, J. M.; MARTINS, M. I.; CHIRINEA, V. H.; SOUZA, F. F.; CAMPAGNOL, D.; LOPES, M. D. Cryopreservation effects on domestic cat epididymal versus electroejaculated spermatozoa. **Theriogenology**, 66, n. 6-7, p. 1629-1632, Oct 2006.

THOMÉ, H. E.; DI SANTIS, G. W.; MOURA, V. M. B. D.; AMORIM, R. L.; BANDARRA, E. P. Avaliação histopatológica testicular e epididimária em cães adultos e sem raça definida (SRD) da região de São João da Boa Vista, SP. **Ciência Animal Brasileira**, 8, n. 4, p. 745-755, 2007.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; CARDOSO, G. S.; DA COSTA FLAIBAN, K. K. M.; DE OLIVEIRA DEARO, A. C.; MARTINS, M. I. M. Correlation of testicular artery Doppler velocimetry with kinetics and morphologic characteristics of epididymal sperm in dogs. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 55, n. 6, p. 720-725, Jun 2020.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in Domestic Animals**, 54, n. 4, p. 687-695, Apr 2019.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, 54, n. 4, p. 687-695, Apr 2019.

UR REHMAN, K.; QURESHI, A. B.; NUMAN, A.; ZANEB, H.; YOUSAF, M. S.; RABBANI, I.; REHMAN, H. Pressure flow pattern of varicocele veins and its correlation with testicular blood flow and semen parameters. **Andrologia**, Aug 2 2017.

VELASCO, A.; RUIZ, S. New Approaches to Assess Fertility in Domestic Animals: Relationship between Arterial Blood Flow to the Testicles and Seminal Quality. **Animals (Basel)**, 11, n. 1, Dec 23 2020.

VEZZOSI, T.; SCHOBER, K. E. Doppler-derived echocardiographic evidence of pulmonary hypertension in cats with left-sided congestive heart failure. **Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology**, 23, p. 58-68, Jun 2019.

ZAMBELLI, D.; CUNTO, M.; PRATI, F.; MERLO, B. Effects of ketamine or medetomidine administration on quality of electroejaculated sperm and on sperm flow in the domestic cat. **Theriogenology**, 68, n. 5, p. 796-803, Sep 15 2007.

ZELLI, R.; TROISI, A.; ELAD NGONPUT, A.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in veterinary science**, 95, n. 2, p. 632-637, Oct 2013.

ZOBEIRI, F.; SADRKHANLOU, R. A.; SALAMI, S.; MARDANI, K. Long-term effect of ciprofloxacin on testicular tissue: evidence for biochemical and histochemical changes. **International Journal of Fertility and Sterility**, 6, n. 4, p. 294-303, Jan 2013.

5.1 MANUSCRITO 03

Nome: Ultrassonografia em modo B e Doppler para avaliação reprodutiva de cães e gatos.

Revista submetida: Revista Brasileira de Reprodução Animal

Situação: manuscrito aceito para publicação.

Ultrassonografia em modo B e Doppler para avaliação reprodutiva de cães e gatos *B-mode and Doppler ultrasound for reproductive assessment of dogs and cats*

Luiz Guilherme Corsi Trautwein¹; Maria Isabel Mello Martins¹
Universidade Estadual de Londrina
luiz.guilherme.corsi@uel.br

Resumo

A ultrassonografia do sistema reprodutivo é uma importante ferramenta utilizada em associação ao exame andrológico para avaliação de machos reprodutores. Novas modalidades de análise ultrassonográfica foram descritas na última década, como a análise Doppler da artéria testicular. O objetivo deste texto é apresentar estas modalidades com o intuito de acrescentar informações importantes ao exame andrológico de cães e gatos.

Palavras-chave: ultrassom, próstata, testículos, artéria testicular, Doppler velocimetria

Abstract

The ultrasound of the reproductive system is an important tool used in association with the andrological examination to evaluate reproductive males. New modalities of ultrasound analysis have been described in the last decade, such as the Doppler analysis of the testicular artery. The objective of this text is to present these tools in order to add important information to the andrological examination of dogs and cats.

Keywords: ultrasound, prostate, testes, testicular artery, Doppler velocimetry

Introdução

Diferentes métodos de avaliação reprodutiva dos machos são descritos na literatura, em especial à função testicular, avaliados pelo exame andrológico. Dentre estes destaca-se o exame físico, como consistência e volume testicular, bem como a análise direta do ejaculado com a concentração espermática, motilidade e vigor espermático, morfologia dos espermatozoides e volume do ejaculado.

Porém, outros métodos auxiliares são descritos com a função de agregar informações importantes ao exame andrológico. Dentre eles, destaca-se a ultrassonografia em modo B e modo Doppler de testículos e próstata (AMMAR et al., 2014; CARRILLO et al., 2012; DE SOUZA et al., 2015, 2017; ENGLAND, 1991; GUMBSCH et al., 2002; GÜNZEL-APEL et al., 2001b; NASHAN D et al., 1990).

O objetivo deste texto é apresentar estas ferramentas utilizadas para avaliar os órgãos do sistema reprodutivo e acrescentar informações ao exame andrológico de cães e gatos.

Próstata

A próstata é uma glândula acessória presente em cães e gatos, que possui aspecto bilobado e circunda a uretra proximal. Nos felinos é considerada um órgão rudimentar e sem relevância clínica. Localiza-se na região hipogástrica abdominal, em aposição caudal à bexiga. Dependendo do seu tamanho, em cães, pode estar localizada dentro da cavidade pélvica. Os ductos deferentes são inseridos na face craniolateral de ambos os lobos prostáticos, e seguem caudoventralmente até a entrada na uretra. Os ductos prostáticos seguem em direção à uretra e adentram por toda sua circunferência (SMITH, 2008). A sua principal função é produzir e fornecer o fluido prostático ao sêmen, que auxilia o transporte e dá suporte aos espermatozoides durante a ejaculação (BARSANTI e FINCO, 1986).

A próstata poderá ser avaliada ultrassonograficamente em modo B ou Doppler, na qual é realizada a avaliação do fluxo sanguíneo da artéria prostática (DE SOUZA et al., 2017).

Para a avaliação ultrassonográfica o paciente é posicionado em decúbito ventrodorsal e deverá ser realizada tricotomia da região abdominal parapeniana. Pode-se utilizar transdutores lineares ou convexos, porém, com preferência aos primeiros devido à melhor resolução de imagem.

Para a localização da próstata é aconselhado, antes, localizar a bexiga em corte longitudinal, grande órgão repleto com conteúdo anecoico em região hipogástrica. Após, segue-se com o transdutor em sentido caudal, até que seja possível a visualização da uretra e da próstata. Ao corte longitudinal a próstata se apresentará como uma estrutura ovoide (Figura 1). Recomenda-se, além do corte longitudinal, que seja realizado neste momento um corte transversal, à qual será possível avaliar os lobos separados circundando a uretra, ao centro, com aspecto de “maçã” (Figura 2).

