

Novo protocolo utilizando ocitocina para induzir a ejaculação em garanhão penectomizado

New Protocol Using Oxytocin to Induce Ejaculation in Penectomized Stallion

Thaís Mendes Sanches Cavalero, Verônica Flores da Cunha Scheeren, Lucas Emanuel Ferreira Canuto, Lucas Troncarelli Rodrigues & Frederico Ozanam Papa

ABSTRACT

Background: Several reproductive diseases can prevent ejaculation by the traditional method of collection. Neoplasias as squamous cell carcinoma is the most common tumor of the external genitalia of horses and its lesions usually prevent copulation. The pharmacological induction of ejaculation is an important alternative technique to obtain and preserve the genetic material of stallions incapable of ejaculating by traditional methods of semen collection. However, the protocols currently used have shown questionable results and new protocols are needed in order to increase the success rates. The aim of this study is to report the success of a new protocol in inducing ejaculation when oral imipramine and intravenous oxytocin and detomidine were administrated in a Crioulo stallion.

Case: A 9-year-old Crioulo stallion was admitted at the Veterinary Hospital of the São Paulo State University, FMVZ-UNESP, Botucatu, Brazil, with a history of a mass located on the glans and body of the penis. The histopathological exam confirmed the diagnostic of Squamous cell carcinoma and penectomy was performed. After 10 days of surgery the stallion was submitted to 5 different protocols with 3 days interval between the follow protocols: Imipramine+Xylazine; Imipramine+ Xylazine+Oxytocin; Imipramine+Detomidine and Imipramine+Detomidine+Oxytocin.

Discussion: The traditional protocol of pharmacologically-induced ejaculation with imipramine hydrochloride (3 mg/kg/v.o) and xylazine hydrochloride (0.66 mg/kg/iv) was not successful even when oxytocin (20 UI/iv) was added to this protocol. Administration of imipramine hydrochloride (3 mg/kg/v.o) two hours prior to administration of detomidine hydrochloride (0.02 mg/kg/i.v) also did not result in ejaculation. However, administration of imipramine hydrochloride (3 mg/kg/v.o) 2 h prior to administration of detomidine hydrochloride (0.02 mg/kg/i.v) associated with oxytocin (20 U.I/i.v) resulted in ejaculation. The stallion was submitted to three seminal collections with a three-day interval between administration of the protocol and ejaculated in all the attempts after approximately 5 min of detomidine and oxytocin injection, presenting mean values of 50 mL of total volume (TV) and concentration of 80×10^6 spermatozoa/mL. The VT was higher and concentration was lower when compared to ejaculates obtained by pharmacological induction in previous studies, probably due to daily stimulation with estrus mare to induce penile exposure in order to allow antisepsis of the surgical wound. Thus, it is believed that the large amount of total volume of this stallion is due to the high production of gel by the accessory sex glands, with consequent reduction of ejaculate concentration. The sperm kinetics were evaluated by the computerized method CASA (HTMA-IVOS-12) with total motility (MT) of 84% and progressive (MP) of 38%, with 70% of rapid spermatozoa (RAP), being considered normal to the equine specie and similar to those observed by other authors in pharmacologically-induced ejaculates. Post-thaw sperm kinetics presented 42% of MT, 21% of MP and 28% of RAP probably due to an intrinsic sensitivity of the stallion to the freezing process. Thus, this report concludes that the protocol associating imipramine, detomidine and oxytocin was efficient in the pharmacological induction of ejaculation, presenting normal and characteristic sperm parameters of the specie. Fresh and refrigerated semen presented good parameters for use in conventional artificial inseminations while frozen semen is indicated for deep horn inseminations or for use in intracytoplasmic sperm injection (ICSI) programs.

Keywords: chemical ejaculation, imipramine, xylazine, detomidine, semen.

Descritores: ejaculação química, imipramina, xilazina, detomidina, sêmen.

INTRODUÇÃO

A coleta por meio de vagina artificial é a técnica mais utilizada em garanhões para a coleta de sêmen, no entanto, como esta técnica mimetiza a monta natural, diversas alterações físicas e reprodutivas, como neoplasias penianas, podem impedir este procedimento [4]. O carcinoma de células de escamosas é uma neoplasia de alta incidência clínica em pênis e prepúcio de equinos e, por se tratar de uma neoplasia de caráter maligno e altamente invasiva, a ressecção cirúrgica com margem ampla é o tratamento preconizado [11]. Desse modo, animais de alto valor genético são excluídos dos programas de reprodução assistida, acarretando em prejuízos genéticos e econômicos para a equideocultura.

