

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE REPRODUTIVA DE CAPRINOS TRATADOS COM TESTOSTERONA BIOIDÊNTICA POR VIA TRANSDÉRMICA

(Libido evaluation, serum testosterone and sperm quality goats treated with bioidentical testosterone transdermally)

Talita Soares Câmara^{1*}, Ana Gláudia Vasconcelos Catunda², José Ferreira Nune¹, Cristiane Clemente de Mello Salgueiro³, Mauricio Francisco Vieira Neto¹, Maria Gorete Flores Salles⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - PPGCV/UECE, Av. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza-Ce, CEP: 60.740-000; ²Instituto Federal do Ceará - IFCE, Jaguaribe-CE; ³Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Fortaleza-CE; ⁴Instituto de Desenvolvimento Rural da IDR/UNILAB, Redenção-CE.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica, por via transdérmica escrotal em caprinos, sobre o comportamento sexual, a produção quantitativa dos espermatozoides e, as concentrações de testosterona, FSH (Hormônio Foliculo Estimulante) e LH (Hormônio Luteinizante), para o tratamento de reprodutores temporariamente inaptos à reprodução, uma vez que não existem dados na literatura referentes à associação do hormônio bioidêntico com a via de aplicação transdérmica em caprinos. Foram utilizados quatro machos caprinos (Saanen=03 e Anglo Nubiano=01), apresentando baixa libido e qualidade seminal insatisfatória, comprovados por andrológico. Semanalmente, ao longo de dois meses, foram realizadas colheitas e avaliação do sêmen; mensuração da circunferência escrotal (CE); aplicação da testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal e colheita de sangue, para determinar concentração sérica de testosterona, FSH e LH; além da verificação do comportamento sexual através do teste de libido. Para efeito de análise dos dados utilizou-se o programa estatístico SAS v.8 (2000). As concentrações séricas de testosterona apresentaram diferença significativa em função do período de tratamento, entretanto, não foi observada diferença significativa para os valores de FSH e LH. Na análise, do sêmen fresco, e resfriado, os parâmetros seminais avaliados não foram influenciados significativamente ao longo do período experimental. Conclui-se que o método de aplicação da testosterona bioidêntica por via transdérmica em caprinos, foi eficaz, considerando-se que tomou mais explícita a exibição da libido dos animais tratados, embora apesar do aumento dos níveis séricos de testosterona, não houve nenhuma interferência na qualidade seminal.

Palavras-chave: bode, hormônio exógeno, tempo de monta.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of testosterone bioidentical by transdermal route of application in goat scrotal, sexual behavior, quantitative and qualitative production of sperm, testosterone concentrations, FSH (Follicle Stimulating Hormone) and LH (Luteinizing Hormone) for the treatment of reproductive temporarily

Endereço para correspondência:
talitavet2003@gmail.com

unable to play, since there is no data in the literature concerning association with hormone bioidéntico transdermal route of application in goats. We used four male goats (Saanen=03 and Anglo Nubian=01), with low libido and poor sperm quality, proven by andrological exam. Every week, over two months, it were taken and evaluated sperm samples the scrotal circumference (SC) was measure the bioidentical testosterone was applied in the scrotal by transdermal route; blood samples were collected to determine serum testosterone, FSH and LH; beyond sexual behavior verification by testing libido. For purposes of data analysis used the statistical program SAS v.8 (2000). Serum testosterone showed significant differences depending on the treatment period, however, no significant difference was observed for FSH and LH between the different treatment periods. At the fresh and cooled sperm, the seminal parameters evaluated were not affected significantly throughout the experimental period. It can be concluded that the transdermal bioidentical testosterone application method in goats was effective, considering that it made the libido of treated animals more explicit, although despite the increase in serum testosterone levels, there was no interference in the seminal quality.

Key words: goat, exogenous hormone, time mounts

INTRODUÇÃO

A criação de caprinos vem sendo estimulada entre os produtores rurais da região Nordeste do Brasil, detentora de 90% do rebanho nacional (IBGE, 2013), pelo fato desses animais apresentarem características favoráveis sobre outras espécies domésticas de produção, entre elas a melhor tolerância térmica e desempenho em ambientes adversos (MENEZES *et al.*, 2016) Entretanto, de modo geral, os rebanhos caprinos criados extensivamente, apresentam baixo desempenho reprodutivo, justificado pelas baixas taxas de fertilidade, oriundas de variações da libido e produção quantitativa do sêmen (NUNES, 1982), influenciados diretamente pela testosterona. Estas variações acontecem em

decorrência da associação de vários fatores como a raça, local da exploração, alimentação, variações climáticas e comportamentais dos animais do rebanho (BARKAWI *et al.*, 2006).