O aspecto ultrassonográfico da próstata varia em machos inteiros ou castrados. Nos cães inteiros ela se apresentará com parênquima homogêneo e aspecto hipoecogênico a isoecogênico em relação ao tecido adjacente. Em animais castrados, a próstata se apresentará com tamanho reduzido e aspecto hipoecogênico (ASSIS *et al.*, 2015). Com a utilização de probes de alta frequência é possível visibilizar estruturas anecogênicas tubulares, representando os canalículos prostáticos preenchidos com fluidos. Porém, estas estruturas são diminutas. Em caso de inflamação, hiperplasia ou neoplasia, há perda da estrutura homogênea e áreas focais ou multifocais de hiperecogenicidade ou hipoecogenicidade se tornam aparentes. Abscessos prostáticos apresentarão áreas anecogênicas características de acúmulo de líquido, que poderá estar localizado ou, até mesmo, difuso, a depender da gravidade da infecção (Figura 3) (SMITH, 2008).

Uma das pesquisas clássicas acerca do tamanho prostático em cães, na qual foram desenvolvidas uma série de equações com base em análise de regressão para avaliar o tamanho prostático, levando em consideração o peso e a idade do animal. Para o comprimento (C), utiliza-se a equação: $C = (0,055 \times \text{peso}) + (0,143 \times \text{idade}) + 3,31$; para a largura (L): $L = (0,047 \times \text{peso}) + (0,089 \times \text{idade}) + 3,45$ e; para a altura (A): $A = (0,046 \times \text{peso}) + (0,069 \times \text{idade}) + 2,68$ (RUEL *et al.*, 1998). É esperado que cães de raças grandes apresentem maior incidência de próstatas com aumento de volume, quando comparado com cães de raças pequenas (MANTZIARAS *et al.*, 2017).

Escroto

O escroto é uma bolsa músculo cutânea que acomoda os testículos, epidídimos e ductos deferentes. As membranas serosas que revestem os órgãos possuem comunicação com o peritônio pelo anel inguinal, por isso deve-se levar em consideração a presença de infecções.

À ultrassonografia o escroto deverá apresentar características compatíveis com a pele, formando uma fina linha hiperecogênica, salvo em casos de hidrocele, na qual haverá o preenchimento escrotal por conteúdo líquido e, conseqüentemente, ecogenicidade anecoica.

Testículos

Os testículos são órgãos gonadais pares, pertencentes ao sistema reprodutivo do macho, responsáveis pela produção de espermatozoides e testosterona. Devem estar localizados dentro do escroto em animais adultos. Os espermatozoides são produzidos dentro dos túbulos seminíferos e armazenados no epidídimo. Durante a ejaculação são transportados via ducto deferente à uretra para serem expelidos.

A irrigação sanguínea é realizada pela artéria testicular, uma artéria longilínea que provém diretamente da aorta, passa pelo anel inguinal junto ao cordão espermático, adquire um padrão convoluto, e adentra ao parênquima testicular. O cordão espermático é composto, além do ducto deferente e da artéria testicular, pelo plexo pampiniforme: estrutura de vasos que drena o sangue dos testículos e forma uma rede venosa, com o intuito de favorecer a troca de calor

contracorrente e a diminuição da velocidade sanguínea da artéria testicular (BRITO *et al.*, 2004). Essa redução na velocidade do fluxo sanguíneo testicular é importante para que haja uma correta troca gasosa entre o sangue e o parênquima do órgão, característica de órgãos que necessitam de perfusão sanguínea constante, como os rins (CARVALHO *et al.*, 2008). Distúrbios na hemodinâmica testicular influenciam diretamente o funcionamento do órgão (BERGH *et al.*, 2001).

À ultrassonografia em modo B os testículos devem se apresentar com ecotextura homogênea e hipoecogênicos em relação ao mediastino, sendo este uma linha hiperecogênica fibrosa e longilínea no centro do órgão (Figura 4). A ecogenicidade dos testículos pode ser comparada à ecogenicidade hepática. Em cães de grande porte observa-se vasos sanguíneos no parênquima testicular. É possível, ainda, visualizar a cabeça, corpo e cauda do epidídimo, que deverá se apresentar com características semelhantes, por vezes com menor ecogenicidade em relação ao parênquima testicular (ASSIS *et al.*, 2015). O cordão espermático está apositionado à cabeça do epidídimo e, ao modo B é possível diferenciá-lo pela presença de áreas anecogênicas.

Os gatos apresentam características ultrassonográficas semelhantes aos cães, com exceção de que o formato testicular é mais ovalado e o mediastino é menos evidente (Figura 5).

Para realizar uma correta avaliação reprodutiva ultrassonográfica de machos é imprescindível que o avaliador faça uma detalhada exploração clínica do paciente, incluindo anamnese e exame físico andrológico.

Degenerações testiculares poderão apresentar, na maioria dos casos, testículos macios à palpação, com tamanho normal ou diminuído e hipoecogênicos ou isoecogênicos (Figura 6). Em casos avançados poderá haver áreas hiperecogênicas no parênquima testicular, correspondentes à presença de fibrose (ASSIS *et al.*, 2015). Em trabalho realizado comparando cães férteis e inférteis, a presença de testículos hiperecogênicos foi observada apenas em cães inférteis (DE SOUZA *et al.*, 2015). Em avaliação de ecogenicidade objetiva pela mensuração de pixels, testículos mais ecogênicos foram associados com menor número de espermatozoides normais (MOXON *et al.*, 2015).

Outras afecções, como as orquites, podem ter um diagnóstico desafiador, visto que as imagens observadas podem ser inespecíficas, especialmente no início da lesão. Quando houver acometimento em apenas um testículo, o testículo contralateral poderá ser utilizado como parâmetro de comparação. Em orquites agudas, a tendência é haver a presença de hidrocele, detectada pela presença de líquido dentro da bolsa testicular, próximo ao testículo, bem como heterogeneidade e diminuição da ecogenicidade, que poderá aumentar com a cronicidade do caso. Com o auxílio do Doppler colorido ou *Power Doppler* é possível visualizar um aumento do fluxo sanguíneo no parênquima testicular (BLAIVAS e BRANNAM, 2004).

Cães criptorquidas, usualmente, possuem o testículo da bolsa testicular com aspecto degenerado e flácido. Caso o testículo esteja na região inguinal poderá ser facilmente palpado, porém, localizá-los na cavidade abdominal pode ser laborioso, visto que seu aspecto assemelha-se a linfonodos sublobares (Figura 7). Recomenda-se iniciar o escaneamento pela região caudal aos rins e seguir com movimentos de leque até a região dorsal à bexiga.