A indução farmacológica da ejaculação apresenta-se como uma técnica alternativa importante para obtenção e preservação do material genético de garanhões incapazes de ejacular pelos métodos tradicionais de coleta de sêmen [5]. Os protocolos atualmente utilizados são baseados na administração de imipramina e xilazina, no entanto, esses indutores tem apresentado alta variabilidade de resultados [2,3,5,7,8]. Desse modo, novos protocolos são necessários para melhorar as taxas de sucesso na indução da ejaculação e assim permitir o aproveitamento reprodutivo de garanhões incapazes de ejacular pelas técnicas tradicionais de coleta.

O objetivo do presente trabalho é relatar o sucesso da indução farmacológica da ejaculação com um novo protocolo utilizando a associação de imipramina, detomidina e ocitocina em garanhão submetido a penectomia.

CASO

Um garanhão de 9 anos da raça Crioula foi submetido a penectomia após o diagnóstico de carcinoma de células escamosas em glândula e corpo do pênis. Como o proprietário gostaria de utilizar o garanhão para a reprodução optou-se pela tentativa de indução farmacológica da ejaculação.

Foram realizados 5 protocolos com, no mínimo, 3 dias de intervalo entre eles, com a finalidade de evitar interferências entre os protocolos e fármacos administrados. O protocolo tradicional de administração do cloridrato de imipramina (3 mg/kg/v.o - Tofranil®)¹ 2 h previamente ao cloridrato de xilazina (0,66 mg/kg/i.v - Equisedan®)² não apresentou sucesso na indução da ejaculação. A administração do cloridrato de imipramina (3 mg/kg/v.o) 2 h antes da administração de cloridrato de detomidina (0,02 mg/kg/i.v - Dormiun

V®)³ também não resultou em ejaculação, bem como a administração de cloridrato de detomidina isoladamente não apresentou sucesso. O protocolo com o cloridrato de imipramina (3 mg/kg/v.o) 2 h previamente ao cloridrato de xilazina (0,66 mg/kg/i.v) associado a ocitocina (20 U.I/i.v - Ocitocina Fort®)⁴ também não foi eficaz.

No entanto, administração do cloridrato de imipramina (3 mg/kg/v.o) 2 h antes da administração de cloridrato de detomidina (0,02 mg/kg/i.v) associado a ocitocina (20 U.I/i.v), que resultou em ejaculação. O garanhão foi submetido a 3 coletas seminais com intervalo de 3 dias entre a administração do protocolo e ejaculou em todas as tentativas após aproximadamente 5 min da aplicação de detomidina e ocitocina.

O sêmen foi manipulado e criopreservado pelo Laboratório de Andrologia do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP, campus de Botucatu. A avaliação dos parâmetros espermáticos dos três ejaculados resultou em valores médios de 50 mL de volume total (VT), concentração de 80×10^6 espermatozoides/mL, motilidade total (MT) de 84% e progressiva (MP) de 38%, com 70% de espermatozoides rápidos (RAP). A avaliação da cinética espermática foi realizada pelo método computadorizado CASA (HTMA - IVOS - 12)⁵ onde foi observada uma significativa redução dos valores de cinética espermática após a congelamento do sêmen devido a uma sensibilidade intrínseca dos espermatozoides desse garanhão à criopreservação. A cinética espermática pós-descongelamento apresentou 42% de MT, 21% de MP e 28% de RAP.

DISCUSSÃO

Os protocolos de indução da ejaculação por meio da administração de imipramina, um antidepressivo da classe dos tricíclicos, e da xilazina, um agonista de receptores alfa adrenérgicos, tem apresentado resultados variando entre 16% e 68% de sucesso, com vários animais não se mostrando sensíveis a nenhum desses fármacos [2,3,5,7,8].

A utilização de detomidina, outro agonista de receptores alfa adrenérgicos, como indutor da ejaculação em equinos tem sido pouco relatada nesta espécie. Estudo anterior utilizou detomidina (0,02 mg/kg) por via intramuscular em pônei, com o animal ejaculando em 50% das tentativas [10]. Em jumentos, a aplicação de detomidina (0,02 mg/kg) por via intravenosa resultou em 20% de sucesso dos 10 animais testados [9].