Sendo assim, a testosterona é essencial às funções reprodutivas dos machos, estimulando a espermatogênese, prolongando a vida epididimária dos espermatozoides, mantendo as características sexuais secundárias, além de atuar no comportamento sexual ou na libido, e no número de serviços do macho (TODINI *et al.*, 2007), de modo que animais com baixa testosteronemia apresentarão conseqüentemente, pouca expressão da libido (BEARDEN e FURQUAY, 1997).

A adoção de terapias de reposição hormonal tem sido recomendada para

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

Neste sentido, a indústria farmacêutica vem realizando pesquisas com o intuito de possibilitar condutas terapêuticas eficientes, com resultados clínicos rápidos e seguros. Assim, a eficácia terapêutica dos medicamentos de liberação transdérmica tem chamado a atenção por apresentar vantagens em relação ao uso de outras vias de aplicação, uma vez que é de fácil uso, difundindo o hormônio em sua forma íntegra pela pele, evitando o metabolismo de primeira passagem hepática e mimetizando o ritmo circadiano da secreção de testosterona (HADGRAFT e LANE, 2015).

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

Apesar da reposição hormonal ser uma realidade em humanos, poucos

trabalhos são encontrados para uso veterinário, particularmente utilizando hormônios bioidênticos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica escrotal em caprinos na libido, na produção quanti-qualitativa dos espermatozoides e nas concentrações séricas de testosterona, FSH e LH para o tratamento de reprodutores temporariamente inaptos a reprodução.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética (CEUA) para o uso de animais da Universidade Estadual do Ceará – UECE com a seguinte numeração 12237587 4.

O experimento foi realizado em três etapas, no período de julho a setembro de 2012, no município de Pacatuba – CE (3°53'49,9''S e 38°34'32,5''W, temperatura média 27°C, clima tropical quente e úmido, índice pluviométrico de 1479mm, dados de 2013) onde foram realizadas; as colheitas de sêmen e sangue, a avaliação da libido e a mensuração da circunferência escrotal (CE). No Núcleo Integrado de Biotecnologia – NIB/ UECE, procedeu-se a avaliação quali-quantitativa do sêmen através do software SCA® (Sperm-Class Analyzer, Microptic S.L., versão 3.2.0). No Laboratório de Ciências

da Saúde da Universidade Federal da Bahia – UFB, foram determinadas as dosagens hormonais de testosterona, FSH e LH. Foram utilizados quatro caprinos (Saanen = 03 e Anglo nubiano = 01), com idade média de 4,5 anos, com escore corporal 3,5, criados em sistema de confinamento, alimentados com concentrado [22% proteína bruta (PB) + 3% de bicarbonato de sódio- baseado no NCRJ], forragem verde com 70% de capim elefante (*Penisetum purpureum Schum*) + 30% de leucena (*Leucaena leucocephala*). A mineralização foi incorporada a ração e água foi fornecida ad libitum.

Os animais apresentavam problemas de qualidade seminal, cujos valores de sêmen fresco encontravam-se abaixo do recomendado pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal – CBRA (2013), libido classificada como ruim (SILVA *et al.*, 2006), além de baixos níveis de testosterona (3,7ng/mL), entretanto, obtinham histórico prévio de bom desempenho reprodutivo.

O sêmen foi colhido semanalmente de quatro animais, sendo dois com uso de vagina artificial - Valmur® (VA) e dois com eletroejaculador - Duboi® (animais não condicionados ao uso da VA), perfazendo nove colheitas por animal, totalizando 36 ejaculados. Posteriormente, cada ejaculado foi avaliado quanto ao volume (mL),

concentração (em câmara Neubauer), motilidade massal (0-5), motilidade total (0-100%) e motilidade progressiva (0-100) (CBRA, 2013).