Neoplasias testiculares incluem especialmente tumores de células de Sertoli, tumores de células intersticiais (Leydig) e seminomas. Ao momento do diagnóstico estes testículos poderão apresentar tamanho duas a três vezes quando comparados com testículos normais (Figura 8). O diagnóstico poderá ser realizado pela visualização do parênquima testicular com o modo B, caracterizadas por lesões focais hipoecogênicas e heterogêneas (BIGLIARDI *et al.*, 2019), com áreas de maior ecogenicidade na presença de orquites (BLAIVAS e BRANNAM, 2004). O uso do Doppler colorido pode auxiliar na diferenciação entre lesões inflamatórias ou degenerativas de neoplasias (BIGLIARDI *et al.*, 2019).

Em humanos a técnica Doppler é utilizada rotineiramente na avaliação da

hemodinâmica testicular devido à alta incidência de torções e varicoceles em crianças e adolescentes. Na medicina veterinária, embora descrita desde o início dos anos 2000 (GUNZEL-APEL *et al.*, 2001), apenas recentemente foi associada a outros parâmetros andrológicos, como a qualidade de sêmen (DE SOUZA *et al.*, 2015; TRAUTWEIN *et al.*, 2020; ZELLI *et al.*, 2013).

Com a ultrassonografia Doppler é possível avaliar o fluxo sanguíneo de vasos (Figura 9), nesse caso em especial a artéria testicular, responsável pela irrigação dos testículos. Dentre os parâmetros avaliados, destaca-se a velocidade de pico sistólico (PSV); a velocidade diastólica final (VDF); o índice de resistividade (IR) e o índice de pulsatilidade (IP) do vaso. Nas espécies domésticas esta técnica já foi descrita em cães (DE SOUZA *et al.*, 2015; TRAUTWEIN *et al.*, 2020), gatos (DE BRITO *et al.*, 2015), garanhões (POZOR e MCDONNELL, 2004), touros (GLORIA *et al.*, 2018), bodes (SAMIR *et al.*, 2015) e carneiros (NTEMKA *et al.*, 2018).

A artéria testicular descende da aorta, insere-se no anel inguinal em sentido aos testículos, associada ao plexo pampiniforme e cordão espermático. Em cães é possível realizar a avaliação do seu fluxo sanguíneo em cinco regiões distintas (Figura 10): a região suprategicular proximal (próxima ao anel inguinal); suprategicular média (entre o anel inguinal e o testículo); suprategicular distal (antes de adentrar o testículo, ainda no cordão espermático); marginal (após adentrar o testículo) e intrategicular (no parênquima testicular) (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

Devido à necessidade constante de fluxo sanguíneo a artéria testicular apresenta fluxo de resistividade intermediária a alta na região suprategicular proximal, a resistividade baixa, na região intrategicular. Isso é necessário para que possa haver a perfusão adequada do tecido testicular (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

Autores correlacionaram a características do fluxo sanguíneo da artéria testicular com a qualidade espermática em cães, porém, com resultados conflitantes e análise subjetiva de sêmen (DE SOUZA *et al.*, 2015; ZELLI *et al.*, 2013). Trautwein *et al.* (2020) correlacionou a VPS, o IR e o IP da região suprategicular proximal e o PSV da região suprategicular média com características de velocidade espermática avaliadas pelo sistema CASA, como a velocidade média de trajetória (VAP) e o índice de velocidade espermática (SVI), e concluíram que fluxos sanguíneos maiores nestas regiões podem influenciar a qualidade seminal de cães, como consequência de uma maior difusão capilar no parênquima testicular. Outros autores obtiveram correlação negativa entre a VDF da região suprategicular distal e lesões oxidativas no DNA espermático (LEMOS *et al.*, 2020).

Em gatos, os resultados obtidos foram semelhantes aos dos cães. na região suprategicular distal o PSV foi correlacionado com o VAP e o SVI, bem como o PSV da região marginal foi correlacionado com o VAP, a velocidade linear progressiva (VSL) e o SVI. Também houve correlação entre o IP e o IR da região marginal com a porcentagem de espermatozoides lentos e estáticos (TRAUTWEIN *et al.*, 2019).

Conclusão

A ultrassonografia testicular é uma ferramenta complementar importante ao exame andrológico de cães, gatos. Trabalhos recentes têm demonstrado a correlação entre a hemodinâmica vascular testicular e a qualidade seminal em cães e gatos, com perspectivas futuras de novas pesquisas em outras espécies.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos de doutorado.

Referências

- AMMAR, T.; SIDHU, P. S.; WILKINS, C. J. Male infertility: the role of imaging in diagnosis and management. <http://dx.doi.org/10.1259/bjr/31818161>, v. 85, n. SPEC. ISSUE 1, p. S59–S68, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1259/BJR/31818161>. Acesso em: 17 out. 2021.
- ASSIS, A. R.; GARCIA, D. A. A.; FELICIANO, M. A. R. Sistema Reprodutor Masculino. *In: Diagnóstico por Imagem em Cães e Gatos*. Ed 1 ed. São Paulo: MedVet, 2015. v. 1p. 369–409.
- BARSANTI, J. A.; FINCO, D. R. Canine Prostatic Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 16, n. 3, p. 587–599, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(86\)50063-2](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(86)50063-2). Acesso em: 17 out. 2021.
- BERGH, A.; COLLIN, O.; LISSBRANT, E. Effects of Acute Graded Reductions in Testicular Blood Flow on Testicular Morphology in the Adult Rat1. **Biology of Reproduction**, v. 64, n. 1, p. 13–20, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1095/biolreprod64.1.13>. Acesso em: 18 out. 2021.
- BIGLIARDI, E.; DENTI, L.; DE CESARIS, V.; BERTOCCHI, M.; DI IANNI, F.; PARMIGIANI, E.; BRESCIANI, C.; CANTONI, A. M. Colour Doppler ultrasound imaging of blood flows variations in neoplastic and non-neoplastic testicular lesions in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 54, n. 1, p. 63–71, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13310>. Acesso em: 20 out. 2021.
- BLAIVAS, M.; BRANNAM, L. Testicular ultrasound. **Emergency Medicine Clinics of North America**, v. 22, n. 3, p. 723–748, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.emc.2004.04.002>. Acesso em: 20 out. 2021.
- 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**, v. 61, n. 2–3, p. 511–528, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00231-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00231-0). Acesso em: 18 out. 2021.
- CARRILLO, J. D.; SOLER, M.; LUCAS, X.; AGUT, A. Colour and Pulsed Doppler Ultrasonographic Study of the Canine Testis. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 4, p. 655–659, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/J.1439-0531.2011.01937.X>. Acesso em: 17 out. 2021.
- CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultrasonografia. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 872–879, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300047>. Acesso em: 18 out. 2021.
- DE BRITO, M.; FELICIANO, M.; COUTINHO, L.; USCATEGUI, R.; SIMÕES, A.; MARONEZI, M.; DE ALMEIDA, V.; CRIVELARO, R.; GASSER, B.; PAVAN, L.; RUSSIANO, W. Doppler and Contrast-Enhanced Ultrasonography of Testicles in Adult Domestic Felines. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 50, n. 5, p. 730–734, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.12557>. Acesso em: 20 out. 2021.
- DE SOUZA, M. B.; ENGLAND, G. C. W.; MOTA FILHO, A. C.; ACKERMANN, C. L.;

SOUSA, C. V. S.; DE CARVALHO, G. G.; SILVA, H. V. R.; PINTO, J. N.; LINHARES, J. C. S.; OBA, E.; DA SILVA, L. D. M. Semen quality, testicular B-mode and Doppler ultrasound, and serum testosterone concentrations in dogs with established infertility. **Theriogenology**, v. 84, n. 5, p. 805–810, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2015.05.015>. Acesso em: 17 out. 2021.