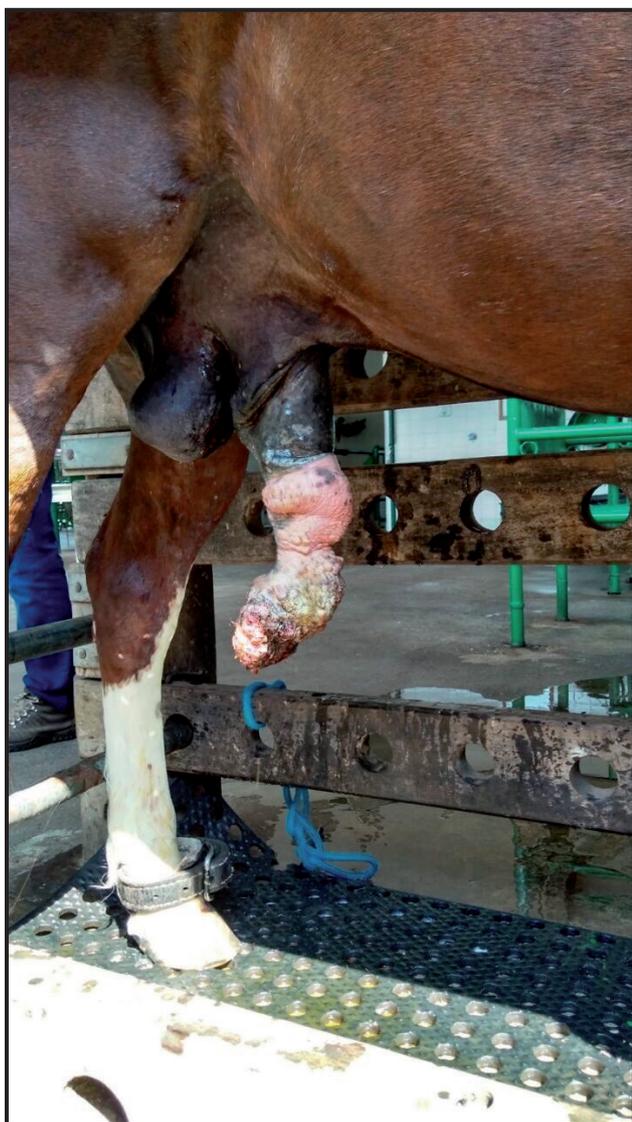


Figura 1. Garanhão antes da realização da penectomia apresentando lesões em corpo e glânde do pênis características de carcinoma de células escamosas.

Contrariamente, o presente caso observou que os protocolos tanto de associação de imipramina e xilazina, quanto o protocolo utilizando somente detomidina não foram eficazes na indução da ejaculação nesse animal. A ejaculação só foi alcançada quando o hormônio ocitocina foi adicionado ao protocolo de imipramina e detomidina. Estudos em camundongos e coelhos tem evidenciado um papel importante da ocitocina na fase de emissão durante a ejaculação devido a sua atividade indutora de contrações em musculatura lisa de todo o aparelho reprodutor [1].

Em garanhões, a ocitocina tem sido usada para aumentar o número de espermatozoides totais do ejaculado e também no tratamento de obstrução de ampola [6]. O presente caso observou que a adição da ocitocina auxiliou no desencadeamento da ejaculação no proto-



Figura 2. Coleta de sêmen por meio de indução farmacológica da ejaculação utilizando suspensório com mucosa plástica posicionada ao redor do prepúcio e amarrada ao flanco por dois cordões laterais e um cordão transpassado entre os membros pélvicos.

colo utilizando imipramina e detomidina, mas não foi eficaz no protocolo utilizando imipramina e xilazina.

O intervalo entre a administração dos fármacos (detomidina e ocitocina) e a ejaculação foi de 5 min, sendo muito inferior ao observado por Rowley *et al.* [10], que observaram ejaculações entre 17 e 47 min após a indução. Esta diferença é provavelmente devido a administração de detomidina por via intramuscular que apresenta maior tempo para atingir uma concentração plasmática que promova o desencadeamento da ejaculação em relação a administração intravenosa.