Uma vez por semana, a circunferência escrotal (CE) dos animais era mensurada com fita métrica metálica (Tortuga®), posteriormente realizava-se a avaliação da libido, com o auxílio de uma fêmea em estro, cronometrando o tempo de monta (TM), definido como o tempo de reação em segundos do cortejo até a cópula, sendo classificado como: bom (tempo entre 0 a 59 segundos), regular (entre 60 e 120 segundos) e ruim (superior a 120 segundos) (SILVA *et al.*, 2006).

A aplicação da testosterona bioidêntica, na região escrotal (Evidence – Farmácia com manipulação, Fortaleza - CE), foi realizada diariamente, no período da manhã, durante 60 dias, afim de cobrir o ciclo espermatogênico da espécie caprina (BEARDEN e FUQUAY, 1997).

Primeiramente, foi realizada a limpeza e a tricotomia da bolsa escrotal de todos os reprodutores, feita a secagem da região com papel toalha para em seguida ser aplicada manualmente com uso de luvas a testosterona bioidêntica, massageando a pele levemente até absorção total do produto. A apresentação do hormônio manipulado foi na forma de creme em bisnagas de 30g na seguinte composição, 10% de testosterona, 1% de Lipo 2, 1% de

Trehalose e 30g de biolípido de ultra absorção.

As colheitas de sangue foram realizadas antes do início das aplicações de testosterona bioidêntica (P0), para o controle, e após o início da aplicação hormonal foram semanalmente, para acompanhar as concentrações séricas de testosterona, FSH e LH. As amostras foram colhidas por venopunção da jugular, em tubos vacutainers de 10 mL, sem anticoagulante, em seguida centrifugadas a 600G/15 min. Para obtenção do soro, que foi congelado a -20 °C até a análise. As concentrações séricas de testosterona, FSH e LH, foram quantificadas pelo método de quimioluminescência, utilizando um sistema automatizado Abbott Architect i 2000sr (Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA), com kits ARCHITECT FSH, LH e Testosterona Reagentes.

Para a refrigeração do sêmen foi utilizado o diluente específico para sêmen caprino à base de água de coco em pó ACP-101® (ACP Biotecnologia, Fortaleza-CE), conforme recomendação do fabricante, acrescido de 2,5% de gema de ovo e 50 mg/100 mL de antibiótico (gentamicina, GENTATEC® - Agro Veterinária). O sêmen foi submetido à refrigeração 4 °C por aproximadamente 90 minutos (-0,35 °C/min) e conservado por até 24h. Amostras de 100 µL foram

analisadas nos tempos 0, 12 e 24 horas de conservação, utilizando o software SCA® para os seguintes parâmetros: motilidade total (MOT%), motilidade progressiva (PROG%), velocidade curvilínea (VCL, µm/s), velocidade linear (VSL, µm/s), velocidade média do percurso (VAP, µm/s), linearidade (LIN, %) e retilinearidade (STR, %).

Para a análise estatística dos dados, as colheitas semanais foram agrupadas em três coletas consecutivas [P1: 1ª a 3ª semana (julho); P2: 4ª a 6ª semana (julho-agosto); e P3: 7ª a 9ª semana (agosto-setembro)]. Os níveis hormonais, bem como os parâmetros PROG, VCL, LIN, STR foram normalizados por transformações radiciais, enquanto os parâmetros MOT, VSL, VAP sofreram transformações para arco seno. Para os dados que não atingiram a normalidade, fez-se uso do teste de Kruskal Wallis. Foi utilizada ANOVA pelo procedimento GLM do programa estatístico SAS (versão 8.0) para testar o efeito dos períodos sobre a CE, TM e concentrações séricas de testosterona, FSH e LH e em seguida comparadas pelo teste T de Student a 5% de significância, bem como para avaliar o efeito de método de coleta, período de colheita e tempo de conservação que foram comparadas pelo PDIFF a 5% de significância.