ENGLAND, G. C. W. Relationship between ultrasonographic appearance, testicular size, spermatozoal output and testicular lesions in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 32, n. 6, p. 306–311, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/J.1748-5827.1991.TB00936.X>. Acesso em: 17 out. 2021.

GLORIA, A.; CARLUCCIO, A.; WEGHER, L.; ROBBE, D.; VALORZ, C.; CONTRI, A. Pulse wave Doppler ultrasound of testicular arteries and their relationship with semen characteristics in healthy bulls. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 9, n. 1, p. 14, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0229-6>. Acesso em: 20 out. 2021.

GUMBSCH, P.; HOLZMANN, A.; GABLER, C. Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. **Veterinary Record**, v. 151, n. 5, p. 140–144, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/VR.151.5.140>. Acesso em: 17 out. 2021.

AR GÜNZEL-APEL; C MÖHRKE; C POULSEN NAUTRUP. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. **Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene**, v. 36, n. 5, p. 236–240, 2001 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/J.1439-0531.2001.00288.X>. Acesso em: 20 out. 2021.

GÜNZEL-APEL, A.-R.; MÖHRKE, C.; NAUTRUP, C. P. Colour-coded and Pulsed Doppler Sonography of the Canine Testis, Epididymis and Prostate Gland: Physiological and Pathological Findings. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 36, n. 5, p. 236–240, 2001 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/J.1439-0531.2001.00288.X>. Acesso em: 17 out. 2021.

LEMOS, H.; DORADO, J.; HIDALGO, M.; GAIVÃO, I.; MARTINS-BESSA, A. Assessment of Dog Testis Perfusion by Colour and Pulsed-Doppler Ultrasonography and Correlation With Sperm Oxidative DNA Damage. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 41, p. 100452, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2020.100452>. Acesso em: 20 out. 2021.

MANTZIARAS, G.; ALONGE, S.; FAUSTINI, M.; LUVONI, G. C. Assessment of the age for a preventive ultrasonographic examination of the prostate in the dog. **Theriogenology**, v. 100, p. 114–119, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.06.010>. Acesso em: 18 out. 2021.

MOXON, R.; BRIGHT, L.; PRITCHARD, B.; BOWEN, I. M.; SOUZA, M. B. de; SILVA, L. D. M. da; ENGLAND, G. C. W. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality. **Animal Reproduction Science**, v. 160, p. 112–119, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.07.012>. Acesso em: 20 out. 2021.

NASHAN D; BEHRE HM; GRUNERT JH; NIESCHLAG E. Diagnostic value of scrotal sonography in infertile men: report on 658 cases. **Andrologia**, v. 22, n. 5, p. 387–395, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/J.1439-0272.1990.TB02013.X>. Acesso em: 17 out.

2021.

NTEMKA, A.; KIOSSIS, E.; BOSCO, C.; THEODORIDIS, A.; KOUROUSEKOS, G.; TSAKMAKIDIS, I. Effects of testicular hemodynamic and echogenicity changes on ram semen characteristics. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, p. 50–55, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13279>. Acesso em: 20 out. 2021.

POZOR, M. A.; MCDONNELL, S. M. Color Doppler ultrasound evaluation of testicular blood flow in stallions. **Theriogenology**, v. 61, n. 5, p. 799–810, 2004. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00227-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00227-9). Acesso em: 20 out. 2021.

SAMIR, H.; SASAKI, K.; AHMED, E.; KAREN, A.; NAGAOKA, K.; EL SAYED, M.; TAYA, K.; WATANABE, G. Effect of a single injection of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and human chorionic gonadotropin (hCG) on testicular blood flow measured by color doppler ultrasonography in male Shiba goats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 77, n. 5, p. 549–556, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms.14-0633>. Acesso em: 20 out. 2021.

SMITH, J. Canine prostatic disease: A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 375–383, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.039>. Acesso em: 17 out. 2021.

DE SOUZA, M. B.; DA SILVA, L. D. M.; MOXON, R.; RUSSO, M.; ENGLAND, G. C. W. Ultrasonography of the prostate gland and testes in dogs. **In Practice**, v. 39, n. 1, p. 21–32, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/INP.I6054>. Acesso em: 17 out. 2021.

TRAUTWEIN, L. G. C.; CARDOSO, G. S.; ALMEIDA, A. B. M.; HIDALGO, M. M. T.; HADDAD NETA, J.; PARANZINI, C. S.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Correlation between sperm kinetics and Doppler velocimetry of domestic feline testicular artery. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 54, n. 2, p. 84, 2019.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; CARDOSO, G. S.; FLAIBAN, K. K. M.; DEARO, A. C.; MARTINS, M. I. M. Correlation of testicular artery Doppler velocimetry with kinetics and morphologic characteristics of epididymal sperm in dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 55, n. 6, p. 720–725, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13672>. Acesso em: 20 out. 2021.

TRAUTWEIN, L. G. C.; SOUZA, A. K.; MARTINS, M. I. M. Can testicular artery Doppler velocimetry values change according to the measured region in dogs? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 54, n. 4, p. 687–695, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13410>. Acesso em: 20 out. 2021.

ZELLI, R.; TROISI, A.; ELAD NGONPUT, A.; CARDINALI, L.; POLISCA, A. Evaluation of testicular artery blood flow by Doppler ultrasonography as a predictor of spermatogenesis in the dog. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n. 2, p. 632–637, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.04.023>. Acesso em: 20 out. 2021.