Os parâmetros seminais apresentaram-se normais para os padrões da espécie equina, no entanto, o volume total foi maior e concentração foi menor quando comparados a ejaculados obtidos por indução farmacológica em estudos anteriores [2,3,5,7,8,10]. Após 7 dias da penectomia o animal foi 2 vezes ao dia estimulado com égua em cio para provocar a exposição peniana e permitir a anti-sepsia da ferida cirúrgica. Desse modo, acredita-se que a grande quantidade de volume total do ejaculado desse animal seja devido à alta produção de gel pelas glândulas sexuais anexas, com consequente redução da concentração do ejaculado.

Desta forma, este relato permite concluir que o protocolo associando imipramina, detomidina e ocitocina foi eficaz na indução farmacológica da ejaculação, apresentando parâmetros espermáticos normais e característicos da espécie. O sêmen fresco e refrigerado apresentaram parâmetros bons para a utilização em inseminações artificiais convencionais enquanto o sêmen congelado é indicado para inseminações em ponta de corno ou para a utilização em programas de injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Logo, apesar da impossibilidade do garanhão em efetuar a cópula, com este protocolo é possível manter o animal na reprodução.

MANUFACTURERS

- ¹Novartis Biociências S.A. São Paulo, SP, Brazil.
²J.A. Saúde Animal. Patrocínio Paulista, SP, Brazil.
³Agener União - Saúde Animal. São Paulo, SP, Brazil.
⁴UCBVET - Saúde Animal. Jaboticabal, SP, Brazil.
⁵Hamilton Thorne Research. Beverly, MA, USA.

Funding. Grant #2016/21452-5, São Paulo Research Foundation (FAPESP).

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Corona G., Jannini E.A., Vignozzi L., Rastrelli G. & Maggi M. 2012.** The hormonal control of ejaculation. *Nature Reviews Urology*. 9(9): 508-519.
- 2 Feary D.J., Moffet P.D., Bruemmer J.E., Southwood L., McCue P., Niswender K.D., Dickinson C. & Traub-dargatz J. 2005.** Chemical ejaculation and cryopreservation of semen from a breeding stallion with paraphimosis secondary to priapism and haemorrhagic colitis - Case Report. *Equine Veterinary Education*. 17: 299-304.
- 3 Johnston P.F. & DeLuca J.L. 1998.** Chemical ejaculation of stallions after administration of oral imipramine followed by intravenous xylazine. In: *Proceedings of the 44th AAEP Annual Convention* (Baltimore, U.S.A.). pp.59-62.
- 4 Love C.C. 1992.** Semen collection techniques. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 8(1): 111-128.
- 5 McDonnell S.M. 2001.** Oral imipramine and intravenous xylazine for pharmacologically-induced ex copula ejaculation in stallions. *Animal Reproduction Science*. 68: 153-159.
- 6 McDonnell S.M. 2011.** Pharmacological Manipulation of Ejaculation. In: McKinnon A.O., Squires E.L., Vaala W.E. & Varner D.D. (Eds). *Equine Reproduction*. 2nd edn. Ames: Wiley-Blackwell, pp.1413-1414.
- 7 McDonnell S.M. & Love C.C. 1991.** Xylazine-induced ex copula ejaculation in stallions. *Theriogenology*. 36: 73-76.
- 8 McDonnell S.M. & Odian M.J. 1994.** Imipramine and xylazine-induced ex copula ejaculation in stallions. *Theriogenology*. 41: 1005-1010.
- 9 Miroslava-Mrackova D.V.M., Blahova Z. & Marketa-Sedlinska D.V.M. 2013.** The Reliability of two different protocols for pharmacologically induced ejaculation in donkeys (*Equus asinus*). *Journal of Equine Veterinary Science*. 33: 1121-1123.
- 10 Rowley D.D., Lock T.F. & Shipley C.F. 1999.** Fertility of detomidine HCl induced ex copula ejaculated stallion semen. In: *Proceedings of the 45th AAEP Annual Convention* (Albuquerque, U.S.A.). pp.221-223.
- 11 Von Den Top J.G.B., Heer N., Klein W.R. & Ensink J.M. 2008.** Penile and prepuccial tumours in the horse: a retrospective study of 144 affected horses. *Equine Veterinary Journal*. 40(6): 528-532.