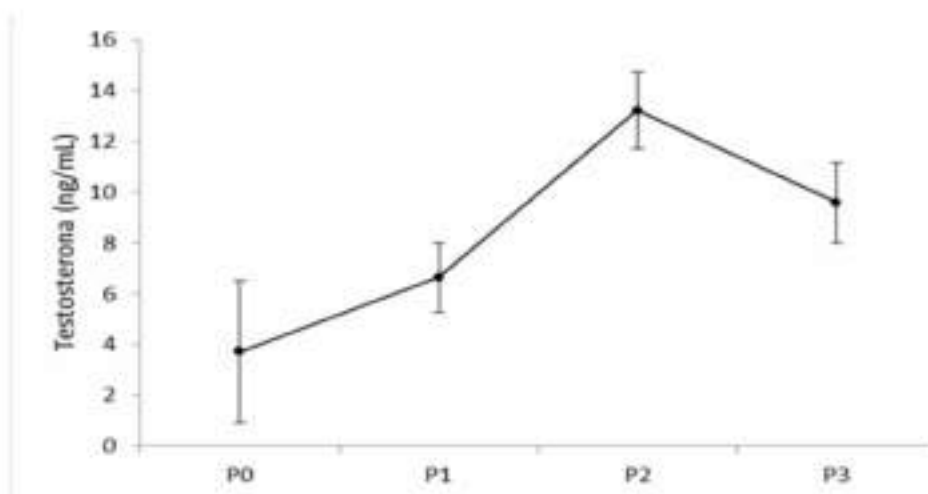


Figura 1: Níveis séricos de testosterona em caprinos ao longo do período de tratamento (P0, P1, P2 e P3). Letras diferentes entre períodos diferem significativamente ($p < 0,05$).

O PDIF é uma opção de ajuste para comparação de médias, que auxilia a confiabilidade dos testes, quando se trata de médias ajustada, sendo adequados a dados amostrais desbalanceados em análise de variância por GLM. Com o PDIF, as diferenças são controladas, e a estatística do teste utilizado fica mais correta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações séricas de testosterona dos animais no período do tratamento (P0, P1, P2 e P3) são demonstrados na Fig. 1. Esses valores variaram em função do período de tratamento podendo-se observar um aumento destas concentrações, constatadas desde P0 até o período P2, com queda significativa da testosteronemia no P3 ($p < 0,05$).

Neste estudo, a concentração sérica de testosterona em P0 foi de $3,71 \pm 2,78$ ng/mL, compatível com a testosteronemia de caprinos em estação não reprodutiva, similar aos achados de vários pesquisadores com valores de, 2,29-2,32 ng/mL (POLAT *et al.*, 2001), 1,55-2,04 ng/mL (TODINI *et al.*, 2007), e 2,5-3,0 ng/mL (TALEBI *et al.*, 2009) (2,5-3,0 ng/mL), indicando que neste estudo, os animais experimentais apresentavam baixa testosteronemia. Entretanto, logo após o início da aplicação de testosterona bioidêntica, as concentrações séricas deste hormônio aumentaram, atingindo máximo em P2 ($13,22 \pm 1,51$ ng/mL), demonstrando a eficiência de absorção do hormônio por via transdérmica escrotal. Além disso, as concentrações séricas de testosterona encontrados em P1 ($6,64 \pm 1,36$ ng/mL), P2 ($13,22 \pm 1,51$ ng/mL) e P3

(9,59±1,59ng/mL) são compatíveis aos encontrados em caprinos nas estações reprodutivas por Polat *et al.* (2001) (4,60-8,86ng/mL); Todini *et al.* (2007) (6,81-8,33±0,35ng/mL) e Talebi *et al.* (2009) (8,1-10,1ng/mL), mostrando que a aplicação de testosterona bioidêntica elevou as concentrações séricas de testosterona para valores compatíveis para machos em condições reprodutivas.

O FSH age nas células de Sertoli, produzindo as proteínas ligadoras de andrógeno (Androgen Bind Protein – ABP), para carrear aos túbulos seminíferos, a testosterona produzida pelas células de Leydig, sob ação do LH. A testosterona, quando em altas concentrações, atua na regulação dos hormônios hipotalâmicos (GnRH) e gonadotróficos por feedback negativo, inibindo a liberação de FSH e LH. Neste estudo, não foram observadas diferenças entre os períodos de tratamento para FSH e LH, apresentando, valores médios de, 0,15±0,06 e 0,05±0,03 mUI/mL ($p>0,05$), respectivamente.