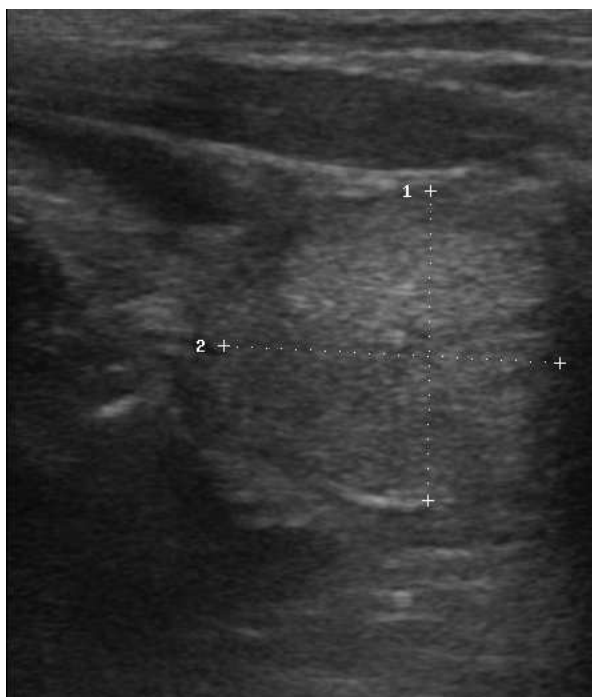
Figuras

Figura 1. Ultrassonografia da próstata canina em corte longitudinal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

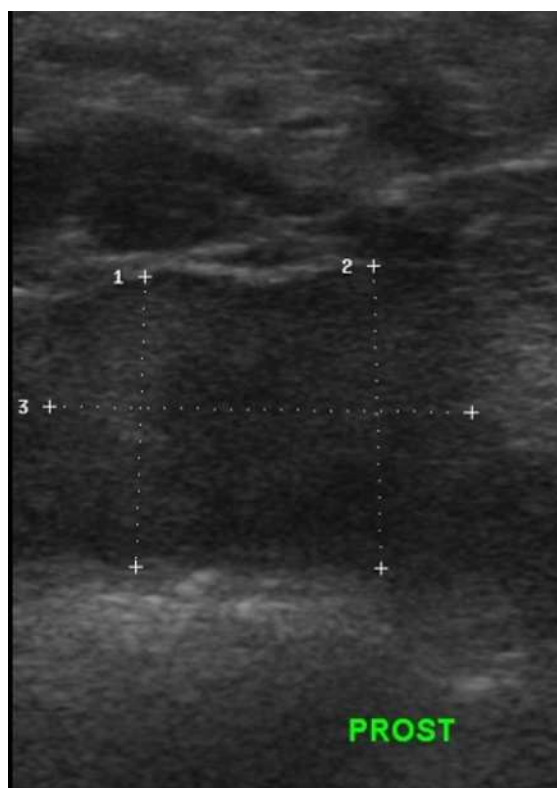


Figura 2. Ultrassonografia da próstata canina em corte transversal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

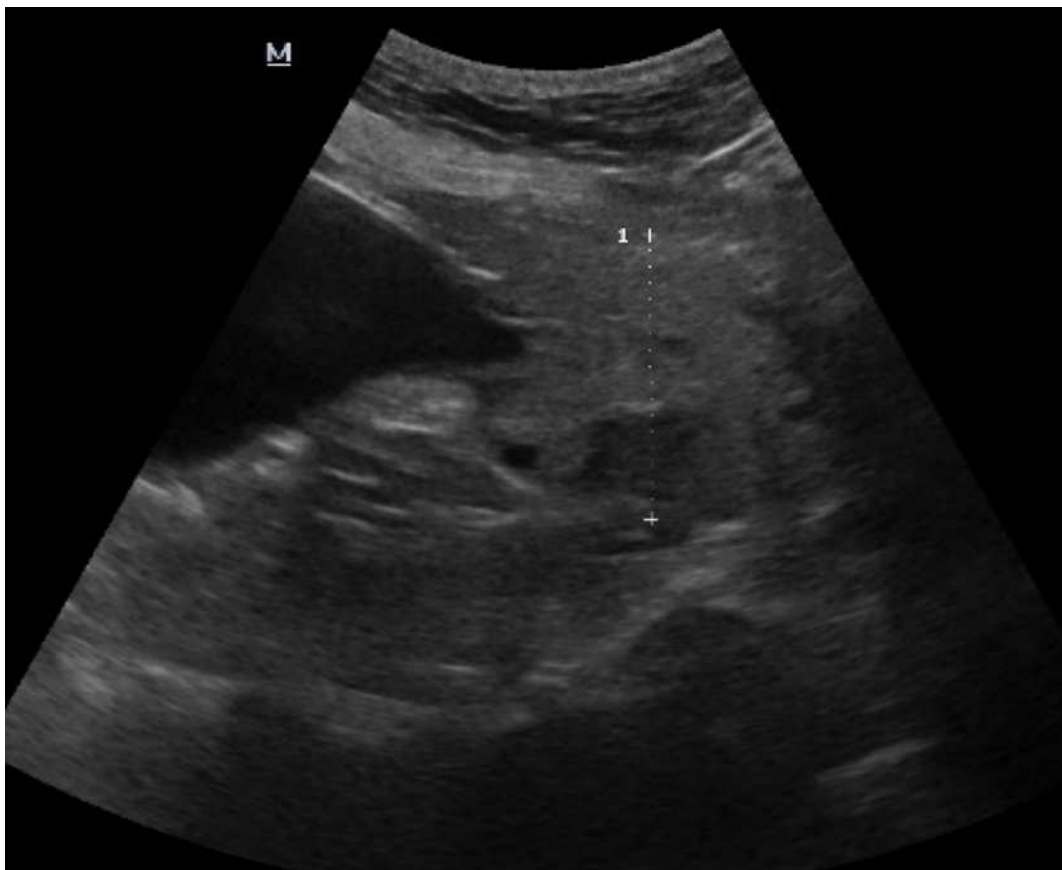


Figura 3. Próstata canina heterogênea e irregular, com abscesso (área hipocogênica) em região dorsal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

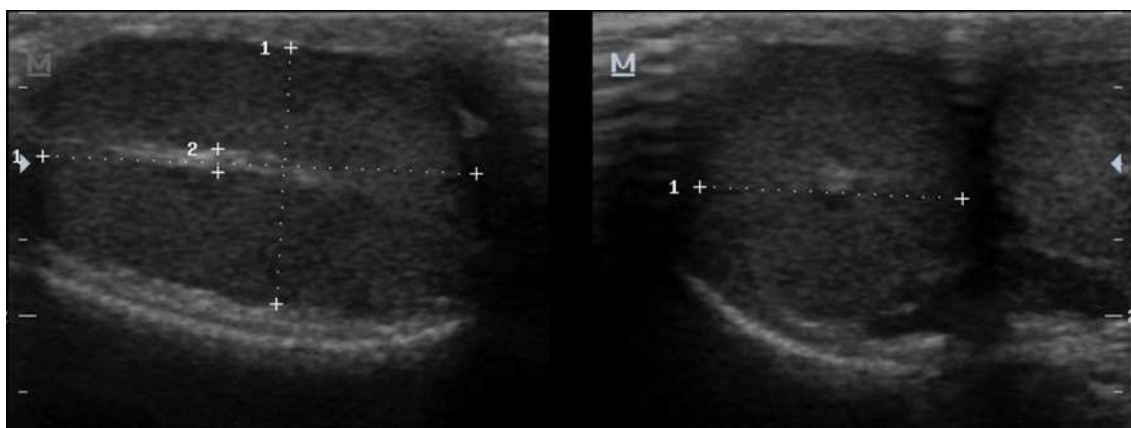


Figura 4. Ultrassonografia testicular de cão em modo B, cortes longitudinal e transversal, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

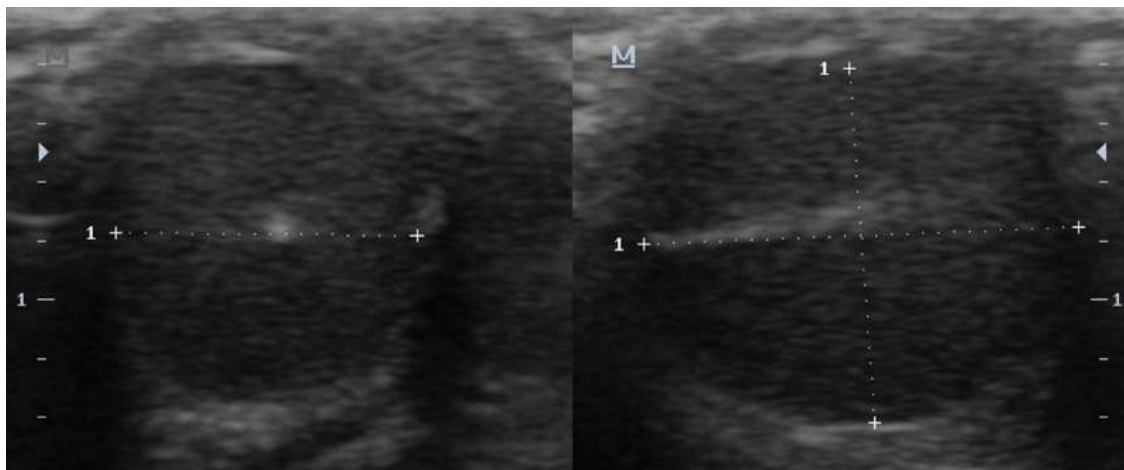


Figura 5. Ultrassonografia testicular de gato em modo B, cortes longitudinais e transversais, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

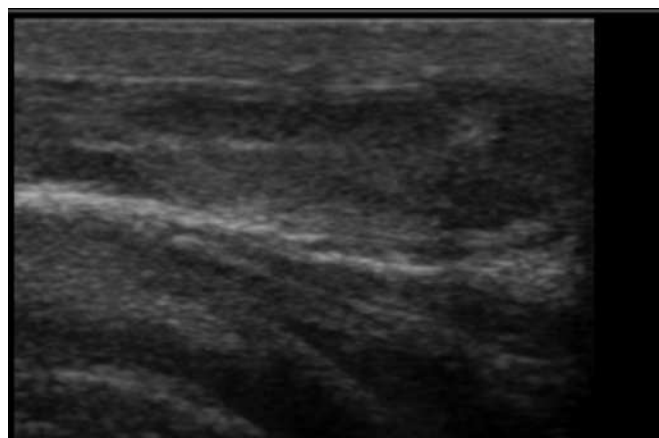


Figura 6. Degeneração testicular severa em cão, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).



Figura 7. Testículo de cão em cavidade abdominal, dorsal à bexiga, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

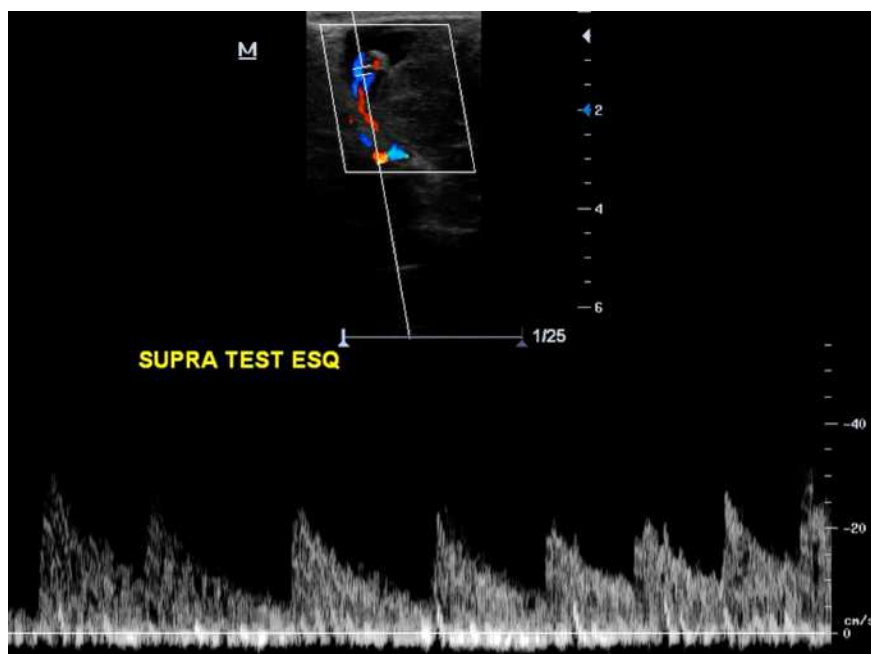


Figura 8. Testículo de cão acometido por neoplasia, dentro da cavidade abdominal. Perceba o alto fluxo sanguíneo através da artéria testicular, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

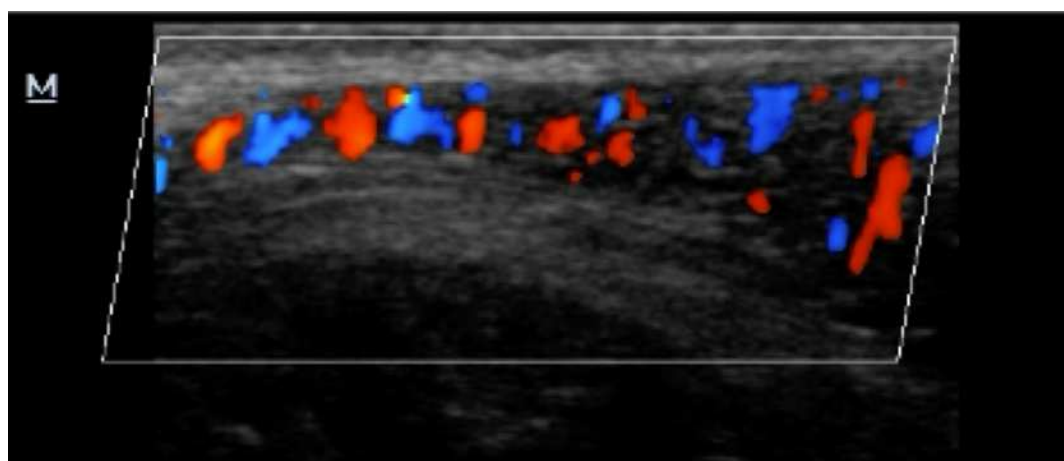


Figura 9. Avaliação em Doppler colorido do cordão espermático de um cão, probe linear de 7 MHz (DC7 Mindray).