Estes valores foram inferiores aos observados por Barkawi *et al.* (2006), onde o FSH e LH, variaram entre 0,4 a 2,9 mUI/mL apresentando médias de 1,3±0,09 e 1,5±0,11, respectivamente, o que pode ser um indicativo de que esse aumento registrado nas concentrações de testosterona não se refletiu sobre o eixo

hipotalâmico hipofisário gonadal e/ou devido à diferença na técnica usada para determinação hormonal (ROJANASAKUL *et al.*, 1994). É possível que a testosteronemia observada estimule a espermiogênese no testículo, inibindo a liberação de GnRH, FSH e LH e elevando os níveis de testosterona (BEARDEN e FUQUAY, 1997).

Na avaliação do sêmen fresco, os parâmetros circunferência escrotal (CE), tempo de monta (TM), volume, motilidade massal (MM), motilidade total (MT), motilidade progressiva (PROG), vigor e concentração espermática não apresentaram diferenças no decorrer do período de tratamento (Tab. 1; $p>0,05$), demonstrando que embora a aplicação tenha sido eficaz, ou seja, ter havido absorção do produto e aumento das concentrações séricas de testosterona do P0 ao P2, esse efeito não foi suficiente para melhorar as características seminais, seja devido a concentração utilizada no produto ou o período de aplicação do mesmo, corroborando com Makae *et al.* (2012), que não encontraram diferenças significativas para os parâmetros seminais em caprinos Boer tratados com testosterona intramuscular (IM), embora estivessem dentro dos padrões normais considerados para a espécie, durante período experimental. Outros estudos relatam que além da aplicação de testosterona poderia

ter sido feita uma suplementação com zinco, uma vez que este atua nas mitocôndrias presentes na cauda

espermática, responsável pela energia da célula, conseqüentemente, agindo sobre a motilidade (KUMAR *et al.*, 2013).

Tabela 1: Média e erro padrão da CE, TM, volume, MM, MT, MP, vigor e concentração espermática, em função do efeito do período de tratamento, em caprinos tratados com testosterona bioidêntica por via transdérmica.

	CE (cm)	TM (s)	VOL (mL)	MM (%)	MT (%)	MP (%)	CONC (sptz/mL)
P1	30,2±0,4	71,4±14,6	0,8±0,1	2,2±0,9	60,0±17,6	54,1±16,8	3,8±1,1
P2	30,4±0,7	69,4±16,8	1,3±0,2	1,7±0,7	68,3±8,3	70,0±8,1	1,9±0,6
P3	30,7±0,9	76,7±17,1	1,5±0,3	1,4±0,5	48,1±12,1	54,2±14,4	1,1±0,3

Médias comparadas pelo teste PDIFF (p<0,05). CE- circunferência escrotal, TM- tempo de monta, Vol- volume, MM – motilidade massal, MT – motilidade total, MP – motilidade progressiva, CONC – concentração espermática.

No que se refere a motilidade massal (MM), motilidade total (MOT), motilidade progressiva (PROG) e vigor, os valores encontrados ficaram abaixo do recomendado pelo CBRA (2013) e outros estudos (MIES FILHO, 1987; NUNES *et al.*, 1997; HAFEZ e HAFEZ, 2004). Estes parâmetros não apresentaram valores significativos entre os períodos do tratamento, demonstrando que a aplicação do hormônio não alterou a qualidade seminal.

A CE obtida no período de estudo apresentou-se dentro dos padrões considerados normais para espécie caprina

(NUNES, 2001), com média de 30,46±0,71 cm, coincidindo também, com o que foi observado por Salles (2010) ao realizar estudos na mesma época (transição chuvosa-seca) encontrando valores de CE de 31,5±0,3cm. Entretanto nesse estudo, não foi observado variação da CE entre os períodos do tratamento, indicando que a aplicação de testosterona por via transdérmica escrotal, não exerceu efeito sob esta variável.

Segundo Makae *et al.* (2012), machos Boer tratados com esteroides apresentaram redução da circunferência escrotal tanto na fase de tratamento

hormonal ($26,1 \pm 1,9$) quanto na de recuperação ($27,9 \pm 2,1$ cm), quando comparados ao grupo controle ($31,2 \pm 2,0$ cm e $32,2 \pm 1,6$ cm, respectivamente) ($p < 0,05$). Estes autores atribuíram essa degeneração nas medidas escrotais ao feedback negativo induzido pelo tratamento com hormônio exógeno (HAFEZ e HAFEZ, 2004), indicando um efeito a longo prazo do tratamento, sobre o desenvolvimento das gônadas; efeito este, não observado no presente estudo devido ao curto período de tratamento (nove semanas) em comparação ao observado por Makae *et al.* (2012) (16 semanas).

O TM foi outra variável que não apresentou diferença entre os períodos avaliados, demonstrando que o aumento na testosteronemia pela aplicação do hormônio bioidêntico não resultou em melhorias na libido desses animais, mas a deixou dentro dos limites aceitáveis ($p > 0,05$) (Silva *et al.*, 2006). A média de TM foi de $72,53 \pm 16,22$ s, inferior ao obtido por Garcia *et al.* (2015) ao avaliarem a concentração de testosterona e as características sexuais de caprinos após aplicação de testosterona (média $96,3 \pm 45$ s), e superiores aos observados por Salles (2010), em média $38,2 \pm 8,4$ s, obtidos na mesma época (transição chuvosa-seca) de realização do presente estudo, demonstrando a baixa libido dos animais experimentais deste experimento sendo

compatíveis com os obtidos por Barkawi *et al.* (2006), para bodes da raça Zaraibi durante estação de menor atividade reprodutiva ($87,4 \pm 2,8$ s).

Embora a testosterona esteja relacionada com a libido (MIES FILHO, 1987), outros fatores podem influenciar sua expressão. Salles (2010) observou em caprinos Saanen criados no Nordeste do Brasil (mesmo local e alimentação do presente estudo), que a pior libido ocorreu no período seco, com temperatura ambiental elevada e maior temperatura da superfície escrotal, ainda que neste período tenha sido registrada a maior concentração sérica de testosterona nestes animais, sugerindo possível efeito do estresse térmico sobre a libido, apesar do aumento da síntese de testosterona. Este mesmo autor, relatou a interferência do estresse térmico na libido, ao avaliar a influência de fatores climáticos sobre os parâmetros fisiológicos, reprodutivos e endócrinos de bodes Saanen criados em clima tropical em diferentes períodos do ano. Ele percebeu que o nível de T no sangue pode ser aumentado na fase inicial do estresse agudo.

Em humanos, a administração de alta dosagem de testosterona em longo prazo pode ter efeito deletério na qualidade seminal em virtude do feedback negativo no eixo hipotalâmico-hipofisário, inibindo a secreção de GnRH, FSH e LH, causando

decréscimo na concentração espermática e prejuízo na motilidade espermática e morfologia (KIM *et al.*, 2013). Entretanto, uma baixa dose de testosterona exógena, bem como o curto tempo de tratamento, tem sido atribuído por Makae *et al.* (2012), como causador da ausência de efeito da administração de anabolizantes em caprinos. Possivelmente isso pode explicar a não observação de efeitos da administração de testosterona bioidêntica na qualidade seminal de ejaculados caprinos, o que também foi observado no

presente estudo. Esta testosterona é biologicamente idêntica à produzida por via endógena.

Mesmo não tendo sido verificado efeito da testosterona sobre o sêmen fresco, pretendeu-se ainda avaliar a existência de efeitos após a refrigeração, além de avaliar os efeitos da conservação seminal, sobre as células espermáticas. A Tab. 2 mostra os valores obtidos na avaliação computadorizada do sêmen pelo sistema CASA,

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

Hora	MT (%)	PROG (%)	VCL (µm/s)	VAP (µm/s)	VSL (µm/s)	LIN (%)	STR (%)
0	40,5±16,0	13,4±5,5	64,5±17,6	50,6±14,7	34,9±11,0	42,4±10,1	54,8±11,8
P1 12	30,5±14,1	13,±7,0	63,2±20,5	53,7±19,1	39,0±14,3	41,7±13,0	49,9±14,4
24	17,8±16,2	7,9±6,8	46,7±28,5	42,1±26,1	32,8±20,0	30,6±17,8	51,7±21,7
0	28,3±10,0	7,3±2,4	50,2±10,7	40,0±9,6	29,2±7,3	48,8±9,2	59,7±9,8
P2 12	21,0±9,3	8,2±4,2	48,7±14,7	40,2±13,2	30,3±10,2	34,1±10,4	43,7±10,8
24	17,9±8,7	5,6±3,0	44,2±16,4	38,5±15,1	31,7±12,3	29,4±10,8	35,9±11,6
0	35,5±13,2	23,9±10,2	80,7±20,0	56,7±16,5	47,5±15,1	43,9±8,9	65,4±9,9
P3 12	29,4±11,2	19,2±7,7	79,0±21,0	54,1±15,6	45,2±13,8	37,3±10,3	54,3±13,3
24	23,6±10,4	16,9±7,3	73,7±25,4	53,2±17,4	45,9±15,0	36,2±11,9	48,2±15,3