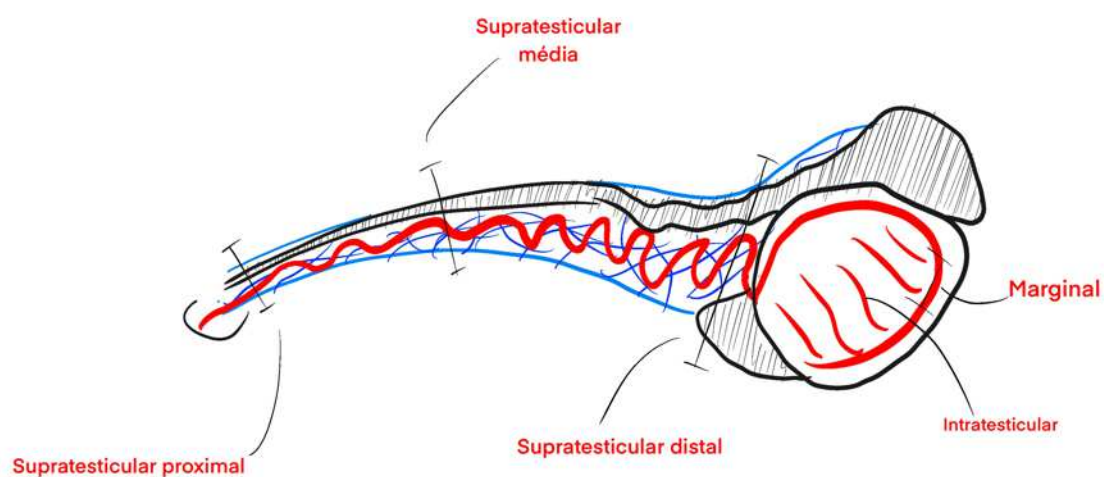


Figura 10. Esquema didático das regiões da artéria testicular de cães.

6 CONCLUSÃO GERAL

Gatos sedados apresentaram maior velocidade de fluxo sanguíneo nas regiões supratesticular distal e marginal da artéria testicular devido à ação vasoconstritora da dexmedetomidina associada à cetamina. Houve correlação entre variáveis Doppler velocimétricas e a cinética espermática de espermatozoides epididimários em gatos.

Foi possível classificar diferentes graus de degeneração testicular em felinos, todavia não houve diferença entre os graus de degeneração testicular, a extensão da lesão parenquimatosa e a cinética espermática, bem como com a Dopplervelocimetria da artéria testicular. Lesões focais ou multifocais, bem como degenerações leves a moderadas, não foram suficientes para causar alterações na qualidade espermática ou no fluxo sanguíneo testicular.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quando criança eu sempre gostei muito de ensinar outras pessoas sobre as coisas que eu gostava de aprender a fazer. Desde os meus amiguinhos com as tarefas de biologia na escola, até familiares com assuntos relacionados à informática e manutenção de computadores. Por isso, sempre pensei que gostaria de, algum dia, ser professor de algo. Mas aí também havia um empecilho: como me tornar um professor, se eu queria ser veterinário? Durante a graduação me veio o *insight*. Sim, eu poderia ser professor, mas desta vez ensinando a minha futura profissão, como professor universitário.

É inegável o impacto que todo estudante de veterinária do primeiro ano tem durante a primeira aula da graduação, com o encontro com o primeiro professor da faculdade. Lembro até hoje o sentimento misto de medo, expectativa e admiração que tive ao ver o Professor Juliani, de histologia, contando sobre como ele era amigo do Professor Junqueira (ou seria o Professor Carneiro?), na USP. O mesmo professor que havia escrito o livro que iríamos utilizar durante toda a disciplina.

Foi a partir desse momento que eu estabeleci uma meta pessoal – seguir a trilha necessária para me tornar um professor universitário de medicina veterinária. Aos poucos fui desvendando essa trilha, colocando como meta a conquista de uma iniciação científica que, por consequência, seria importantíssima para a entrada em uma residência, culminando em um mestrado e, por fim, no tão aguardado – e temido – doutorado, para que eu pudesse, enfim, ser professor daquilo que eu gostava.

A primeira meta foi conquistada, por incrível que pareça, por um e-mail. Durante o terceiro ano de graduação eu ainda estava um pouco perdido, mas sabia que a iniciação científica era importante para a trilha que eu havia criado, por

isso decidi enviar um e-mail à Professora Maria Isabel solicitando a oportunidade de realizar um projeto de IC com ela. Felizmente ela me aceitou como orientado e aí foi o início de uma grande parceria e amizade, que já dura dez anos.

Desde então foram duas iniciações científicas, uma residência, uma pós-graduação *lato sensu*, um mestrado e, por fim, o doutorado que deu origem a esta tese. Esta trajetória teve seus altos e baixos e não foi fácil. Na verdade, nada que faça com que você saia da zona de conforto é fácil e, seguir a carreira acadêmica, sempre fará você sair da zona de conforto. Por isso, todo esse processo contribuiu exponencialmente para o meu crescimento. Crescimento também profissional, é claro, mas especialmente pessoal.

Antes mesmo da graduação eu aprendi que a força de vontade é um combustível e tanto, mesmo que você tenha largado lá atrás na corrida das oportunidades da vida. Meus pais não tinham dinheiro para que eu pudesse realizar cursinho e eu havia desistido durante o terceiro ano do ensino médio de prestar vestibular naquele ano. Pensava em terminar o colégio e, no ano seguinte, começar a trabalhar para pagar um cursinho e aí sim estudar para valer. Isso tudo até encontrar um cartaz no ônibus que falava sobre o Cursinho Gratuito Pré-Vestibular Em Ação, promovido por uma ONG de professores voluntários alunos da Federal, para estudantes que não tinham condições financeiras. Para entrar eram cerca de 200 vagas para uns 3 mil candidatos. Fiz o teste e consegui a vaga.

No Em Ação eu descobri que a gente gosta muito de arranjar desculpas para ficar na zona de conforto. Eu mesmo, acordava às 5h20 para pegar 2 ônibus até o centro de Curitiba, entrar no colégio às 7h10, sair às 12h30 e ir andando até o Tribunal de Justiça, onde consegui um estágio. Ficava até próximo das 17h30, quando voltava ao colégio, pois era do time de basquete e tínhamos treinos todos os

dias das 19h30 às 21h30. Chegava em casa próximo das 23h e no outro dia iniciava tudo novamente. Aos finais de semana aconteciam as aulas do Em Ação, sábados, domingos e feriados, das 8h às 20h, para compensar a carga horária dos cursinhos particulares.