Letras minúsculas entre colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) pelo teste PDIFF. MT-motilidade total, PROG - espermatozoides progressivos, VCL - velocidade curvilínea, VAP - velocidade média do percurso, VSL - velocidade linear, LIN - linearidade, STR - retilinearidade.

na qual não se observa variação para os parâmetros analisados em função do período de aplicação da testosterona bioidêntica e do tempo de conservação do sêmen a 4 °C por até 24 hs ($p>0,05$). Provavelmente, essas alterações só seriam percebidas 60 dias após o final das aplicações, onde se renovaria o ciclo espermático caprino.

No que se refere ao método de coleta, foram identificadas diferenças significativas maiores, no sêmen fresco para parâmetros de motilidade massal, motilidade total, motilidade progressiva e concentração espermática ($2,35\pm 1,86$, $60,4\pm 39,1$, $65,72\pm 16,18$ e $2,79\pm 1,99$, respectivamente) ao utilizar vagina artificial, quando comparado ao uso do eletroejaculador ($0,5\pm 0,7$, $52,8\pm 12,53$, $55,5\pm 39,26$ e $0,73\pm 0,7$, respectivamente). Esses resultados corroboram com o CBRA (2013), onde o método de vagina artificial tem uma melhor qualidade e maior concentração espermática, sendo o método preconizado. Entretanto, para nosso estudo, o uso do eletroejaculador, embora cause mais danos a qualidade seminal e tenha uma menor concentração de células espermáticas, fez-se necessário, por se tratarem de animais não condicionados ao uso da VA.

Para o sêmen resfriado também foram encontradas diferenças significativas maiores, na motilidade total, VCL, VAP e

VSL ($25,4\pm 16,76$, $93,0\pm 47,7$, $69,34\pm 23,33$, $74,68\pm 38,49$, respectivamente) ao utilizar a VA, quando comparado a eletroejaculação ($14,04\pm 14,6$, $48,0\pm 33,85$, $31,6\pm 23,2$ e $30,2\pm 25,76$, respectivamente), esses resultados confirmam a qualidade seminal inferior quando a coleta é realizada por eletroejaculação. Segundo MORENO *et al* (2017), a lavagem seminal, antes da diluição poderia reduzir os efeitos mafêlicos causados pelo plasma seminal as células espermáticas, uma vez que, com esse método de coleta, o volume de plasma seminal liberado pelas glândulas acessórias é bem maior que o método de VA, promovendo uma maior interação do plasma seminal com os diluentes utilizados (a base de gema de ovo e leite), gerando efeito tóxico ao espermatozoide.

CONCLUSÕES

A aplicação de testosterona bioidêntica por via transdérmica em caprinos demonstrou ser um método eficaz, uma vez que manteve a libido dentro dos limites aceitáveis para a espécie, embora não tenha causado alterações significativas nos parâmetros seminais.

Desta forma, faz-se necessário uma complementação deste estudo utilizando concentrações variadas de testosterona em diferentes fases do desenvolvimento fisiológico, e tempos de

aplicação da testosterona bioidêntica em reprodutores de outras raças, incluindo a avaliação da fertilidade in vivo em programas de inseminação artificial.

AGRADECIMENTOS

À Médica Veterinária Maria Gorete Flores Salles e ao Laboratório de Imunologia da Saúde-UFBA.