Pode parecer que eu fazia bastante coisa, mas foi no Em Ação que eu aprendi o que era dedicação. Não minha, mas dos meus colegas de turma, essas pessoas eram imbatíveis. Como era um cursinho para quem não tinha dinheiro, meus colegas de turma eram, em sua maioria, pais e mães de família que tinham filhos, esposas e maridos para cuidar, trabalhavam três turnos para conseguir sustentar a casa e ainda viam uma esperança de conseguir vaga na universidade pública com o Em Ação, e agarravam essa oportunidade com sangue nos olhos. Estudando todos os finais de semana. Sábados, domingos e feriados eles estavam lá, sempre, das 08h às 20h. Incansáveis e invencíveis. Levo os ensinamentos de lá para minha vida até hoje. Não é à toa que 80% dos alunos do cursinho conseguiam vaga em alguma universidade pública, a maior taxa de aprovação de Curitiba. Foi no Em Ação também que a minha vontade de dar aulas aflorou ainda mais. Um dos meus objetivos de vida ainda é dar aulas em um cursinho comunitário e poder retribuir um pouco a oportunidade que eu tive à sociedade.

Embora o cursinho tenha me ensinado o que é persistência, na residência eu aprendi a importância da homeostase e do equilíbrio em nossa vida. Aprendi que, embora muitas vezes a gente se sinta imbatível, nós não somos máquinas e também precisamos de um *break*. Foi em um episódio de *burnout* que eu quase coloquei toda a trajetória que eu havia almejado a perder.

Durante o mestrado veio outra lição importantíssima, que repercute até hoje em minha vida: além de não sermos imbatíveis, é preciso cuidar da nossa

saúde física e, especialmente, da nossa saúde mental. Neste período eu desenvolvi depressão severa, sendo necessária a intervenção psicológica e psiquiátrica, na época, pouco tempo antes da minha defesa.

A depressão é uma das piores doenças que existem. Quando ela chega você não percebe. A arrogância não me deixou perceber, à época. Até que você vai se entorpecendo, como um marinheiro ouvindo o canto da sereia. Quando vê, já é tarde demais. No meu caso, eu não tinha vontade de fazer nada. Não queria sair, não queria comer, não tinha vontade de trabalhar, não queria levantar da cama, não queria viver. Nada, simplesmente nada.

Felizmente, com auxílio dos amigos, consegui vencer esse quadro. O grande problema é que a depressão acaba se tornando uma doença crônica. O primeiro tratamento medicamentoso, por exemplo, é de seis meses. Se você tiver uma recidiva, aumenta para dois anos. Em nova recidiva, o tratamento será contínuo até o final da vida.

Uma das lições que aprendi durante o doutorado foi que, embora seja uma característica físico-química em nosso cérebro, é possível administrá-la de certa maneira e conviver com ela, sem neura. Embora pareça que a sociedade exija isso da gente, nós podemos não estar bem cem por cento do tempo. E está tudo bem. Hoje eu sei que ela caminha comigo, mas felizmente tenho aprendido todos os dias a controlá-la, lidando com isso da melhor forma possível. Dois fatores que têm contribuído imensamente nesse sentido se chamam Gif e Jpeg, duas gatinhas que eu adotei no início de 2021. Depois da adoção delas todo esse processo em minha vida se tornou muito mais suave. Acho que é o peso de chegar em casa e poder falar que não é simplesmente uma casa, mas agora o sentimento é de ser realmente um lar.

Estes quatro anos de doutorado foram de inúmeros aprendizados,

como esse. Conforme vamos criando experiências, vamos nos conhecendo cada vez mais, e confesso que estou gostando dessa nova jornada de autoconhecimento.

Nesse meio tempo, como parte desta jornada, fiz uma coisa que eu sempre tive muita vontade de fazer – escrever e publicar um livro. Foi aí que surgiu o “Manual do Calouro de Medicina Veterinária”, uma obra em que eu explico os percalços da profissão a futuros estudantes de medicina veterinária e dou dicas para a graduação baseadas em experiências pessoais.

Como nenhuma editora me respondeu, resolvi *arregaçar as mangas* e fiz tudo de maneira independente, desde a publicação até as vendas. Consegui até um ISBN como autor! Comecei imprimindo 40 cópias, depois 80, depois 250, depois 500. Li uma matéria uma vez em que dizia que para um livro ser considerado *best seller* no Brasil é necessário a venda de cinco mil cópias. Com o Manual já se foram mais de dois mil exemplares físicos e digitais. Desde o lançamento ele nunca saiu do top 5 livros de medicina veterinária da Amazon. Isso me deixa com um orgulho imenso.

Além disso criei uma palestra chamada “Medicina veterinária: se está fácil, você está fazendo errado”. Com o alcance do livro e das páginas Vet da Deprê nas redes sociais tive a oportunidade de conversar com estudantes de mais de 50 faculdades diferentes, em todo o Brasil, chegando a fazer quatro palestras na mesma semana, em cidades diferentes. Uma das melhores coisas que a vida acadêmica nos proporciona é poder trocar energias com os mais novos. Mesmo as viagens sendo bastante cansativas (cheguei até bater o carro cochilando em uma delas), sentir os anseios e expectativas das novas gerações, e poder contribuir com elas, é renovador.

Outro aspecto que o doutorado me ensinou – e continua ensinando – é a busca incessante por disciplina. Justamente por ser incrivelmente *indisciplinado*. Nestes quatro anos eu aprendi, a duras custas, a importância de fazer as coisas não

porque a gente quer, mas porque simplesmente elas precisam ser feitas. E o sucesso está aí.

Um exemplo é o meu próprio experimento de doutorado. A princípio, eu havia o finalizado no início de 2019. Por *indisciplina*, finalizei a análise inicial dos dados apenas no final de 2020, na qual percebi uma divergência nos dados que culminaria em uma segunda etapa experimental, que seria realizada apenas em 2021. Felizmente conseguimos finalizá-la, mas no soar do gongo. O que não teria necessidade, caso tivesse tido a disciplina de finalizar no prazo estipulado inicialmente. A repetição, com correção, leva à perfeição.

Por fim, além da finalização desta etapa do doutorado, estou incrivelmente entusiasmado com o surgimento de uma nova, que era o objetivo no início de tudo: a de me tornar professor.

Tive a oportunidade de passar em um teste seletivo para professor temporário na UEL, o que me deixa muito feliz. Minha primeira oportunidade, na minha própria casa! Em 2009 eu entrei nesta universidade como aluno, agora terei a chance de ensinar estes mesmos alunos com a experiência que adquiri em toda esta jornada de uma década.

Let's go!