REFERÊNCIAS

- BARKAWI, A.H.; ELSAYED, E.H.; ASHOUR, G.; SHEHATA, E. Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, v.66, p.209-213, 2006.
- BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J.W. *Applied animal reproduction*. New Jersey: Prentice Hall, 1997.351p.
- COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal, Belo Horizonte: CBRA, 2013. 49p.
- GARCIA, O.A.; HERRERA, C.A.M.; MUNOZ, J.M.G.; CASTELLANOS, E.C.; OROZCO, J.R.L.; MELLADO, M.; DERAS, F.G.V. Seminal characteristics, libido and serum testosterone concentrations in mixed-breed goat bucks receiving testosterone during the nonbreeding period. *Journal of Applied Animal Research*. v. 43, p. 457-461, 2015.
- HADGRAFT, J.; LANE, M.E. Transdermal delivery of testosterone. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v.92, p.42-48, 2015.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. *Reprodução Animal*. 7 ed. Barueri: Manole, 2004, p.513.
- IBGE, 2013. *Produção Pecuária Municipal*, Rio de Janeiro, 41 p.1-108.
- KIM, E.D.; CROSNOE, L.; BARCHAMA, N.; KHERA, M.; LIPSHULTZ, L. The treatment of hypogonadism in men of reproductive age. *Fertility and Sterility*. v.99, p.718-24, 2013.
- KUMAR, P.; YADAV, B.; YADAV, S. Effect of zinc and selenium supplementation on antioxidative status of seminal plasma and testosterone, T4 and T3 level in goat blood serum. *Journal Applied Animal Research*, v.41, p.382-386, 2013.
- MAKAE, T.; GREYLING, J.P.C.; SCHWALBACH, L.M.J.; RAITO, M.B. The effect of exogenous anabolic steroids on growth performance, testicular and seminal characteristics of yearling Boer goat bucks. *Small Ruminant Research*, v.105, p.290-294, 2012.
- MENEZES, L.M.; SOUSA, W.H.; CAVALCANTE-FILHO, E.P.; GAMA, L.T. Gama. Genetic parameters for reproduction and growth traits in Boer goats in Brazil. *Small Ruminant Research*, v.136, p.247-256, 2016.
- MIES FILHO, A. *Reprodução dos animais*. 6ª ed. Porto Alegre: Sulina, 1987, 736p.
- MORENO, J.S.; ESTESO, M.C.; CASTANÕA, C.; DIAZA, A.T.; DELGADILLO, J.A.; SEBASTIANA, A.L. Seminal plasma removal by density-gradient centrifugation is superior for goat sperm preservation compared with classical sperm washing. *Animal Reproduction Science*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.04.002>, 2017.

- NUNES, J.F. Fisiologia sexual do macho caprino. (Circular Técnica, n.5). Sobral: EMBRAPA – CNPQ, 1982. 41p.
- NUNES, J.F.; CIRÍACO, A.L.T.; SUASSUNA, U. Produção e reprodução de ovinos e caprinos. 2ª ed. Fortaleza, Ceará. p.23-53, 1997.
- NUNES, J.F. Produção e reprodução de caprinos e ovinos. Fortaleza:LCR, 2001.160p.
- POLAT, H.; DELLAL, G.; BARITCI, I.; PEHLIVAN, E. Annual Change of the Testosterone Hormone in Male White Goats. *Agricultural Sciences in China*, v.10, n.2, p.310-316, 2011.
- Rojanasakul, A.; UDOMSUBPAYAKUL, U.; CHINSOMBOON, S. Chemiluminescence immunoassay versus radioimmunoassay for the measurement of reproductive hormones. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, v.45, p.141–146. 1994.
- SALLES, M.G.F. Parâmetros fisiológicos e reprodutivos de machos caprinos Saanen criados em clima tropical. 2010. 168 p. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.
- SAS (Statistical Analysis System), SAS Systems for Windows, Version 8.0, SAS Institute Inc, Cary, NC (2000).
- SILVA, E.M.N.; SOUZA, B.B.; SILVA, G.A.; CEZAR, M.F.; SOUZA, W.H.; BENÍCIO, T.M.A.; FREITAS, M.M.S. Avaliação da adaptabilidade de caprinos exóticos e nativos no semi-árido paraibano. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.30, p.516-521, 2006.
- Siyam, T.; Yuksel, N. Beliefs about bioidentical hormone therapy: a cross-sectional survey of pharmacists. *Maturitas*, v.74, p.196-202, 2013.
- TALEBI, J. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran, *Small Ruminant Research*, v.85, p.18-22, 2009.
- TODINI, L.; MALFATTI, A.; TERZANO, G.M.; BORGHESE, A.; PIZZILLO, M.; DEBENEDETTI, A. Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, v.67, p.627–631, 2007.
- Zitzmann, M.; Nieschlag, E. Hormone substitution in male hypogonadism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v.161, p.73-88, 2000.